

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Enfermagem
Programa de Pós-graduação

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS RELACIONADOS À
COLONIZAÇÃO DE PACIENTES POR MICRO-ORGANISMOS
MULTIRRESISTENTES EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA**

Quésia Souza Damaceno

Belo Horizonte

2014

QUÉSIA SOUZA DAMACENO

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS RELACIONADOS À
COLONIZAÇÃO DE PACIENTES POR MICRO-ORGANISMOS
MULTIRRESISTENTES EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Enfermagem.

Linha de pesquisa: Prevenção e controle de agravos à saúde

Orientador: Prof.^a Dr.^a Adriana C. Oliveira

Belo Horizonte

2014

D155a Damaceno, Quésia Souza.
Aspectos epidemiológicos e microbiológicos relacionados à colonização de pacientes por micro-organismos multirresistentes em Unidade de Terapia Intensiva [manuscrito]. / Quésia Souza Damaceno. - - Belo Horizonte: 2014.
115f.: il.
Orientadora: Adriana Cristina de Oliveira.
Área de concentração: Saúde e Enfermagem.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Infecção Hospitalar/epidemiologia. 2. Infecção Hospitalar/prevenção & controle. 3. Farmacorresistência Bacteriana. 4. Unidades de Terapia Intensiva. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Oliveira, Adriana Cristina de. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. III. Título.
NLM: WX 167

Este trabalho é parte integrante do *Projeto Segurança do Paciente*, desenvolvido pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Infecções relacionadas ao Cuidar em saúde (NEPIRCS/CNPq), da Escola de enfermagem da UFMG.

Projeto subsidiado com recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) – 472823/2011-6.

Bolsa de auxílio financeiro concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES).



Universidade federal de minas gerais
Escola de enfermagem
Programa de Pós Graduação

Tese intitulada “Aspectos epidemiológicos e microbiológicos relacionados à colonização de pacientes por micro-organismos multirresistentes em Unidade de Terapia Intensiva”, de autoria da doutoranda Quésia Souza Damaceno, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof^ª Dr^ª Adriana Cristina de Oliveira
Escola de Enfermagem/UFMG
Orientadora

Prof. Dr. Jacques Robert Nicoli
Departamento de Microbiologia/Instituto de Ciências Biológicas/UFMG
Examinador

Prof^ª Dr^ª Denise de Andrade
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP
Examinadora

Prof. Dr. Vandack Alencar Nobre Júnior
Departamento de Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina/UFMG
Examinador

Prof^ª Dr^ª Simone Gonçalves
Departamento de Microbiologia/Instituto de Ciências Biológicas/UFMG
Examinadora

Aos pacientes que compartilharam suas histórias.

À minha família, pelo apoio nesta trajetória.

AGRADECIMENTOS

À professora Adriana Cristina de Oliveira, pela orientação e pelas oportunidades de desenvolvimento acadêmico.

Ao professor Jacques Robert Nicoli, pelo gentil apoio no Laboratório de Ecologia e Fisiologia dos Microrganismos do ICB/UFMG.

Aos professores Patrice Nordmann e Delphine Girlich, pela colaboração e recepção na INSERM 914, Centre National de Référence Associé Résistance aux Antibiotiques, Hopital de Bicetre, Paris, França.

Aos coordenadores e à equipe de enfermagem da Unidade de Terapia Intensiva de adultos do Hospital das Clínicas da UFMG.

Aos coordenadores e às equipes de enfermagem e de psicologia da Unidade de Terapia Intensiva Clínica de Adultos do Hospital Hemigdio Germano, da Santa Casa de Belo Horizonte.

Ao professor Evandro Wantanabe (Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP), pelas contribuições no projeto de pesquisa.

Ao professor Flaviano dos Santos Martins (Laboratório de Agentes Bioterapêuticos do ICB/UFMG), pelas discussões durante o doutorado, pela amizade e pela compreensão.

Ao grupo de pesquisa NEPIRCS (Escola de Enfermagem da UFMG), pelas discussões e pelo compartilhamento do caminho.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Micro-organismos (ICB-UFMG) e do Laboratório de Agentes Bioterapêuticos, pelas longas horas compartilhadas.

Aos colegas do programa de Pós-graduação em Enfermagem da UFMG.

Aos professores do doutorado e funcionários do Departamento de Enfermagem Básica.

RESUMO

DAMACENO, Q. S. Aspectos epidemiológicos e microbiológicos relacionados à colonização de pacientes por micro-organismos multirresistentes em Unidade de Terapia Intensiva, 2014. 115 f. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

A resistência bacteriana constitui um problema mundial de saúde pública. A colonização e/ou infecção por bactérias resistentes se destacam nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), podendo os pacientes carrear esses micro-organismos por tempo variado. Objetivou-se determinar os aspectos epidemiológicos e microbiológicos relacionados à colonização de pacientes por bactérias resistentes em UTI e após alta hospitalar. Tratou-se de uma coorte prospectiva em UTI adulto de dois hospitais de Belo Horizonte e na comunidade. Foram monitorados todos os pacientes colonizados e/ou infectados por bactérias resistentes durante permanência hospitalar e após alta (com avaliação dos contatos familiares) de abril de 2012 a fevereiro de 2013. Os dados demográficos e clínicos foram obtidos dos prontuários. Foi rolado um swab estéril em mucosa nasal, virilha e períneo. As amostras microbiológicas foram cultivadas em meios seletivos a 37°C por 48 horas. Realizaram-se testes de identificação (Vitek) e antibiograma pelo método de Bauer-Kirby (Vancomicina, imipenem, cefoxitina, ciprofloxacina e cefalosporinas de terceira geração) e concentração inibitória mínima (MIC) da vancomicina para os *Staphylococcus aureus*. Para a caracterização das amostras, utilizaram-se a reação em cadeia da polimerase (PCR), sequenciamento e a técnica semiautomatizada de rep-PCR (Diversilab). Totalizaram-se 53 casos de colonização. Destes, 26 evoluíram para infecção por bactérias resistentes semelhantes fenotipicamente. A cocolonização por Gram-negativo e Gram-positivo foi verificada em 74,0% dos pacientes. Os micro-organismos identificados em colonização foram: *Acinetobacter baumannii* (51,0%) e *Pseudomonas aeruginosa* (32,0%) resistentes aos carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* ESBL (38,0%) e/ou produtoras de carbapenemases (5,6%), *Enterococcus faecalis* resistentes à vancomicina – VRE (43,0%) e *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina – ORSA (7,5%). Nas infecções, identificaram-se *Acinetobacter baumannii* (34,6%) e *Pseudomonas aeruginosa* (11,5%) resistentes aos carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* ESBL (27,0%) ou produtoras de carbapenemases (7,7%) e VRE (19,0%). Para ORSA não foram registradas infecções. O uso de antimicrobianos ($p = 0,01$) e dispositivos invasivos (ventilação mecânica e sonda nasogástrica) ($p = 0,03$) foi relevante na ocorrência de infecção por *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos de fenótipo semelhante àquele identificado na colonização. O tempo médio de redução da carga microbiana variou de 27 a 41 dias (7,0 a 1,0 \log_{10} UFC/ml). Entre os pacientes colonizados 45,0% (24/53) apresentaram redução da carga microbiana e 8 evoluíram para óbito até a alta hospitalar. Entretanto, 39,0% (21/53) dos pacientes permaneceram colonizados até a alta. Destes, 20 foram monitorados na comunidade, verificando-se a persistência de um caso de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemases e outro de VRE em posterior reinternação. O uso de polimixina E em UTI associou-se à redução da carga microbiana relacionada à colonização por bactéria Gram-negativa ($p = 0,0001$). Para quatro contatos familiares avaliados, identificaram-se apenas componentes da microbiota normal. Entre os pacientes colonizados, verificou-se importante redução da carga microbiana não implicando total descolonização, mas provável declínio do micro-organismo em níveis pouco detectáveis em meios de cultivo, com possibilidade de menor disseminação.

Palavras chave: Infecção hospitalar. Farmacorresistência bacteriana. Portador. Transmissão. Isolamento de pacientes.

ABSTRACT

DAMACENO, Q. S. Epidemiological and microbiological aspects related to colonization of patients with multidrug-resistant microorganisms in Intensive Care Unit, 2014. 115 f. Thesis (Doctorate in Nursing) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

The bacterial resistance is a global public health concern. The colonization and/or infection with resistant bacteria are highlighted in Intensive Care Unit (ICU). These microorganisms generally are carried by patient for different times. It was aimed to determine the epidemiological and microbiological characteristics of patient colonization with multidrug-resistant bacteria in Intensive Care Unit (ICU) and after hospital discharge. It was a prospective cohort of patients colonized and/or infected with multidrug-resistant bacteria at two adult ICUs from hospitals in Brazil and after discharge with evaluation of familiar contacts (April 2012- February 2013). Data were collected from chart review. Nasal cavity, groin and perineum swab were performed and cultured in selective media for 48 h at 37°C. Tests were performed for identification (Vitek - BioMérieux), antibiogram - Bauer-Kirby method (Vancomycin, imipenem, cefoxitin, ciprofloxacin and third generation cephalosporins) or Minimum Inhibitory Concentration was used for *Staphylococcus aureus*. For samples characterization were performed Polymerase Chain Reaction (PCR), sequencing and rep-PCR (Diversilab). Statistical analysis was performed. There were 53 cases of colonization, and 26 of these resulted in infection. The cocolonization with Gram-negative and Gram-positive microorganisms were verified with patients (74%). In colonization were identified imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (51%), *Pseudomonas aeruginosa* (32%), *Klebsiella pneumoniae* ESBL (38%) or imipenem resistant (5.6%), vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* (43%), and oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (7.5%). In infection *Acinetobacter baumannii* (34,6%) and *Pseudomonas aeruginosa* (11,5%) resistant to carbapenems, *Klebsiella pneumoniae* ESBL (27,0%) or carbapenemases producing (7,7%) and VRE (19,0%). For ORSA were not registered infections. The antimicrobial (p = 0,01) and medical devices (p = 0,03) were important in infection occurrence by carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* with similar phenotype of those registered in colonization. The mean time of microbial load decreasing ranged from 27 to 41 days (7,0 to 1,0 log₁₀ CFU/ml). Among colonized patients 45,0% (24/53) showed microbial load reduction and 8 died until hospital discharge. However, 39,0% (21/53) of patients were colonized until hospital discharge. In the community 20 patients were followed with persistence of one colonization case by *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemases and one colonization case by VRE with hospital readmission. The use of polymyxin E in ICU related to microbial load decreasing of Gram-negative bacteria (p = 0,0001). For four familiar contacts were verified only normal microbiota. Among colonized patients was verified important microbial load decreasing in low level with possibility of reducing microorganisms spread.

Key words: Hospital Infection. Drug Resistance, Bacterial. Carrier. Transmission. Isolation of patients.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Curva de crescimento bacteriano.....	26
QUADRO 1 - Marcadores de resistência aos antimicrobianos de espécies bacterianas de relevância epidemiológica.....	43
QUADRO 2 - Sítios anatômicos definidos para a coleta de amostras microbiológicas e recuperação das espécies bacterianas de acordo com o tropismo positivo dos micro-organismos.....	44
QUADRO 3 - Meios seletivos utilizados no cultivo das amostras clínicas.....	45
QUADRO 4 - Primers utilizados para amplificação na reação em cadeia da polimerase.....	48
GRÁFICO 1 - Distribuição do uso antimicrobianos em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	53
GRÁFICO 2 - Variação da carga microbiana para <i>Acinetobacter baumannii</i> resistentes aos carbapenêmicos em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	55
GRÁFICO 3 - Variação da carga microbiana para <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistentes aos carbapenêmicos ou ESBL em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	55
GRÁFICO 4 - Variação da carga microbiana para <i>Enterococcus faecalis</i> resistentes a vancomicina em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	56
GRÁFICO 5 - Variação da carga microbiana para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes aos carbapenêmicos em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	56
GRÁFICO 6 - Variação da carga microbiana para <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à oxacilina em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	57
QUADRO 5 - Distribuição das amostras (n = 248) de relevância epidemiológica por sítio anatômico de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	57
QUADRO 6 - Hidrólise do imipenem por <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 5) e <i>Acinetobacter baumannii</i> (n=6) presentes em colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	58
QUADRO 7 - Concentração Inibitória Mínima de Ertapenem, Imipenem e Meropenem (Etest) para amostras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> identificadas em colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014.....	59
QUADRO 8 - Expressão de genes de resistência aos antimicrobianos por <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=5) associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014.....	60
QUADRO 9 - Expressão de genes de resistência aos antimicrobianos por <i>Acinetobacter baumannii</i> (n = 6) associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2013.....	60

FIGURA 2 - Similaridade entre amostras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva - Belo Horizonte, 2014.....	61
FIGURA 3 - Similaridade entre amostras de <i>Acinetobacter baumannii</i> associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva - Belo Horizonte, 2014.....	61
GRÁFICO 7 - Variação da carga microbiana em colonização prévia e ocorrência de infecções por bactérias resistentes – Belo Horizonte, 2014.....	63

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características dos pacientes colonizados e/ou infectados por bactérias resistentes (n = 53), em Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	51
TABELA 2 - Distribuições das espécies bacterianas resistentes (n=13) de acordo com os sítios de infecção na Unidade de Terapia Intensiva I – Belo Horizonte, 2014.....	62
TABELA 3 - Distribuições das espécies bacterianas resistentes (n=13) de acordo com os sítios de infecção na Unidade de Terapia Intensiva II – Belo Horizonte, 2014.....	63
TABELA 4 - Distribuição das variáveis em relação à ocorrência de infecção por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	64
TABELA 5 - Distribuição das variáveis de acordo com a ocorrência de infecções por <i>Enterococcus</i> spp. resistentes à vancomicina em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	65
TABELA 6 - Modelo final de regressão logística para as variáveis associadas à ocorrência de infecções (n = 5) por <i>Enterococcus</i> spp. resistentes à vancomicina, em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	65
TABELA 7 - Distribuição das variáveis em relação à ocorrência de infecções por <i>Klebsiella pneumoniae</i> produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado e/ou resistentes aos carbapenêmicos em Unidade de Terapia Intensiva (n = 9) – Belo Horizonte, 2014.....	66
TABELA 8 - Distribuição das variáveis de acordo com a ocorrência de infecções por <i>Acinetobacter baumannii</i> (n = 9) em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	67
TABELA 9 - Distribuição das variáveis segundo a colonização (n = 17) por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	68
TABELA 10 - Modelo final de regressão logística para as variáveis associadas à colonização (n = 17) por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	69
TABELA 11 - Distribuição das variáveis segundo a colonização (n = 23) de paciente por <i>Enterococcus faecalis</i> resistentes à vancomicina em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	69
TABELA 12 - Variáveis distribuídas de acordo com a colonização por <i>Klebsiella pneumoniae</i> produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado e/ou resistentes aos carbapenêmicos (n = 23) em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	70
TABELA 13 - Variáveis relacionadas à colonização de pacientes por <i>Acinetobacter baumannii</i> (n = 27) em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2014.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- APACHE – *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*
- APIC – *Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology*
- BGN – bacilos Gram-negativos
- BHI – *Brain Heart Infusion*
- CCIH – Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
- CDC – *Center for Disease Control and Prevention*
- CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*
- COEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- DEPE – Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão
- EPI – Equipamento de proteção individual
- ESBL – *Extended-spectrum beta-lactamase*
- FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
- HICPAC – *Hospital Infection Control Practices Advisory Committee*
- IDSA – *Infectious Diseases Society of America*
- IRAS – Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
- KPC – *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemases
- MIC – *Minimal inhibitory Concentration*
- MRSA – *Staphylococcus aureus* multirresistentes a meticilina
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- ORSA – *Staphylococcus aureus* multirresistentes a oxacilina
- rep-PCR – *repetitive extragenic palindromic sequences*
- SENTRY – Programa de Vigilância Epidemiológica e Resistência Antimicrobiana
- SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- SUS – Sistema Único de Saúde
- TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- UFC – unidades formadoras de colônias
- UTI – Unidade de Terapia Intensiva
- VRE – Enterococos resistentes à vancomicina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1. Colonização de pele e mucosas humana.....	24
2.2. Resistência bacteriana	26
2.3. Precaução de isolamento	31
2.4. Descolonização.....	34
3. MATERIAL E MÉTODO	36
3.1. Delineamento do estudo	37
3.2. Local do estudo.....	37
3.3. População e amostra	38
3.4. Variáveis do estudo	40
3.5. Coleta dos dados.....	43
3.6. Análise microbiológica e molecular	44
3.7. Tratamento dos dados.....	49
3.8. Aspectos éticos	49
4. RESULTADOS	50
4.1. Distribuição dos casos de colonização e variação da carga microbiana por espécie bacteriana.....	54
4.2. Caracterização fenotípica e genotípica das espécies bacterianas de relevância epidemiológica associadas à colonização dos pacientes	58
4.3. Distribuição dos casos de infecção por bactérias resistentes.....	62
4.4. Características relacionadas à colonização por bactérias resistentes em Unidade de Terapia Intensiva	67
4.5. Seguimento na comunidade após a alta hospitalar	71
5. DISCUSSÃO	74
6. CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS	93
APÊNDICE.....	109
ANEXOS	111

1. INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) constituem uma das principais complicações do quadro clínico de pacientes hospitalizados, acometendo milhares de pessoas em âmbito mundial. As infecções elevam a morbidade, a mortalidade entre os pacientes e os custos associados à assistência em saúde, além de acarretar prejuízos intangíveis à vida dos pacientes, com repercussões também para os familiares (PITTET; DONALDSON, 2005; HENDERSON, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007).

A IRAS é definida como infecção adquirida após a admissão do paciente com manifestação durante a internação ou após a alta, quando relacionada a procedimentos realizados no âmbito hospitalar. Entretanto, devido às novas modalidades de atenção à saúde não restritas ao ambiente hospitalar como ambulatorios, assistência domiciliar, hospital-dia e clínicas, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), em 2007 recomendou a substituição do termo *infecção hospitalar* por *infecções relacionadas à assistência à saúde* (SIEGEL *et al.*, 2007).

No tocante ao impacto das IRAS, os custos delas decorrentes podem atingir até 3,2 milhões de euros por ano, como registrado na França. Nos Estados Unidos, estima-se que mais de dois milhões de dólares são gastos anualmente e que mais de 90 mil óbitos são registrados. No Brasil, a sistematização e a divulgação nacional dos dados e dos custos das infecções ainda não são uma realidade (RUTALLA *et al.*, 2006; DEFEZ *et al.*, 2008; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA, 2009).

Nessas infecções destaca-se uma crescente manifestação de isolados bacterianos que não respondem à terapia antimicrobiana, sendo, portanto, considerados resistentes. As infecções por bactérias resistentes ao tratamento apresentam manifestações clínicas semelhantes àquelas originadas de organismos susceptíveis. Todavia, as alternativas de tratamento se tornam muito reduzidas na presença de organismos resistentes. Nos EUA, mais de 50% das infecções em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) relacionam-se aos *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). Na França podem atingir até 70% (SIEGEL *et al.*, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007; CDC, 2013).

A prevalência de cepas bacterianas resistentes varia de acordo com o estabelecimento de saúde, a especialidade, a localização geográfica, o tempo de permanência do paciente e seu perfil no serviço (CRISÓSTOMO *et al.*, 2001; SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004; SIEGEL *et al.*, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007). A resistência bacteriana constitui um problema mundial de saúde pública, destacando-se como alvo para controle entre estratégias

globais voltadas para garantir um cuidado seguro. Em 2011, a resistência antimicrobiana foi tema do Dia Mundial de Saúde, proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS), chamando atenção para o desafio da implementação de ações imediatas de controle da disseminação destes micro-organismos, visando minimizar a progressiva limitação de opções terapêuticas para tratamento destes casos (OMS, 2011).

Dentre as ações preconizadas pela OMS para o controle da resistência bacteriana, ressaltam-se: necessidade de aumentar a vigilância da resistência aos antimicrobianos; uso racional de antimicrobianos e sua regulamentação; prevenção e controle das infecções nas instituições de saúde; e ações nacionais intersetoriais e multidisciplinares coordenadas com o envolvimento da sociedade civil. No Brasil, a Resolução 44/2010 da Diretoria Colegiada (RDC) determina a retenção da prescrição médica como medida de controle e redução do uso indiscriminado destes agentes, constituindo-se em importante passo para o controle da resistência bacteriana (OMS, 2011).

A introdução dos agentes antimicrobianos no tratamento das infecções a partir da década de 1940 e seu uso irrestrito favoreceram a seleção de bactérias e o desenvolvimento de mecanismos de resistência (ROSSI, ANDREAZZI, 2005; TENOVER, 2006).

Desde a detecção dos primeiros isolados bacterianos resistentes, por volta de 1944, verificou-se rápida evolução da resistência bacteriana. Na Europa, em 1988, foram encontrados os primeiros isolados de enterococos resistentes à vancomicina (VRE), introduzida para uso clínico na década de 1950; e, em 2002, nos EUA, do *Staphylococcus aureus* com o mesmo perfil (VRSA). Como agravante deste cenário, merece atenção o fato de a vancomicina constituir a terapia de escolha para infecção causada por *Staphylococcus aureus* (CDC, 2002; SILVEIRA, *et al.*, 2006).

Dentre as bactérias resistentes, as espécies *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp. destacam-se como principais agentes associados às infecções, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, devido aos múltiplos mecanismos de resistência aos agentes antimicrobianos (SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004; RICE, 2008; GASINK *et al.*, 2009; VICRAM *et al.*, 2010; RUPPÉ *et al.*, 2012, DANCER *et al.*, 2013).

Nos Estados Unidos, 60% das IRAS estão relacionadas aos micro-organismos resistentes (RICE, 2008). De acordo com resultados do Programa de Vigilância Epidemiológica e Resistência Antimicrobiana (SENTRY) para a América Latina e Brasil, os bastonetes Gram negativos (*Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*) resistentes aos

carbapenêmicos e *Enterobacteriaceae* produtoras de betalactamases de espectro ampliado (ESBL) constituem o principal problema de farmacoresistência desses países (SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004).

No caso de *Klebsiella pneumoniae*, chama atenção o progressivo isolamento de cepas produtoras de β lactamases de espectro ampliado e, sobretudo na última década, o surgimento de cepas capazes de produzir as carbapenemases, enzimas que inativam os agentes antimicrobianos do grupo dos carbapenêmicos (imipenem e meropenem) geralmente recomendados para tratamento das infecções por *Klebsiella pneumoniae* com perfil de resistência (GASINK *et al.*, 2009).

Apesar de o perfil dos micro-organismos variar de acordo com a instituição de saúde, a Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é apontada por diversos estudos pela alta prevalência de IRAS, principalmente aquelas associadas aos micro-organismos multirresistentes (HARDY *et al.*, 2006; HUANG, DATTA, PLAT, 2006; YLIPALOSAARI *et al.*, 2006).

A ocorrência das infecções em UTI e, principalmente, sua relação com a resistência bacteriana podem ser favorecidas por: gravidade do paciente, instabilidade do seu quadro clínico e uso de procedimentos invasivos acrescidos de aspectos relativos a qualidade da limpeza, desinfecção, estrutura física e recursos humanos qualificados e quantitativamente adequados (HARDY *et al.*, 2006; HUANG, DATTA, PLAT, 2006).

Neste setor, especialmente, pacientes colonizados e/ou infectados representam a principal fonte de disseminação de patógenos, sobretudo porque na colonização, apesar de não haver sintomas clínicos e imunológicos de infecção, os micro-organismos estão presentes nas superfícies cutâneas e mucosas. Outra importante e possível via de transmissão cruzada dos micro-organismos está relacionada a profissionais de saúde colonizados, ambiente, objetos e vestuário contaminados que podem atuar como reservatórios de patógenos. Acresce-se a isso a desatenção com as boas práticas, com destaque para a baixa adesão à higienização das mãos, em todos os continentes, com adesão inferior a 50% (GALLOISY-GUIBAL *et al.*, 2006; BOYCE, 2007; TREAKLE *et al.*, 2009, HENDERSON, 2006; DEDRICK *et al.*, 2007; OLIVEIRA, 2009; OMS, 2009).

A partir do exposto, estratégias voltadas para a contenção da disseminação da resistência bacteriana têm se pautado, essencialmente, pela utilização adequada de precauções-padrão e de contato, pelas vias de transmissão de micro-organismos, buscando favorecer o controle das infecções e prevenção da disseminação de patógenos entre pacientes, profissionais e ambientes (SIEGEL *et al.*, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007).

As precauções-padrão constituem ações preventivas a serem adotadas no cuidado a todos os pacientes, independente de seu diagnóstico. Essas ações incluem: utilização de equipamentos de proteção individual, higienização das mãos antes e após o contato com paciente, descarte adequado dos materiais perfurocortante e vacinação do profissional de saúde contra hepatite B (SIEGEL *et al.*, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007).

Quando a via de transmissão do patógeno é reconhecida, as precauções-padrão são associadas às de contato, recomendadas para o contato direto ou indireto com o paciente e o ambiente. A exemplo, o quarto privativo é desejável, porém na impossibilidade deste enfatiza-se maior separação entre os leitos, evitando compartilhamento de objetos, além do uso estrito de equipamento de proteção individual para os profissionais (SIEGEL *et al.*, 2007).

O monitoramento das práticas de limpeza do ambiente, a utilização exclusiva de equipamentos e objetos para cada paciente e o reforço à equipe de limpeza sobre as recomendações de prevenção de disseminação de patógenos também favorecem o controle da dispersão ambiental de bactérias resistentes. Evidências em estudos com testes moleculares apontam as superfícies e os equipamentos, tais como monitores, estetoscópios, teclados de computador e mesa de cabeceira com destaque para o leito, como locais de recuperação de elevadas taxas de contaminação, mesmo após a limpeza, reafirmando o papel do ambiente na cadeia de transmissão de micro-organismos, sobretudo daqueles resistentes (HAYDEN *et al.*, 2006; HICPAC *et al.*, 2008; DUMIGAN *et al.*, 2010; HUSLAGE *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Todavia, a colonização de pacientes, profissionais e ambientes não é rotineiramente identificada, apesar de constituir uma fonte de micro-organismos, muitas vezes, subestimada nos estabelecimentos de cuidados em saúde. Culturas de rotina dos pacientes e do ambiente, geralmente, são realizadas em casos de surtos ou para pacientes em unidades de maior risco para aquisição de infecções como as UTI (SIEGEL *et al.*, 2007; CALFEE, JENKINS, 2008; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010; ZAHAR *et al.*, 2010; MUZSLAY *et al.*, 2013; BIRGAND *et al.*, 2013).

Para a contenção da disseminação de bactérias resistentes, medidas como cultura de vigilância, ou seja - monitorização de casos de colonização e infecção - e isolamento de pacientes portadores desses micro-organismos são destacadas em diversos estudos. Ainda que tais recomendações sejam relevantes, são verificados como lacunas a determinação do impacto/efetividade que cada medida produz, sobretudo de avaliações das oscilações, e a possibilidade de redução da carga microbiana associada à colonização (GBAGUIDI-HAORE

et al., 2008; RODRIGUEZ- BANO *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010; VIKRAM *et al.*, 2010; BIRGAND *et al.*, 2013).

Nos hospitais, geralmente, após a identificação de um paciente portador de MRSA, a implementação da precaução de contato é imediata e recomendada também em próximas reinternações, devido à hipótese de “colonização ao longo da vida”, o que torna crescente a demanda de leitos para isolamento hospitalares. Entretanto, conforme observado em estudos na última década, o tempo de colonização pode ser variável (GBAGUIDI-HAORE *et al.*, 2008; VIKRAM *et al.*, 2010; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010).

A colonização por determinado micro-organismo pode persistir por tempos variáveis. Por exemplo, na verificação da persistência da colonização intestinal por *Enterobacteriaceae* produtoras de β – lactamase de amplo espectro – ESBL em pacientes admitidos em um hospital da França, registrou-se uma média de colonização de 132 dias. Para MRSA em estudo semelhante realizado em Berna, detectou-se uma média de 7,4 meses, aproximadamente 220 dias de colonização, mesmo em uso de protocolo de descolonização com mupirocina. Entretanto, o MRSA pode ser carreado pelo paciente por média de um ano aproximadamente, mesmo após a alta e em possíveis reinternações (MARSCHALL, MÜHLEMANN, 2006; ZAHAR *et al.*, 2010).

Na França, em estudo multicêntrico envolvendo 47 hospitais públicos de ensino e 25 unidades de cuidados domiciliares, a prevalência de carreadores de MRSA foi de 12,7% após alta hospitalar. Dos pacientes em cuidado domiciliar 55%, tiveram descolonização sem uso de antimicrobianos direcionados à descolonização em torno de um ano. O percentual de transmissão de MRSA para os contatos domiciliares foi de 19%. Aspectos como longa permanência no hospital, idade elevada e lesões crônicas da pele foram associados à colonização por MRSA (LUCET *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010).

Apesar da possibilidade de persistência do estado de colonização por bactérias resistentes por tempos variados, poucos estudos abordam a descolonização sem o uso de protocolos de descolonização com antimicrobianos, as oscilações da carga microbiana no decorrer do tempo e, sobretudo, o tempo realmente necessário de implementação ou descontinuidade das precauções de isolamento. A escassez de estudos com a avaliação da possível descolonização natural e, sobretudo, da oscilação da carga microbiana pode ser em parte relacionada às limitações metodológicas. Cita-se como exemplo que o método tradicional de estimativa da carga microbiana por meio do cultivo microbiológico de amostras clínicas é laborioso e pode não detectar cargas microbianas muito reduzidas e que a PCR em tempo real reduz a carga de trabalho, mas não permite avaliações fenotípicas, e possui custo

mais elevado, além de demandar tempos mais longos de seguimento entre outros aspectos (VIKRAM *et al.*,2010; ZAHAR *et al.*, 2010).

Neste contexto, tornou-se relevante questionar os aspectos epidemiológicos da colonização e infecção de pacientes em Unidades de Terapia Intensiva, considerando-se as espécies bacterianas de maior prevalência apontados na literatura e de relevância epidemiológica nas instituições (*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*). Assim, foram propostas as seguintes questões de pesquisa: “Qual é a variação da carga microbiana no estabelecimento da colonização e/ou infecção? E quais são as características associadas à colonização e à infecção por bactérias resistentes entre os pacientes admitidos em Unidade de terapia Intensiva (UTI)?”

O alcance da determinação das características associadas à colonização e da possível infecção de pacientes por bactérias resistentes busca favorecer a otimização e o gerenciamento dos recursos utilizados durante a implementação das precauções de contato com potencial redução de custo e maior segurança aos profissionais de saúde na prestação da assistência.

Concomitante aos custos adicionais e à maior demanda de leitos na implementação das precauções de contato, observa-se uma relação entre o isolamento do paciente (labilidade emocional, sensação de discriminação e outros) e a insatisfação com o tipo de cuidado recebido, expressada, muitas vezes, por relato de menor frequência de contato com os profissionais, possivelmente, devido à maior demanda do tempo na paramentação necessária à assistência ao paciente em precaução de contato. Além disso, destaca-se a possível banalização do isolamento (até a alta hospitalar) pelo próprio paciente, devido à não compreensão do seu real significado por ele e pelos profissionais, evidenciada pela baixa adesão ao uso de equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados, favorecendo a disseminação de patógenos (STELFOX, BATES, REDELMEIER, 2003; GILLIGAN, 2010).

No âmbito nacional, esta proposta justifica-se pela escassez de estudos focados nos aspectos epidemiológicos da colonização e infecção de pacientes por bactérias resistentes, fundamentalmente em UTI. Constitui, ainda, um avanço do conhecimento em uma área de preocupação mundial atual na busca de medidas de relevância para o controle da disseminação de bactérias resistentes.

Diante do exposto, as respostas a serem alcançadas nesta proposta de pesquisa visam contribuir para um conhecimento que subsidie a reflexão da situação atual e das

políticas públicas e de controle de infecção voltadas para o gerenciamento de medidas de controle da disseminação de bactérias resistentes.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Determinar os aspectos epidemiológicos e microbiológicos relacionados à colonização e infecção de pacientes por bactérias resistentes de relevância epidemiológica (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*) em Unidade de Terapia Intensiva e após alta.

1.1.2. Objetivos específicos

- Caracterizar as espécies bacterianas, fenotipicamente e genotipicamente, de relevância epidemiológica associadas à colonização e ou/infecção dos pacientes;
 - Verificar as oscilações da carga microbiana, ao longo do tempo, na colonização do paciente por bactéria de relevância epidemiológica;
 - Estabelecer a carga microbiana (Unidades Formadoras de Colônias – UFC em logaritmo de base 10) associada à colonização ou infecção;
 - Monitorar o tempo de possível descolonização sem o uso de protocolos com antimicrobianos ou redução da carga microbiana de pacientes portadores bactérias resistentes durante a internação;
 - Estimar o intervalo de tempo de colonização por bactérias resistentes após a alta e a possível transferência destes para contatos próximos;
-

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Colonização da pele e mucosas humana

A colonização da pele e mucosas humana inicia-se no momento da passagem do feto pelo canal de parto, nas primeiras 72 horas. Desde então, procede-se ao estabelecimento da microbiota, que, em breve período de tempo apresenta-se numa ordem de 1×10^{14} células bacterianas. A colonização após o nascimento é favorecida pelo contato com a microbiota materna e ambiental. Subsequentemente, o neonato torna-se continuamente exposto a novos micro-organismos, principalmente via alimentação e manipulação (BITTAR, E.; BITTAR, N., 1997; THOMPSON- CHAGOYÁN; MALDONADO; GIL, 2007).

A microbiota pode sofrer diversas modificações, dependendo dos estágios da vida. Para o trato intestinal nos primeiros dias de vida, observa-se a predominância de micro-organismos anaeróbios facultativos. Em poucos dias os coliformes e estreptococos tornam-se predominantes. Devido à introdução de sucessivos alimentos diferentes, por volta dos 24 meses de idade a microbiota assemelha-se à fase adulta. Entretanto, na infância pode ocorrer maior quantidade de bifidobactéria em relação a *Bacteroides* spp. O gênero *Bifidobacterium* é constituído de bactérias que atuam como importante probiótico; ou seja, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Após os dois anos de idade, observa-se na microbiota intestinal a predominância dos filos Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria e Archaea (THOMPSON- CHAGOYÁN; MALDONADO; GIL, 2007).

Na pele, as bactérias presentes dividem-se em dois grupos:

a) residentes – encontram-se abaixo das células superficiais da epiderme; colonizam os animais, inclusive os seres humanos e constituem a microbiota normal.

b) Transitória – são facilmente removidas durante a higienização da pele quando comparadas às residentes, embora, a quantidade dos micro-organismos residentes possa ser reduzida na pele em situações como na lavagem ou fricção antiséptica das mãos antes de cirurgias, como observado no procedimento de degermação (OMS, 2009); compõe-se de micro-organismos presentes na camada mais superficial da pele; não se multiplicam, mas podem sobreviver; e, sendo de fácil remoção, possivelmente, são transferidas para diferentes locais e, assim, podem ser disseminadas entre pacientes, ambiente, profissionais e pessoas que circulam nas instituições de saúde (OMS, 2009).

Os diversos micro-organismos constituintes da microbiota humana interagem, geralmente, em equilíbrio com as células do hospedeiro, destacando-se as relações de comensalismo, em que uma espécie é favorecida sem prejuízo da outra, e de mutualismo com

benefício das duas espécies. A microbiota, ainda, contribui para a defesa do hospedeiro ao limitar a colonização deste por patógenos (GILMORE, FERRETTI, 2003).

Em algumas situações, todavia, micro-organismos da microbiota do paciente podem se associar às infecções relacionadas à assistência à saúde. Este aspecto é observado com *Enterococcus* spp. comensais do trato intestinal, que, sob pressão de agentes antimicrobianos, podem apresentar resistência, a exemplo dos enterococos resistentes a vancomicina, associando-se à infecções, com relevância epidemiológica em 80% dos casos de detecção do micro-organismo em amostras de sangue. Além de bacteremias, enterococos podem favorecer casos de cistite, infecção de feridas operatórias, peritonites e outros (GILMORE, FERRETTI, 2003; ANVISA, 2004).

Semelhantemente, *Staphylococcus epidermidis*, um comensal presente na pele, chama atenção por estar frequentemente associado a infecções pela contaminação de dispositivos invasivos, como cateteres, quando barreiras máxima de proteção durante a implantação destes dispositivos não são observadas, como no procedimento de assepsia da pele e/ou na manipulação da conexão dos dispositivos, por vezes, inadequada durante a manutenção deles (CDC, 2002).

Alterações no equilíbrio da microbiota humana em pacientes hospitalizados, principalmente quando em uso de agentes antimicrobianos, favorecem a seleção dos micro-organismos multirresistentes (THOMPSON- CHAGOYÁN; MALDONADO; GIL, 2007).

Os micro-organismos que apresentam fatores de virulência, como produção de toxina e invasão tecidual, também podem constituir parte da microbiota humana sem desencadear sintomas clínicos e imunológicos de infecção, mantendo um estado de latência. Este aspecto pode ser observado com *Staphylococcus aureus*, apesar de seus diversos fatores de virulência tais como produção de toxinas, proteínas de adesão ao tecido do hospedeiro e enzimas que facilitam a invasão tecidual. O favorecimento da patogenicidade relaciona-se à habilidade para aquisição de nutrientes para crescimento e sobrevivência no meio (FOSTER, 2005; BROWN, PALMER, WHITELEY, 2008).

O crescimento de patógenos, possivelmente, pode ser favorecido por flutuações da carga dos micro-organismos componentes da microbiota humana relacionadas a fatores como deficiência nutricional, estresse, doença ou tratamento com agentes antimicrobianos (STECHEER *et al.*, 2010).

O crescimento bacteriano pode ser descrito em fases. A primeira constitui a adaptação ao meio onde não se observa multiplicação, mas uma forte atividade enzimática, proporcionando adaptação ao meio. Na segunda fase, chamada de *log*, devido ao crescimento

exponencial, observa-se a multiplicação máxima das bactérias de acordo com as condições do meio. Na terceira fase, o crescimento torna-se estacionário e o número de células é constante. Na última fase, há um declínio constante das células bacterianas até a eliminação do micro-organismo no meio (figura 1).

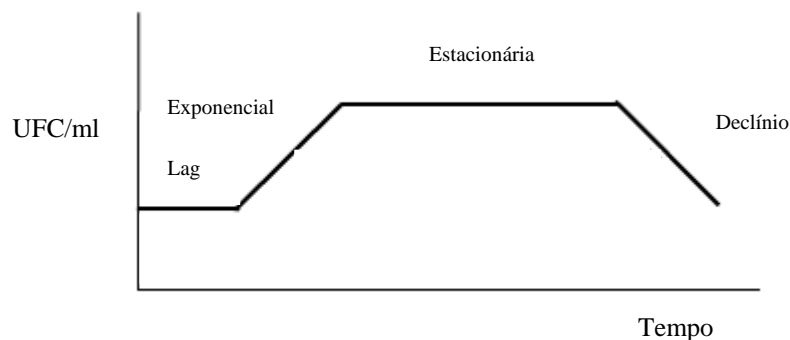


Figura 1 - Curva de crescimento bacteriano

Fonte: WIDDEL, 2010

Pode ocorrer em alguns meios uma fase estacionária de longa duração, perpetuando a permanência do micro-organismo de acordo com algumas características do meio, como as condições nutricionais e pH (VERMELHO; BASTOS; SÁ, 2007).

A carga microbiana - ou seja, o total de unidades formadoras de colônias (UFC) de uma determinada espécie bacteriana presente na microbiota humana e suficiente para causar um processo infeccioso - ainda não está bem definida. No caso dos estafilococos, estima-se, hipoteticamente, que um inóculo de 10 a alguns milhões de micro-organismos poderia causar infecções em pacientes (DANCER, 2008).

2. 2. Resistência bacteriana

De acordo com o CDC, micro-organismos multirresistentes são aqueles que apresentam resistência a uma ou mais classes de antimicrobianos (SIEGEL *et al.*, 2006). Do ponto de vista laboratorial, a resistência bacteriana refere-se à capacidade de crescimento de uma bactéria *in vitro* na presença de concentração sérica de antibiótico sem causar toxicidade ao organismo ou quando se mostram resistentes a duas ou mais classes de drogas que alteram suas funções de crescimento para as quais seriam habitualmente sensíveis (*Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI*, 2011).

A resistência bacteriana tornou-se um problema em saúde pública a partir do uso clínico dos antibióticos, na década de 1940, com as penicilinas. Inicialmente, a utilização dos

agentes antimicrobianos trouxe a ideia de que o problema das infecções havia sido solucionado. Entretanto, em um curto período de tempo, em 1946, já se registravam isolados bacterianos não sensíveis às penicilinas. Assim, teve-se início o desafio contra a resistência bacteriana. A partir de então, novos fármacos foram sintetizados, seguidos rapidamente pelo surgimento de isolados a eles multirresistentes (FERNANDES, 2000; ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

A introdução da penicilina para uso clínico na década de 1940 favoreceu consideravelmente o tratamento das infecções causadas por *Staphylococcus aureus*. Entretanto, em 1942 já se registravam casos de *Staphylococcus aureus* resistentes às penicilinas, reduzindo em pouco tempo as possibilidades de terapia antimicrobiana para estes agentes. Em 1961, foi introduzida na prática clínica a oxacilina, primeira penicilina semi-sintética resistente às penicilinas (enzimas produzidas pelos micro-organismos capazes de inativar as penicilinas), constituindo-se, então, em opção para o tratamento das infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes às penicilinas. Mas em meados de 1960 e 1970 o uso indiscriminado das penicilinas semissintéticas e das penicilinas de espectro ampliado e cefalosporinas favoreceu a emergência de MRSA (FERNANDES, 2000; LOWY, 2003; ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

Similarmente com *Enterococcus* spp., que previamente foram considerados comensais sem muita importância epidemiológica, a aquisição de resistência aos glicopeptídeos nos últimos 25 anos tornou-os uma das principais causas de infecções nosocomiais (HOLLENBECK, RICE, 2012).

Desafios similares são observados nas infecções causadas por bactérias Gram-negativas, que, devido à conformação de sua membrana externa, apresentam naturalmente uma resistência intrínseca aos antimicrobianos de moléculas grandes ou hidrofóbicas adicionada à resistência adquirida com importantes repercussões clínicas (LIVERMORE, 2012).

Entre as bactérias Gram-negativas de importância epidemiológica, destacam-se as Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp.) e não fermentadores (*Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*). Este conjunto de micro-organismos está frequentemente associado às infecções em pacientes imunocomprometidos, especialmente em UTI, sendo, portanto, considerados oportunistas, além de apresentarem amplo perfil de multirresistência aos antimicrobianos (SNYDER, O'FALLON, AGATA, 2011; LIVERMORE, 2012; FORTALEZA, FREITAS, LAUTERBACH, 2013).

Numa avaliação de *Enterobacteriaceae* isoladas de amostras clínicas em 18 hospitais da Alemanha, verificou-se que 54,3% destas produziam ESBL. Nesses hospitais, constatou-se, ainda, que entre os pacientes colonizados por bactérias Gram-negativas houve um tempo de hospitalização relativamente longo (média: 37,2 dias). A longa permanência de pacientes em instituições de saúde e o uso de antimicrobianos podem favorecer o risco de aquisição de bactérias multirresistentes (SOSTARICH *et al.*, 2008; WILLWMSSEN *et al.*, 2011).

A multirresistência entre espécies de *Enterobacteriaceae* tem-se tornado um desafio global, pela ampla expressão de β lactamases e pela crescente tendência da expressão de resistência aos carbapenêmicos em todo o mundo. A resistência aos carbapenêmicos pode ter sido favorecida pelo seu frequente uso em casos de infecções por espécies de *Enterobacteriaceae* ou não fermentadores (*Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*) com extenso perfil de resistência aos carbapenêmicos (LOWE *et al.*, 2012; NORDMANN, POIREL, 2013, VOULGARI *et al.*, 2013).

A maioria das ESBL é do tipo TEM, SHV ou CTX-M sendo a última reconhecida por sua importante inativação da cefotaxima. Os genes codificadores dessas ESBL estão localizados em plasmídeos, conferindo fácil disseminação entre as espécies de *Enterobacteriaceae*. A extensa expressão de β lactamases por cepas em todo o mundo pode ser explicada em parte pela importante disseminação do gene bla_{CTX-M-15} entre espécies de *Enterobacteriaceae* (COQUE *et al.*, 2008; NAAS *et al.*, 2010; LOWE *et al.*, 2012).

A disseminação de CTX-M pode ser observada também na comunidade, a exemplo de amostras de *Escherichia coli*, com expressão fenotípica do gene em infecções comunitárias na Suíça. A ampla recuperação de bactérias produtoras de ESBL até mesmo na cadeia alimentar, a exemplo de aves, provavelmente, contribui para sua emergência na comunidade (LARTIGUE *et al.*, 2007; WILLWMSSEN *et al.*, 2011).

Semelhantemente, verifica-se a emergência e a ampla disseminação de carbapenemase entre bactérias Gram-negativas, especialmente entre espécies de *Enterobacteriaceae*, sendo descrita pela primeira vez em *Klebsiella pneumoniae* em 2001 nos Estados Unidos. Entre as carbapenemases de classe A, destacam-se as enzimas KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases), sendo a KPC-2 a variante mais frequentemente identificada. Os genes bla_{KPC} podem se localizar numa ampla variedade de plasmídeos (YIGIT *et al.*, 2001; NAAS *et al.*, 2012).

Apesar de serem reportadas primariamente em *Enterobacteriaceae*, verifica-se a produção de carbapenemases por outras bactérias Gram-negativas, como *Acinetobacter*

baumannii e *Pseudomonas aeruginosa*. Entre essas duas espécies bacterianas são frequentemente encontradas as carbapenemases de classe D, ou Oxalinases (OXAs). As OXAs possuem um amplo espectro de hidrólise, incluindo os carbapenêmicos. Atualmente, já foram descritas mais de 150 variantes de OXAs. Algumas dessas espécies de bactérias possuem naturalmente no genoma genes codificadores de oxalinases (POIREL, NAAS, NORDMANN, 2010; NAAS *et al.*, 2012).

O uso empírico dos β -lactâmicos para tratamento de infecções de tecidos mole em várias partes do mundo pode, ainda, favorecer a disseminação de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina adquiridos na comunidade (CA-MRSA) (RICE, 2012).

Os desafios crescentes para o controle da disseminação da resistência bacteriana associada às infecções nas instituições de saúde culminaram com a proposição de um desafio mundial a - Tolerância zero -, em resposta aos comportamentos inseguros e às práticas que colocam a saúde de pacientes e profissionais em risco, lançado pela *Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology* (APIC). Nesta proposta, destaca-se a premissa de que “deve ser inaceitável a não adesão dos trabalhadores da saúde às medidas de controle de infecção”. Esta abordagem rigorosa, mesmo que sem caráter punitivo, ainda que não elimine as infecções e a disseminação de bactérias multirresistentes, visa favorecer mudanças positivas, como a melhor adesão às medidas preventivas (*Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology*-APIC, 2008).

No guia para controle dos micro-organismos multirresistentes nos estabelecimentos de saúde, atenção especial deve ser conferida ao controle de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e enterococos resistentes à vancomicina, bacilos Gram-negativos (BGN), inclusive os produtores de beta-lactamases (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* entre outros) de amplo espectro, devido à frequência de resistência destes aos principais antimicrobianos disponíveis e aos registros na comunidade (SIEGEL *et al.*, 2006).

A prevalência de micro-organismos relacionados às infecções em determinado estabelecimento de saúde e a permanência e disseminação deles no local dependem da vulnerabilidade do hospedeiro, da seleção de micro-organismos pelo uso de antimicrobianos, da pressão de colonização (aumento do potencial de transmissão de grande número de pacientes colonizados e/ou infectados) e do impacto da implementação e adesão às medidas de controle aplicadas (SIEGEL *et al.*, 2006; KEMPF, ROLAIN, 2012).

Os pacientes mais susceptíveis às infecções são aqueles portadores de doenças graves, principalmente com o sistema imunológico comprometido devido às terapias

utilizadas, submetidos a procedimentos cirúrgicos ou com dispositivos invasivos (SIEGEL *et al.*, 2006; KOLA *et al.*, 2007; BORER *et al.*, 2012).

À medida que surgem novas tecnologias e terapias, a exemplo dos transplantes, tende a aumentar a frequência de pacientes com a imunidade comprometida, favorecendo, portanto, a susceptibilidade às infecções por micro-organismos oportunistas (SEHULSTER *et al.*, 2004; KOLA *et al.*, 2007; RAZAZI *et al.*, 2012).

Verifica-se frequente ocorrência de infecções por micro-organismos da microbiota residual entre pacientes com a imunidade comprometida, sobretudo em UTI. Assim, a patogenicidade é fortemente dependente, se não exclusivamente do comprometimento do sistema imune do hospedeiro. Tais organismos, se adquiridos do ambiente por pessoas híginas, permaneceriam em estado de latência, raramente desenvolvendo doença. Dessa forma, o estado de doença seria principalmente definido mais pela situação do hospedeiro que pelo micro-organismo (PIROFSKY; CASADEVALL, 2002, SAKKA *et al.*, 2007; RUSHTON *et al.*, 2010).

Somados à imunidade comprometida, outros fatores favorecem a aquisição de patógenos pelos pacientes em UTI: exposição ao maior contato com profissionais de saúde para a realização de procedimentos; uso de antimicrobianos e de tratamentos invasivos; dispositivos como cateteres, sondas e ventilação mecânica; e a permanência quase sempre elevada nesta unidade (SIEGEL *et al.*, 2006; JACOBY *et al.*, 2009; RUSHTON *et al.*, 2010).

A permanência em UTI favorece a aquisição de bactérias multirresistentes nas diversas instituições de saúde, apesar de as taxas variarem conforme a localização geográfica e o perfil dos pacientes. A predominância destes micro-organismos em UTI se deve, possivelmente, à pressão de colonização, ou seja, pelo aumento do potencial de transmissão devido à quantidade de pacientes colonizados e/ou infectados (HO, 2003; HICPAC, 2006; YLIPALOSSARI, 2006; FORTALEZA, FREITAS, LAUTERBACH, 2013; GROTHS *et al.*, 2013).

No caso de *Staphylococcus aureus*, comumente encontrado na pele, pode ser recuperado de diversos locais anatômicos dos pacientes e profissionais de saúde, como mãos, face, axilas, virilhas e, primariamente narinas. Entretanto, MRSA associado aos cuidados em saúde e também à comunidade torna-se cada vez mais comum. Sua presença na comunidade, provavelmente, está relacionada à potencial patogenicidade e natureza comensal, podendo o micro-organismo ser carregado por períodos consideráveis (HENDERSON, 2006; PATEL, *et al.*, 2008; DENIS, 2009; THIBAUT *et al.*, 2010; GROTHS *et al.*, 2013).

As possíveis origens de CA-MRSA são: a colonização de pacientes e trabalhadores no ambiente hospitalar; e, colonização por paciente hospitalizados com transferência para unidades de saúde ou cuidados domiciliares e posterior disseminação dessa bactéria aos contatos familiares (THIBAUT *et al.*, 2010).

Em relação a CA-MRSA, destaca-se, ainda, a possibilidade de disseminação no ambiente hospitalar. Este aspecto pode ser observado na ocorrência de infecções pela cepa USA300 CA-MRSA em hospitais dos EUA, Canadá, Reino Unido e Ásia. Na Austrália, a cepa parece não ser adaptada ainda ao ambiente hospitalar (BRENNAN *et al.*, 2013).

Para *Acinetobacter baumannii*, observa-se em infecções no ambiente hospitalar sua associação ao uso de ventilação mecânica e à presença de ferimentos ou queimaduras e, sobretudo entre os pacientes críticos (TOWNER, 2009; KEMPF, ROLAIN, 2012; FORTALEZA, FREITAS, LAUTERBACH, 2013).

Infecções por enterococos resistentes à vancomicina representam um desafio, pois a possibilidade de tratamento se torna muito reduzida, associando adicional morbidade e mortalidade aos pacientes (DESHPANDE *et al.*, 2007; HAYAKAWA *et al.*, 2013a; ZHANG *et al.*, 2013).

Em relação à *Klebsiella pneumoniae*, produtoras de carbapenemases, que nos últimos dez anos tem sido registrado como agente vinculado a infecções com limitadas alternativas terapêuticas, associadas à elevada mortalidade, observam-se mecanismos múltiplos de resistência (CALFEE *et al.*, 2008; GASINK *et al.*, 2009; PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS *et al.*, 2012; FELDMANN *et al.*, 2013).

A colonização e/ou infecção de pacientes por mais de uma espécie bacteriana com perfil de resistência aos antimicrobianos, como observado no cotidiano das unidades de isolamento em UTI, podem constituir um meio adequado para transferência de genes codificadores para resistência entre patógenos, favorecendo a multirresistência (PACIO *et al.*, 2003; FURUNO *et al.*, 2005; SNYDER *et al.*, 2011).

2.3 Precaução de isolamento

Para um cuidado seguro, independente do conhecimento prévio da condição de portador de bactérias resistentes de determinado paciente, devem ser observadas as precauções consideradas padrão, com: utilização dos EPI; higienização das mãos antes e após o contato com paciente; descarte adequado dos materiais perfurocortante; e vacinação contra hepatite B. A observação destas medidas em todos os momentos dos cuidados relacionados à assistência a saúde pode reduzir o risco de disseminação de infecções, mesmo antes do

conhecimento do diagnóstico do paciente e de sua condição de portador de micro-organismos de importância epidemiológica (SIEGEL, 2007; APIC, 2008, DANCER *et al.*, 2013; LANDELLE, PAGANI, HARBARTH, 2013).

Dentre as medidas de precaução, merece destaque a higienização das mãos, indicada antes e após o contato com o paciente, após a remoção das luvas, antes de manipular dispositivos invasivos, após o contato com fluidos ou secreções corporais, pele não íntegra e feridas, ao mudar de um sítio contaminado do corpo do paciente para outro limpo e após contato com objetos inanimados (incluindo equipamentos médicos). Ressalta-se, ainda, que a higienização das mãos não pode ser substituída pelo uso de luvas e que estas devem ser removidas após o cuidado com o paciente (OMS, 2009; RANDLE, ARTHUR, VAUGHAN, 2010; SMITH *et al.*, 2012).

Apesar do reconhecimento dos desafios no controle das infecções resultantes do crescente registro de bactérias resistentes na prática diária do cuidado realizado nas instituições de saúde, ainda se observam dificuldades de adesão às práticas de um cuidado seguro, sendo que a higienização das mãos não ultrapassa 50% de adesão nas situações necessárias (CLOCK *et al.*, 2010; MAYER *et al.*, 2011; SMITH *et al.*, 2012; KALATA, KALANGE, MUULA, 2013).

A rápida detecção de pacientes colonizados por bactérias resistentes, acrescida da adesão às medidas de controle, com destaque para as precauções de contato, pode reduzir a disseminação destes patógenos e impactar as taxas de infecções, morbi-mortalidade e, conseqüentemente, nos custos hospitalares (TACCONELLI, 2009; REILLY *et al.*, 2012 ; LANDELLE, PAGANI, HARBARTH, 2013).

A identificação da colonização e ou infecção de pacientes por espécies bacterianas de relevância epidemiológica para o acompanhamento destes está associada às precauções de contato. Uma das medidas apontadas nas precauções de contato é o uso de quarto privativo, quando possível, ou a separação em coortes dos pacientes colonizados por micro-organismos semelhantes (SIEGEL, 2007; GBAGUIDI-HAORE, 2008; LANDELLE, PAGANI, HARBARTH, 2013).

Durante a implementação da precaução de isolamento, merece destaque a possibilidade de superlotação das unidades, gerando indisponibilidade de leitos e custos adicionais, sobretudo se as medidas não forem gerenciadas em acordo com a demanda do setor e o conhecimento do controle de infecções (GILLIGAN *et al.*, 2010; THAMPI, MORRIS, 2012).

O monitoramento das práticas de limpeza do ambiente, do emprego de objetos de uso exclusivo para cada paciente, como termômetros e estetoscópios, do reforço do treinamento da equipe que trabalha com a limpeza e da realização de culturas ambientais quando houver evidências de fontes do ambiente relacionadas a surtos também pode favorecer o controle da disseminação ambiental de bactérias multirresistentes (SIEGEL *et al.*, 2007; DREES *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2012).

Nesta perspectiva, as precauções de contato constituem uma barreira física na prevenção da disseminação das bactérias resistentes no ambiente hospitalar, com importante redução nas taxas de colonização e/ou infecção. Estudo de série temporal revelou que o uso de quarto privativo (ou coortes) de pacientes esteve associado a uma redução de 60% na aquisição de MRSA. Todavia, a implementação dessas precauções pode implicar alguns desafios, como: maior labilidade emocional do paciente; relatos de menor frequência da assistência durante os cuidados na unidade do paciente, devido a uma provável demanda de maior tempo necessário na paramentação do profissional; e, sobretudo, indefinição do tempo médio de discontinuidade da medida sem implicar risco de disseminação desses micro-organismos (STELFOX, BATES, REDELMEIER, 2003; GILLIGAN, 2008; THAMPI, MORRIS, 2012; MARSHALL, RICHARDS, McBRYDE, 2013; LANDELLE, PAGANI, HARBARTH, 2013).

A identificação dos pacientes portadores de bactérias resistentes à admissão hospitalar pode favorecer a implementação das medidas de controle e reduzir a disseminação desses micro-organismos e infecções. Todavia, a identificação desses casos é recomendada nas unidades com pacientes mais graves, em cuidados intensivos e em casos de surtos. Assim, a colonização de pacientes pode permancer subestimada em outras unidades de cuidado ao paciente. Outro aspecto observado refere-se às limitações nos métodos de identificação do estado de colonização dos pacientes. Na técnica tradicional há uma requisição de maior tempo para o cultivo e a identificação do micro-organismo e na utilização da PCR verifica-se aumento dos custos. Não é frequente o seu uso na maioria das instituições de saúde (MURTHY *et al.*, 2010).

Os testes moleculares constituem importante auxílio na verificação de similaridade de cepas. Todavia, esses testes ainda são pouco acessíveis à maioria dos laboratórios hospitalares, devido à limitação dos recursos econômicos. Entretanto, avaliações do custo-benefício do uso de métodos moleculares em laboratórios hospitalares poderiam justificar maior emprego destes (SEXTON *et al.*, 2006).

Após a identificação da colonização do paciente por bactérias resistentes, as medidas de precauções são mantidas até a alta hospitalar ou reinternações em curtos intervalos de tempo. O tempo médio de colonização desses pacientes permanece indefinido e controverso, podendo variar de alguns meses a anos. Dessa forma, a manutenção das precauções de contato durante o tempo de permanência hospitalar dos pacientes eleva os custos e reduz a disponibilidade de leitos (PACIO *et al.*, 2003; LUCET *et al.*, 2009; O'FALLON, GAUTAM, D'ÁGATA, 2009; ZAHAR *et al.*, 2010; ZIMMERMAN *et al.*, 2013).

2.4 Descolonização

Dentre as medidas de controle das IRAS destaca-se, ainda, a possibilidade de descolonização de pacientes portadores de bactérias resistentes. Entretanto, observam-se recomendações claras desta prática apenas nos casos de colonização por MRSA. Apesar de recomendada, não constitui uma rotina universal, não sendo comum no Brasil. A erradicação da colonização por MRSA baseia-se em dois objetivos: prevenir infecções; e combater a transmissão do micro-organismo (SIEGEL *et al.*, 2007; AMMERLAAN *et al.*, 2011).

Os pacientes são considerados descolonizados na ausência de crescimento da bactéria resistente, em meios de cultivo, após esquema terapêutico de descolonização. Para a descolonização, podem ser utilizados agentes antimicrobianos ou antissépticos tópicos para prevenir infecções e surtos por micro-organismos específicos. Entretanto, considera-se a possibilidade de persistência desses micro-organismos em níveis pouco detectáveis após esquema terapêutico, a exemplo do VRE (SIEGEL *et al.*, 2007).

Na descolonização por MRSA, são frequentemente utilizados a mupirocina nasal (4%) e o banho com clorhexidina (2-4%), a exemplo do seu uso nos hospitais universitários de Genebra desde 1994, sendo, inclusive, verificada resistência aos agentes utilizados (LEE *et al.*, 2011).

A mupirocina é reconhecida como o melhor antimicrobiano tópico disponível para bactérias Gram-positivas, sendo utilizada para descolonização nasal desde 1980. O gluconato de clohexidina é uma bisbiguanida catiônica desenvolvida no Reino Unido, aproximadamente, em 1950. Seu uso como antisséptico pode prevenir infecções e a disseminação de bactérias resistentes com efetividade tanto para Gram-positivas como para as Gram-negativas. Entretanto, essa efetividade da clohexidina tem maiores registros entre as bactérias Gram-positivas, a exemplo de MRSA e VRE, devido ao maior número de avaliações

em estudos direcionadas para estes (COATES, T., BAX, COATES, A., 2009; DERDE, DAUTZENBERG, BONTEN, 2012).

Outro aspecto importante relacionado à clohexidina é o seu efeito antimicrobiano residual, que pode reduzir a carga microbiana dos pacientes e, conseqüentemente, a contaminação ambiental. A clohexidina pode ser utilizada na descontaminação de cavidade bucal, na preparação cirúrgica da pele e, em banho, na descolonização ou redução da carga microbiana em período pré-operatório ou de pacientes portadores de bactérias resistentes (DERDE, DAUTZENBERG, BONTEN, 2012; CLIMO *et al.*, 2013).

Na descolonização de pacientes portadores de bactérias resistentes verifica-se a redução da aquisição destes micro-organismos após a utilização de protocolos com o banho de clorexidina, especialmente para MRSA (DERDE *et al.*, 2014).

Na avaliação do banho diário com clorexidina (2%), em estudo multicêntrico, randomizado, a taxa de infecção de corrente sanguínea por bactéria resistente foi inferior em 28,0% para os pacientes que participaram do protocolo de descolonização quando comparados àqueles que não participaram (CLIMO *et al.*, 2013).

O uso de antissépticos pode reduzir a carga microbiana e as infecções, provavelmente, influenciando no tempo de permanência no estado de colonização por bactérias resistentes.

Mesmo na descolonização por MRSA com possibilidades de sucesso de até 94% no uso de protocolos com terapia antimicrobiana, considera-se a necessidade de realizar o monitoramento da resistência aos agentes utilizados nos protocolos de descolonização e possíveis perda da efetividade clínica ao longo do tempo. Cabe ressaltar que os casos que não respondem à terapia antimicrobiana podem ter uma possível causa na seleção de bactérias resistentes ao agente antimicrobiano utilizado. Para a resistência à mupirocina entre isolados de MRSA verificam-se em estudos variações de taxas de 18% a 65% (VIVONE *et al.*, 2005; Macfarlane *et al.*, 2007; MONGKOLRATTANOTHAI *et al.*, 2008; CLIMO *et al.*, 2013).

A associação de estratégias múltiplas para reduzir a disseminação e a aquisição de bactérias resistentes pode favorecer melhores resultados. Essa possibilidade foi verificada nos estudos analisados, mediante a utilização de medidas conjuntas com a manutenção do controle de MRSA em UTI quando utilizada a descolonização de pacientes e o isolamento por meio do uso de quarto privativo. De modo semelhante, o reforço na higienização das mãos juntamente com o banho de clorexidina reduziu a aquisição de bactérias resistentes, especialmente para MRSA (SANGAL *et al.*, 2012; DERDE *et al.*, 2014).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Este é um estudo prospectivo, de coorte para a determinação das características epidemiológicas da colonização e/ou infecção de pacientes por bactérias resistentes. O estudo de coorte permite o acompanhamento contínuo de uma população exposta a determinado risco por período de tempo suficiente para a observação do desfecho. Assim, o delineamento de coorte possibilita a determinação de características associadas a um desfecho específico e fornece uma relação temporal entre causa e efeito, com forte base para interpretação causal (FLETCHER, FLETCHER, 2006).

3.2 Local de estudo

O trabalho foi realizado em duas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) de adultos pertencentes a dois hospitais de grande porte localizados em Belo Horizonte, com seguimento do paciente na comunidade após alta, a seguir denominadas de UTI I e UTI II.

- **Unidade de Terapia Intensiva I**

A UTI I pertence a um complexo hospitalar voltado para atividades de ensino, pesquisa e assistência, de referência municipal e estadual no atendimento e tratamento de casos de patologia de média e alta complexidade, com um total de 511 leitos e 95% dos atendimentos direcionados ao Sistema Único de Saúde (SUS). A unidade ocupa quatro blocos, com dezoito leitos, sendo dois reservados aos pacientes em isolamento.

A UTI I recebe paciente predominantemente cirúrgico (cardiovascular, neurologia, transplante, gastrointestinal, osteomuscular e outros) de outros setores do hospital, da comunidade, do pronto-atendimento e de outros hospitais. Em estudo de coorte (2005-2008) realizado nessa unidade verificou-se que a média de permanência para pacientes sem infecção foi de 3,0 dias e para os pacientes infectados, acima de 4 dias, podendo atingir até 19,8 dias. Entre 311 pacientes que tiveram infecções, 27% (84/311) associaram-se as bactérias resistentes (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Na UTI I é realizada vigilância dos casos de colonização por bactérias resistentes por swabs de cavidade nasal e perianal. Para a vigilância, é utilizado o seguinte protocolo em rotina do setor: a) swabs na admissão do paciente; b) swabs a cada seis dias durante a permanência na unidade e em ocasião da alta; e c) em casos de pacientes transplantados, o swab é realizado antes do sexto dia após a admissão, caso seja transferido para outro setor.

- **Unidade de Terapia Intensiva II**

A UTI II pertence a um complexo hospitalar certificado como "Entidade Beneficente de Assistência Social", voltado para atividades de pesquisa, ensino e assistência, com um total de 1.085 leitos para atendimento ao SUS. A unidade classifica-se como Unidade de Terapia Intensiva Clínica. Possui 10 leitos que estão contabilizados entre os 29 leitos do Centro de Terapia Intensiva de adultos deste hospital. Todos os leitos são individualizados em boxes.

A UTI II presta assistência predominantemente a pacientes com patologia de média e alta complexidade que demandam cuidados intensivos, sendo predominantes os pacientes de origem clínica, com uma média de permanência de 15 dias para aqueles colonizados e/ou infectados.

A UTI II não possui protocolo para vigilância dos casos de colonização como rotina do setor. Portanto, não há um registro sistematizado desses dados. Entretanto, podem ser realizados swab nasal e biópsia de feridas quando solicitado em casos especiais, com suspeita de infecções, durante a assistência aos pacientes.

3.3 População e amostragem

Foram acompanhados todos os pacientes que consentiram em participar do estudo durante o tempo de permanência hospitalar e na comunidade após alta no período de abril de 2012 a fevereiro de 2013.

Foram elegíveis pacientes acima de 18 anos portadores de *Enterococcus* spp. resistentes à ampicilina e vancomicina, *Staphylococcus aureus* multirresistentes (resistência à oxacilina e vancomicina), *Klebsiella pneumoniae* multirresistentes (resistência aos carbapenêmicos e/ou cefalosporina de terceira geração), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (resistente à ceftazidima e/ou imipenem/meropenem) ou *Enterobacter* ssp. resistente à cefalosporina de terceira geração e/ou carbapenêmicos. Dos contatos familiares foram elegíveis aqueles sem histórico de internação recente em UTI.

Definições:

- **Colonização:** caracterizada pela presença do micro-organismo em superfícies cutâneas ou mucosas do paciente com ausência de sintomas de infecção (SIEGEL, 2007).
-

- **Carga microbiana:** total das UFC/ml para cada espécie bacteriana em análise (STONE *et al.*, 2008).
- **Contatos familiares:** pessoas em convivência mínima de oito horas diárias no domicílio do paciente em compartilhamento de ambientes e objetos (LUCET *et al.*, 2009).

Seguimento dos pacientes no estudo

- **Dia zero do *follow up***

Identificação e seguimento dos pacientes como colonizados ou infectados por qualquer bactéria resistente (CLSI, 2011) de relevância epidemiológica nas instituições de estudo (*Enterococcus ssp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*) a cada quinze dias nas Unidades de Terapia Intensiva I e II no período de 9 de abril de 2012 a 12 de fevereiro de 2013 que estiveram em precaução de contato.

- **Avaliação quinzenal no ambiente hospitalar**

Após a confirmação do estado de colonização por cultura microbiológica positiva – ou seja, com crescimento de quaisquer das espécies bacterianas de relevância epidemiológica – os pacientes foram avaliados por cultura quinzenal durante sua permanência na UTI ou em outros setores do hospital quando transferidos (LUCET *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010; ZAHAR *et al.*, 2010). O intervalo quinzenal para inserção de novos pacientes no estudo e para acompanhamento do paciente no ambiente hospitalar foi determinado de acordo com a média de permanência dos pacientes colonizados ou infectados nas duas unidades e constitui um intervalo de tempo intermediário ao destacado em estudos semelhantes, nos quais a variação foi de semanal a mensal (MARSCHALL, MÜHLEMANN, 2006; LUCET *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010; ZAHAR *et al.*, 2010).

- **Seguimento na comunidade**

Após a alta hospitalar, os pacientes colonizados e/ou infectados foram acompanhados no domicílio, com periodicidade: mensal, até 180 dias após a alta; trimestral, a partir de 181 dias após a alta; e avaliação microbiológica 12 meses após a alta, considerando o tempo médio de oscilação da carga microbiana de algumas espécies bacterianas com perfil de

resistência aos antimicrobianos (LUCET *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010; ZAHAR *et al.*, 2010). Os contatos familiares que compartilhavam o mesmo ambiente e objetos por no mínimo oito horas diárias dos pacientes colonizados foram elegíveis para verificação da aquisição da bactéria resistente carregada pelo paciente, mediante critérios previamente definidos.

Após a primeira cultura microbiológica negativa para cada paciente, em qualquer momento do *follow up*, esta foi repetida por três vezes consecutivas, para confirmar a ausência de crescimento do micro-organismo em meio de cultivo microbiológico (MARSCHALL, MÜHLEMANN, 2006; LUCET *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010; ZAHAR *et al.*, 2010).

3.4 Variáveis do estudo

3.4.1 Variável dependente: Flutuação da carga microbiana de pacientes portadores de bactéria(s) resistente(s) de relevância epidemiológica (estimada pela enumeração de UFC/ml).

3.4.2 Variáveis independentes

1 - Idade (distribuição amostral)

- a) 18 a 36 anos
- b) 37 a 46 anos
- c) 47 a 60 anos
- d) 60 a 90 anos

2 - Sexo

- a) Masculino
- b) Feminino

3 - Dispositivos invasivos

- a) Sondas
- b) Cateter venoso central
- c) Drenos
- d) Ventilação mecânica

Tempo de uso do dispositivo invasivo (em dias)

4 - Índice de gravidade (ASIS)

A – Em pós-operatório não requerendo cuidado médico ou de enfermagem intensivo, com alta da unidade de internação em até 48 horas.

B – Estáveis fisiologicamente, requerendo observação profilática noturna sem cuidado médico ou de enfermagem.

C – Fisiologicamente estáveis, requerendo cuidado de enfermagem intensivo e monitorização.

D – Fisiologicamente instáveis, requerendo cuidados médicos e de enfermagem intensivos, com a necessidade freqüente de reavaliação e ajuste de terapia.

E – Fisiologicamente instáveis, em coma ou choque ou requerendo ressuscitação cardíopulmonar ou cuidado médico e de enfermagem intensivo e frequente reavaliação.

5 - Uso de antimicrobiano prévio

Penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, carbapenêmicos, peptdeoglicanos, polimixinas e fluoroquinolonas

6 - Uso de terapia antimicrobiana para tratamento de infecções em UTI

Penicilinas, Cefalosporinas, Aminoglicosídeos, Carbapenêmicos, Glicopeptídeos, polimixinas, fluoroquinolonas

7 - Tempo de uso de antimicrobianos após infecção

Tempo total em dias. O tempo de uso para cada antimicrobiano foi estimado com base nas anotações de enfermagem em relação às doses e as às datas de administração de cada uma.

8 - Sítio de colonização

Amostras por swabs dos sítios anatômicos com provável colonização por bactérias multirresistentes: mucosa nasal (ORSA), virilha (ORSA e Gram negativos), períneo (VRE e Gram negativos).

Os sítios anatômicos para a análise de colonização por bactérias resistentes foram escolhidos em consonância com o tropismo de cada espécie para determinado sítio conforme descrito em estudos prévios. Para o monitoramento na comunidade, além dos sítios anatômicos, foram avaliadas amostras fecais (DREES *et al.*, 2008; RODRIGUEZ- BANO *et al.*, 2009, GASINK *et al.*, 2009; GRICE *et al.*, 2009; VIKRAM *et al.*, 2010).

9 - Micro-organismo associado à infecção

Pseudomonas aeruginosa e *Acinetobacter baumannii* resistentes ao imipenem, *Klebsiella pneumoniae* ESBL/KPC, ORSA e VRE.

Sítio de infecção: corrente sanguínea, trato respiratório, trato urinário e outros.

Data de identificação do desfecho de infecção.

10 – Feridas

Classificação das feridas quanto ao tipo: operatória, úlcera por pressão, úlcera venosa crônica e outras.

11 - Readmissão em UTI

As categorias foram definidas de acordo com a distribuição amostral, observando as principais causas de readmissão dos pacientes monitorados. Categorias: cirurgia prévia, doença prévia e outra.

12 – Diagnóstico

As categorias foram determinadas de acordo com a Classificação Internacional de Doenças (CID 10) (Boletins OMS 20-24, 1999-2003 – Centro Brasileiro de Classificação de Doenças – Centro colaborador da OMS).

- 1 - Infecções e parasitárias
 - 2 - Neoplasias
 - 3 - Endócrinas, nutricionais e metabólicas
 - 4 - Sangue, órgãos hematopoiéticos e transtornos imunitários
 - 5 - Esôfago, estômago e duodeno
 - 6 - Hérnias
 - 7 - Doenças do intestino e peritônio
 - 8 - Outras doenças do aparelho digestivo
 - 9 - Fígado
 - 10 - Vesícula biliar, vias biliares e pâncreas
 - 11 - Sistema nervoso
 - 12 - Circulatório, menos veias e linfáticos
 - 13 - Veias e linfáticos
 - 14 - Infecções respiratórias agudas
 - 15 - Outras doenças respiratórias
-

- 16 - Doenças crônicas vias aéreas inferiores
- 17 - Doenças urinárias
- 18 - Doenças genitais masculinas
- 19 - Doenças genitais femininas
- 20 - Insuficiência renal
- 21 - Gravidez, parto e puerpério
- 22 - Pele e tecido subcutâneo
- 23 - Osteomuscular e tecido conjuntivo
- 24 - Causas externas
- 25 - Outros

3.5 Coleta de dados

Para cada paciente foram obtidos e analisados do prontuário os seguintes dados: idade, sexo, uso de dispositivos invasivos, tempo de uso dos dispositivos invasivos, índice de gravidade de acordo com a classificação da severidade ou condição clínica do paciente - *Average Severity Index Score* - ASIS (McCUSKER, PÉRISSÉ, ROGHMANN, 2002), uso prévio de antimicrobianos e durante permanência em UTI, de acordo com o perfil de sensibilidade específicos para cada espécie de acordo com as recomendações do CLSI, 2011 (quadro 1).

QUADRO 1 - Marcadores de resistência aos antimicrobianos de espécies bacterianas de relevância epidemiológica

Micro-organismo	Antimicrobiano
<i>Enterococcus spp.</i>	Ampicilina e vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Oxacilina, vancomicina
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cefalosporina de terceira geração, carbapenêmicos (imipenem, meropenem)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Ceftazidima, carbapenêmicos (imipenem, meropenem)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ceftazidima, carbapenêmicos (imipenem, meropenem)

Fonte: CLSI, 2011; RICE, 2010

O perfil de resistência foi determinado considerando os antimicrobianos recomendados para teste e de maior frequência de utilização nos respectivos hospitais de estudo para tratamento das infecções causadas pelas principais espécies bacterianas de relevância epidemiológica destacados no quadro 1 (CLSI, 2011).

3.6 Análise microbiológica e molecular

Processamento das amostras

- **Amostras clínicas**

Foi utilizada a técnica de *Swabs* (*Swab* Haste Plástico - J. P), com diluição de 10 vezes para análise semiquantitativa. Para cada sítio anatômico de pacientes colonizados e/ou infectados de acordo com o tropismo de cada espécie bacteriana (cavidade nasal, virilha, períneo e feridas), foi rolado um *swab* estéril embebido com solução salina sobre a área delimitada. A mesma técnica foi utilizada para contatos familiares em cavidade nasal (quadro 2). Após a rolagem, o swab foi acondicionado em tubo (falcon) contendo meio Stuart (Difco). O meio Stuart é adequado para o isolamento de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. Trata-se de um meio inerte, isto é, preserva a viabilidade dos microrganismos nas amostras, mas evita sua proliferação, mantendo a proporção e a quantidade das várias espécies o mais próximo do presente na amostra original (OPLUSTIL *et al.*, 2004).

QUADRO 2 - Sítios anatômicos definidos para a coleta de amostras microbiológicas e recuperação das espécies bacterianas de acordo com o tropismo positivo dos microrganismos

Sítio anatômico	Micro-organismo
Mucosa nasal	<i>Staphylococcus aureus</i>
Períneo	<i>Enterococcus</i> spp., Enterobactérias
Virilhas	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i>

Fonte: DREES *et al.*, 2008; RODRIGUEZ- BANO *et al.*, 2009, GASINK *et al.*, 2009; VIKRAM *et al.*, 2010

- **Swab dos sítios anatômicos**

Swab de mucosa nasal (MERMEL *et al.*, 2011)

- O swab umedecido em salina estéril foi introduzido 1cm² na narina anterior, com duas rotações em contato com a membrana nasal, em ambas as cavidades nasais.

Swab perineal (MERMEL *et al.*, 2011)

- O swab foi umedecido em salina estéril e rolado com a técnica em Z do períneo anterior para o posterior.

Swab de virilhas (MERMEL *et al.*, 2011)

- a) O swab foi umedecido em salina estéril e rolado com a técnica em Z da virilha anterior lateral para a anterior medial.

- **Amostras fecais** (ANVISA, 2004)

a) As fezes foram coletadas em frascos estéreis, nos dias de avaliação do paciente na comunidade. O paciente foi instruído para depositar em um frasco limpo uma pequena porção de fezes, no período da manhã, e manter sob refrigeração. No dia dessa coleta, o pesquisador confirmava com o paciente, por contato telefônico, a realização da coleta de fezes em frasco limpo. As amostras eram transferidas para o laboratório imediatamente.

As amostras dos sítios anatômicos foram transportadas em temperatura ambiente e as fezes sob refrigeração para o laboratório de Ecologia e Fisiologia de Micro-organismos. No laboratório, as amostras foram agitadas em vortex durante 60 segundos e uma alíquota de 10^{-1} foi transferida para 900 μ l de solução salina tamponada esterilizada – PBS e agitado (10^{-2}), a seguir foram realizadas mais quatro diluições (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Para as amostras fecais foram homogeneizados 2g de fezes em 10ml de solução salina e a seguir foram realizadas as seguintes diluições: 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} e 10^{-8} .

- **Meios de cultura**

Das amostras clínicas foram distribuídos 100 μ l de cada diluição pela técnica de espalhamento, com uma alça de Drigalski estéril, em meios de cultivo seletivos (Difco) para os micro-organismos de relevância epidemiológica (quadro 3).

Foram distribuídas em meios de cultivo as seguintes diluições: **mucosa nasal** (10^{-2} e 10^{-4}); **virilha** (10^{-2} e 10^{-4}); **períneo** (10^{-4} e 10^{-6}) e **feridas** (10^{-2} e 10^{-4}). Para as amostras de fezes foram utilizadas as diluições 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} e 10^{-8} . As diluições foram escolhidas em consonância com a possibilidade de carga microbiana das principais espécies bacterianas colonizadoras nesses sítios anatômicos.

QUADRO 3 - Meios seletivos utilizados no cultivo das amostras clínicas

Meio de cultivo	Espécies bacterianas
Agar MacConkey	<i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Acinetobacter baumannii</i>
Agar cetrimida	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Agar Baird Parker e Salt manitol	<i>Staphylococcus aureus</i>
Agar Bile Esculina	<i>Enterococcus</i> spp

Todos os meios foram incubados a 37°C por 48 horas. A seguir, foi realizada a contagem semiquantitativa do crescimento microbiano em cada meio (número de colônias na placa x fator de diluição = número de unidades formadoras de colônias - UFC-/ml da amostra original). Determinou-se o número total de colônias por morfotipo relativo às espécies bacterianas de interesse nos meios seletivos.

A carga microbiana foi apresentada utilizando o logaritmo decimal do total de bactérias para cada espécie pertencente ao conjunto de micro-organismos de resistentes.

Durante o seguimento, após a observação da redução do número de colônias em meio de cultivo para um determinado sítio anatômico, foram acrescidas diluições inferiores concomitantes às padronizadas para o estudo até apresentar negatividade da replicação de bactérias em todas as diluições das amostras e, mesmo, no plaqueamento sem diluição.

- **Identificação dos micro-organismos e antibiograma**

Cada morfotipo foi cultivado posteriormente em meio Brain Heart Infusion - BHI (Difco) para a obtenção de culturas puras, que foram utilizadas nos testes de identificação. Os morfotipos sugestivos de *Staphylococcus aureus* foram reisolados em agar manitol hipertônico, para triagem daqueles relacionados à espécie. A partir da cultura pura, todas as amostras foram submetidas aos testes de catalase, coloração de Gram, replicação em caldo BHI a 6,5% de NaCl (*Enterococcus* spp.) e coagulase (*Staphylococcus* spp.), para triagem dos gêneros bacterianos. Entretanto, para a identificação mais precisa em espécie, foram utilizados os cartões com testes bioquímicos Vitek (Biomérieux) para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Os isolados identificados foram submetidos a antibiograma pelo método de Bauer-Kirby (usando discos contendo os antimicrobianos de maior vigilância quanto ao uso em CTI – Vancomicina e ampicilina (para *Enterococcus* spp.), imipenem, meropenem, cefalosporina de terceira geração (*Klebsiella* spp.), imipenem, meropenem e ceftazidima (para *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*) e cefoxitina, para triagem da expressão fenotípica de resistência a oxacilina mediada pelo gene *mecA* em *Staphylococcus* spp.). A técnica de diluição em ágar da vancomicina foi utilizada para os *Staphylococcus* spp., para triagem de fenótipo de resistência à vancomicina (CLSI – 2011) .

- **Preservação dos isolados bacterianos**

Ao término dos testes fisiológicos, bioquímicos e antibiograma, todos os isolados bacterianos identificados foram mantidos em caldo BHI com 20% de glicerol em tubos eppendorff numa temperatura de -20°C.

Das 248 amostras relacionadas a espécies bacterianas resistentes aos antimicrobianos em sítios anatômicos dos pacientes colonizados 114 estiveram relacionadas aos micro-organismos Gram-negativos. Entre as 114 amostras de micro-organismos Gram-negativos 80 (*Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae*), foram liofilizadas para transporte e análise molecular no *L'Institut national de la santé et de la recherche médicale – INSERM 914 “Résistances Emergentes aux Antibiotiques”, Centre National de Référence Associé Résistance aux Antibiotiques, Hopital de Bicetre, Paris, França.*

- **Testes especiais fenotípicos**

Para confirmar o fenótipo de resistência, foi complementado o antibiograma pelo método de Bauer Kirby para todos antimicrobianos recomendados para testes em *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (CLSI, 2011), Etest e Carba NP teste, para determinar o MIC e confirmar a produção de carbapenemase respectivamente (NORDMANN, POIREL, DORTET, 2012).

- **Testes moleculares**

- **Reação em cadeia da polimerase**

Para todas as amostras foi realizada a triagem por PCR dos genes NDM, IMP, VIM, KPC e OXA 48 daquelas identificadas como *Klebsiella pneumoniae* e OXA-23, OXA-40, OXA-58 e OXA-143 para *Acinetobacter baumannii* conforme previamente descrito por Odeh *et al.*, 2002.

- **Sequenciamento das amostras**

Para as amostras positivas em relação a qualquer um dos genes triados para *Klebsiella pneumoniae* (NDM, IMP, VIM, KPC e OXA 48) e *Acinetobater baumannii* (OXA-143 e OXA-23) foram sequenciadas utilizando seus respectivos primers (*foward* e *reverse*) nas condições descritas previamente por Odeh *et al.*, 2002.

- **Clonagem e sequenciamento**

Para as amostras de *Klebsiella pneumoniae* que apresentaram fenótipo de resistência aos carbapenêmicos, mas não foram positivas em PCR para NDM, IMP, VIM, KPC e OXA 48, foram triados outros possíveis genes de resistência associados à expressão fenotípica de ESBL tais como: TEM, CTXM e SHV e primers desenhados como pré SHVA e DeoR-3'ext (quadro 4).

QUADRO 4 - Primers utilizados para amplificação na reação em cadeia da polimerase

Nome do primer	Sequência (5'- 3')
pré SHVA	AATCAGCAAAACGCCGGG
DeoR-3'ext	ATTACCGACCGGCATCTCTCC

Para melhor expressão e identificação dos genes de resistência, o DNA total das amostras de *Klebsiella pneumoniae* foi extraído e digerido pelas seguintes enzimas: EcorI, Hind III e KpnI (fermentas), com posterior ligação ao plasmídeo PBKCMV, também restrito pelas mesmas enzimas e expressão em *Escherichia coli* DH10B (NORDMANN *et al.*, 1993).

O plasmídeo recombinante foi extraído com Plasmid Maxi Kit (Qiagen) e sequenciado com T3 e T7 e com CTM, TEM ou SHV (*foward* e *reverse*) se positivo em PCR com os respectivos primers.

- **Similaridade das amostras**

Na análise de similaridade entre as amostras bacterianas resistentes presentes em colonização de paciente da UTI, foi realizada a comparação por genotipagem, utilizando a técnica de **Diversilab** (Biomérieux). O Diversilab, técnica baseada nos princípios da *repetitive sequence based* PCR (rep-PCR), permite a amplificação de diferentes tamanhos de fragmentos do DNA não codificador (específico por espécie). De forma acurada, permite a rápida distinção em subespécies e cepas, constituindo importante ferramenta para identificar fontes de contaminação e disseminação de micro-organismos associados a infecções (FLUIT *et al.*, 2010).

O Diversilab é um sistema semiautomatizado, que possui alto nível de padronização. Esse aspecto reduz possíveis dificuldades na reprodutibilidade, evitando variações nas condições do ensaio. Uma imagem virtual do gel é gerada, com a apresentação dos padrões de DNA, permitindo comparações. O método apresenta como vantagem a

possibilidade de realização em apenas um dia a partir da cultura microbiológica pura do micro-organismo (FLUIT *et al.*, 2010).

3.7. Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo teste T de Student, teste χ^2 ou teste exato de Fisher. A correlação de Spearman com o teste de Bonferroni foi utilizada na análise da associação da carga microbiana dos diferentes sítios anatômicos e o estado de colonização. A análise bivariada foi utilizada para identificar as variáveis com $P < 0,25$ para inserção destas em modelo multivariado. A análise de sobrevivência foi utilizada para estimar o tempo de redução da carga microbiana. As características associadas à colonização e/ou infecção de pacientes foram analisadas pela regressão logística. Foi considerado um nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%.

3.8 Aspectos éticos

Este estudo e o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa (COEP), tendo sido aprovado, conforme parecer CAAE – 0386.0.203.000-11 (anexo1), observando-se os preceitos da 196/96 para pesquisa em seres humanos vigentes à época.

4. RESULTADOS

Durante o monitoramento, totalizaram-se 53 pacientes colonizados. Foram obtidas 248 amostras de bactérias resistentes. Os pacientes colonizados estiveram distribuídos da seguinte forma: 30 na UTI I e 23 na UTI II. Suas características demográficas e clínicas estão apresentadas na tabela 1.

Durante o período de monitoramento a média de pacientes admitidos na UTI I foi de 350 pacientes UTI I, sendo que 35 destes (10,0%) consentiram em participar do estudo. Na UTI II foi verificada uma média de 200 admissões com obtenção de 23 aceites (11,5%) dos pacientes.

TABELA 1 - Características gerais dos pacientes colonizados e/ou infectados por bactérias resistentes (n = 53) em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

(Continua)

<i>Variável</i>	<i>Distribuição</i>
Idade (média em anos)	55,0 (18-90)
Sexo (%)	
Masculino	52,0
Feminino	48,0
Tempo de permanência em UTI (média em dias)	22,3
Tempo de permanência em enfermaria após alta da UTI (média em dias)	21,2
Tempo médio de permanência hospitalar global (média em dias)	39,0
Índice de gravidade (ASIS) – (%)	
A	0,0
B	2,0
C	81,0
D	15,0
E	2,0
Tipo de paciente (%)	
Clinico	36,0
Cirúrgico	64,0
Origem na admissão a UTI (%)	
Outro setor do hospital	64,0
Comunidade	26,0
Uso de antimicrobianos anterior à admissão em UTI (média de 3 a 7 dias)	
Cefalosporinas	8,0
Penicilinas	8,0
Aminoglicosídeos	5,0
Outros	7,0
Sem uso prévio	72,0

TABELA 1 - Características dos pacientes colonizados e/ou infectados por bactérias resistentes (n = 53), em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

(Conclusão)

<i>Variável</i>	<i>Distribuição</i>
Antimicrobianos em UTI (tempo médio em dias de terapia antimicrobiana)	
Carbapenêmicos	11,0
Glicopeptídeos	8,0
Cefalosporinas	5,0
Fluoroquinolonas	7,0
Feridas (%)	
Úlcera por pressão	30,0
Ferida operatória	56,0
Dispositivos invasivos (% de pacientes em uso)	
Sonda nasal	58,0
Ventilação mecânica	57,0
Cateter venoso central	57,0
Drenos torácicos	35,0
Sonda vesical de demora	64,0
Diagnósticos (%)	
Sistema circulatório	27,0
Doenças neoplásicas	20,0
Doenças relacionadas ao fígado	7,0
Doenças infecciosas e parasitárias	7,0
Doenças do intestino e peritônio	6,0
Doenças do esôfago, estômago e duodeno	6,0
Causas externas	6,0
Doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas	4,0
Infecções respiratórias agudas	4,0
Relacionadas a veias e vasos linfáticos	4,0
Doenças respiratórias crônicas/Insuficiência renal/Sistema nervoso	2,0
Sangue, órgãos hematopoiéticos e transtornos imunitários	2,0
Outras	5,0

No conjunto de pacientes avaliados, predominou o sexo masculino. Em relação ao índice de gravidade à admissão foi mais frequente a categoria C (fisiologicamente estáveis requerendo cuidado de enfermagem intensivo e monitorização). Mais da metade dos pacientes admitidos em UTI veio de outro setor do hospital. Entre os pacientes avaliados, 72,0% não tiveram uso prévio de antimicrobianos no setor hospitalar anterior à transferência para a UTI. Quanto à presença de feridas, foram predominantes as operatórias, devido à maior frequência de pacientes cirúrgicos.

Em relação aos dispositivos invasivos, verificou-se o uso de mais de um tipo por paciente após a admissão em UTI. Similarmente, constatou-se o uso de mais de uma classe de antimicrobianos em UTI na terapia empírica ou no tratamento de infecções que não estiveram relacionadas aos micro-organismos em estudo, com perfil de sensibilidade aos antimicrobianos (*Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativos, *Escherichia coli*, entre outros), sendo o uso destes antimicrobianos anterior à identificação de infecções por *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes ao imipenem, *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC e VRE. O consumo de antimicrobianos foi estimado pela média das doses de antimicrobianos administrados (gráfico 1).

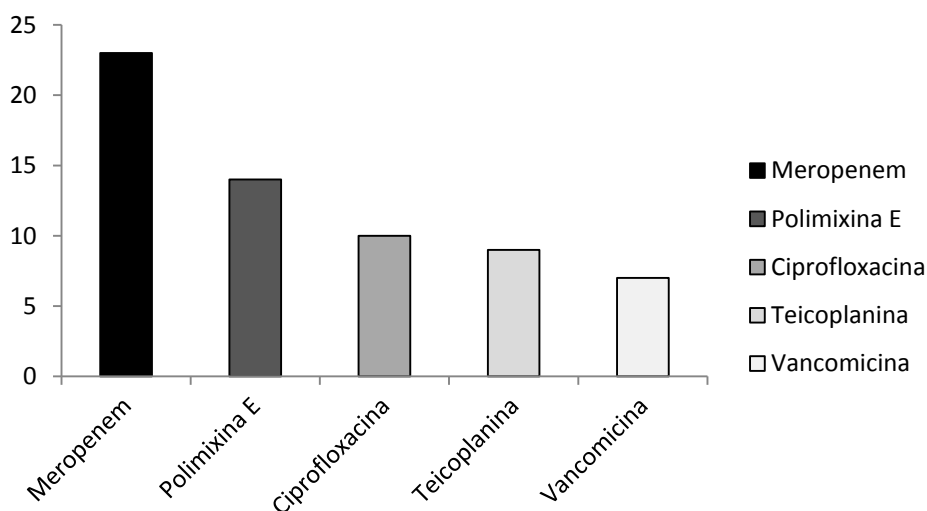


GRÁFICO 1 – Distribuição do uso antimicrobianos em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

O tempo médio de utilização desse conjunto de antimicrobianos no tratamento de pacientes com infecções foi de oito dias. Após a admissão desses pacientes em UTI, o tempo médio de início da terapia antimicrobiana foi de 10 dias.

4.1 Distribuição dos casos de colonização e variação da carga microbiana por espécie bacteriana

Em 74,0% (39/53) dos pacientes verificou-se colonização por mais de uma espécie bacteriana de relevância epidemiológica simultaneamente. Nestes casos, foram registradas as seguintes características: a) apresentação de mais de uma bactéria Gram-negativa em sítios anatômicos = 24 casos; b) colonização por Gram-negativo e VRE = 11 casos; c) presença de VRE e ORSA = 2 casos; e d) colonização por bactéria Gram-negativa e ORSA = 2 casos.

A colonização por apenas uma espécie bacteriana observou-se em 26,0% (14/53) dos pacientes, sendo Gram-negativo (9/14) e VRE (5/14), durante o seguimento. Devido à predominância de colonização por mais de uma espécie, para maior visibilidade do quantitativo de pacientes colonizados por espécie bacteriana, o percentual de colonização foi apresentado considerando o total de pacientes colonizados por micro-organismo específico em relação ao número de pacientes em seguimento, não sendo incluído concomitantemente o percentual de outros micro-organismos.

No conjunto de pacientes avaliados, 51,0% (27/53) apresentaram colonização por *Acinetobacter baumannii* e 32,0% (17/53) por *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes aos carbapenêmicos; 38,0% (20/53) estiveram colonizados por *Klebsiella pneumoniae* ESBL; 5,6% (3/53) por KPC; 43,0% (23/53) por VRE e apenas 7,5% (4/53) apresentaram ORSA. No período de julho a agosto de 2012, foi registrado surto por VRE na UTI I, de acordo com os resultados de vigilância epidemiológica de rotina no setor.

Acinetobacter baumannii resistentes aos carbapenêmicos foi a bactéria mais frequente em colonização de pacientes na UTI I, enquanto na UTI II predominou a *Klebsiella pneumoniae* ESBL.

A média da carga microbiana referente a *Acinetobacter baumannii* em sítios anatômicos dos pacientes no decorrer da monitorização apresentou a seguinte oscilação: 1º dia, 6,9; 15º dia, 5,0; 30º dia, 1;0 e 45º dia= 0 UFC/ml em log 10 (gráfico 2), com importante declínio, apesar de não terem sido verificadas intervenções que pudessem influenciar a redução da carga microbiana. O tempo médio de redução da carga microbiana até a ausência desse micro-organismo em meio de cultivo foi de 27 dias. Neste, estudo durante o tempo de monitorização dos pacientes em UTI e enfermaria.

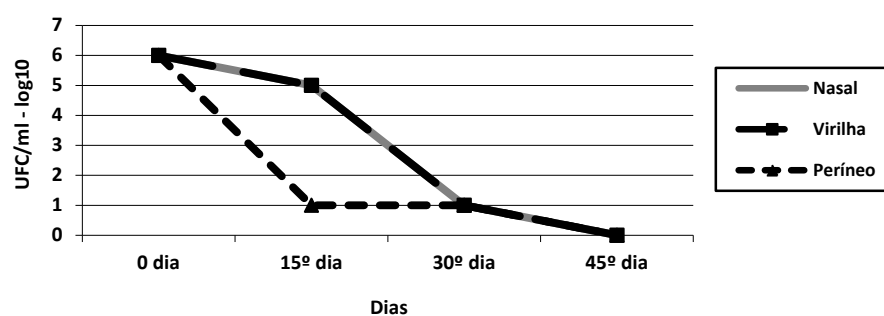


GRÁFICO 2 - Variação da carga microbiana para *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

A oscilação da carga microbiana relativa a *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos foi similar para a mucosa nasal e virilha. A mucosa nasal foi o principal sítio de colonização por *Acinetobacter baumannii* (correlação de Spearman – ρ : 0,7; $p=0,001$) e a virilha constituiu o segundo sítio para identificação dessa espécie (ρ : 0,6; $p=0,001$).

Na colonização por *Klebsiella pneumoniae* ESBL e/ou resistentes aos carbapenêmicos, a média da carga microbiana em sítios anatômicos dos pacientes durante o monitoramento em UTI e enfermaria apresentou a seguinte variação: 1º dia, 6,0; 15º dia, 5,3; 30º dia, 2,3 e 45º dia, 0 UFC/ml. O tempo médio de redução da carga microbiana até a ausência desse micro-organismo em meio de cultivo foi de 27 dias. (gráfico 3).

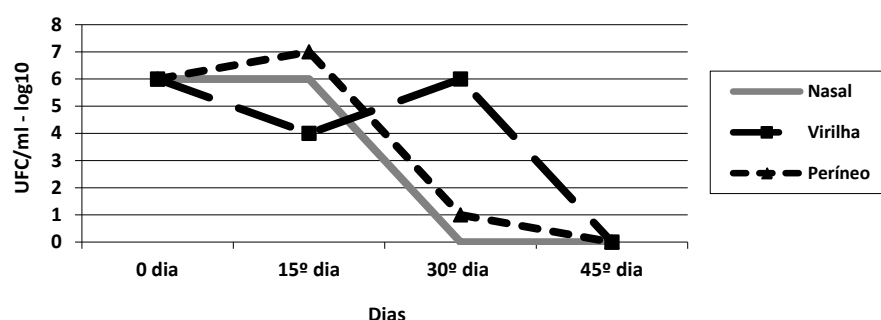


GRÁFICO 3 - Variação da carga microbiana para *Klebsiella pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos e/ou ESBL em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

A virilha foi o principal sítio de colonização por *Klebsiella pneumoniae* ESBL/KPC (ρ : 0,7; $p=0,0001$). O declínio da carga microbiana em menor intervalo de tempo foi observado em mucosa nasal e perineo.

O uso de polimixina E em tratamento de infecções foi relevante na redução da carga microbiana de *Klebsiella pneumoniae* ESBL (ρ -0,5; $p = 0,0008$) na colonização de sítios anatômicos.

Para VRE, a média da carga microbiana durante o seguimento na UTI e na enfermaria apresentou a seguinte oscilação: 1º dia, 6,3; 15º dia, 5,0; 30º dia, 5,3 e 45º dia, 0 UFC/ml (gráfico 4). O períneo foi o principal sítio de colonização por VRE (ρ : 0,6; $p = 0,001$). Para VRE o tempo médio de redução da carga microbiana até a ausência desse micro-organismo em meio de cultivo foi de 29 dias.

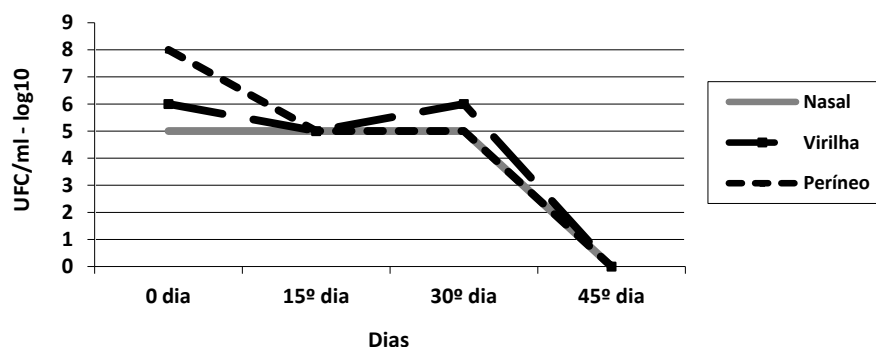


GRÁFICO 4 - Variação da carga microbiana para *Enterococcus faecalis* em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

No caso de *Pseudomonas aeruginosa*, a média da carga microbiana, de acordo com os sítios anatômicos, apresentou as seguintes oscilações em quatro momentos distintos e consecutivos: 1º dia, 6,0; 15º dia, 4,5; 30º dia, 3,5 e 45º dia, 0 UFC/ml (gráfico 5). No períneo, foi pouco identificada a presença de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos. A ausência do micro-organismo em meio de cultivo foi verificada com um tempo médio de 36 dias.

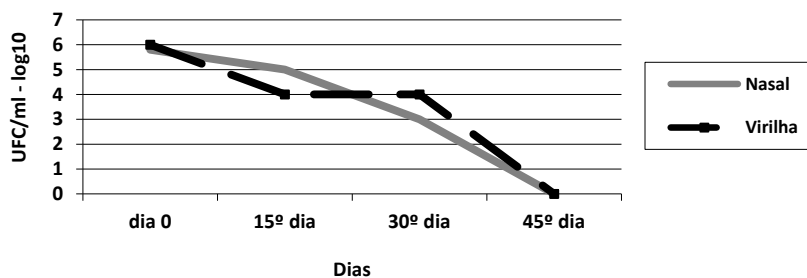


GRÁFICO 5 - Variação da carga microbiana para *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Os principais sítios de colonização por *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos foram: mucosa nasal (ρ : 0,8; $p = 0,001$) e virilha (ρ : 0,7; $p = 0,001$). O menor percentual de colonização de 7,0% (4/53) foi registrado para ORSA.

O uso de polimixina E em tratamento de infecções foi importante na redução da carga microbiana relacionada à *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos ($\rho = -0,5$; $p = 0,0001$) em colonização de sítios anatômicos.

Para ORSA, foi registrada a seguinte oscilação na média da carga microbiana nos sítios anatômicos: 1º dia, 6,0; 15º dia, 3,8; 30º dia, 2,5 e 45º dia, 0 UFC/ml (gráfico 6). A mucosa nasal foi o principal sitio para detecção de ORSA ($\rho:0.60$; $p = 0,001$). Para ORSA a ausência do micro-organismo em meio de cultivo foi verificada com um tempo médio de 41 dias.

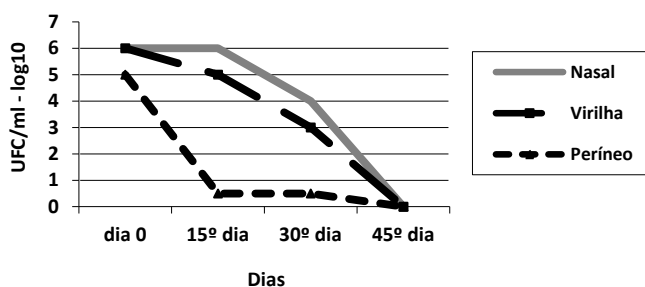


GRÁFICO 6 - Variação da carga microbiana para *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina em sítios anatômicos de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Foi obtido um total de 248 amostras relacionadas a espécies bacterianas resistentes aos antimicrobianos em sítios anatômicos dos pacientes que apresentaram colonização (quadro 5).

QUADRO 5 - Distribuição das amostras (n = 248) de relevância epidemiológica por sítio anatômico de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Sítios anatômicos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	VRE	ORSA	Total
	n	n	n	n	n	n
Nasal	15	17	13	17	7	99
Virilha	12	14	20	25	5	94
Períneo	7	8	8	17	3	55
Total	34	39	41	59	15	248

Das 248 amostras obtidas, verificaram-se maiores percentuais em mucosa nasal e virilha. Bactérias resistentes com o mesmo fenótipo foram encontrados em mucosa nasal e virilha em 20,0% (51/248) dos casos simultaneamente e, em 10,0% (25/248) das amostras uma mesma espécie foi identificada concomitantemente em mucosa nasal, virilha e períneo dos pacientes colonizados.

4.2 Caracterização fenotípica e genotípica das espécies bacterianas de relevância epidemiológica associadas à colonização dos pacientes

Entre os micro-organismos Gram-negativos, foram obtidas 114 amostras, das quais 80 estiveram relacionadas à *Klebsiella pneumoniae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração e/ou carbapenêmicos (n = 41) e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos (n = 39). Dentre essas amostras avaliadas, verificou-se a hidrólise do imipenem pelo NP *test* para cinco isolados de *Klebsiella pneumoniae* e seis isolados de *Acinetobacter baumannii* (quadro 6).

QUADRO 6 - Hidrólise do imipenem por *Klebsiella pneumoniae* (n = 5) e *Acinetobacter baumannii* (n = 6) presentes em colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Amostra	Resultado
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - Kp4; Kp7; Kp19	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - Kp30;37	+ (fraco)
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab2; Ab25; Ab36	+
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab38;39;40	+



No caso de amostras com perfil de resistência intermediário ao imipenem, foi registrada a expressão fenotípica de carbapenemases por meio do NP teste que permite verificar se houve hidrólise do imipenem por ação dessa enzima e o MIC para Ertapenem, Imipenem e Meropenem foi obtido por meio do Etest (quadro 7).

QUADRO 7 - Concentração Inibitória Mínima de Ertapenem, Imipenem e Meropenem (Etest) para amostras de *Klebsiella pneumoniae* identificadas em colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Amostra	Ertapenem	Imipenem	Meropenem
Kp 30	4,0	0,25	1,0
Kp 37	>32,0	1,0	3,0
1 cKp30 – EcorI	0,016	0,25	0,023

Após a amplificação do DNA por PCR das amostras que apresentaram hidrólise do imipenem, constatou-se a presença de genes de resistência como KPC para três isolados de *Klebsiella pneumoniae*, que, após sequenciamento, foram identificadas como:

- Carbapenemase de classe A - KPC-2 [*Klebsiella pneumoniae*] – Identificação da sequência no gen bank: gb|ACO82075.1|;
- Beta-lactamase KPC-2, parcial [*Klebsiella pneumoniae*] – Identificação da sequência no gen bank: gb|AFN82205.1| e,
- Carbapenemase de classe A - KPC-2 [*Klebsiella pneumoniae*] – Identificação da sequência no gen bank: gb|ACO82075.1|

Para outras duas amostras de *Klebsiella pneumoniae*, constatou-se positividade para os genes OXA I, CTXM, SHV e TEM (quadro 8). Após clonagem e sequenciamento dos respectivos clones, obtiveram-se as seguintes identificações para genes de resistência:

- Beta-lactamase SHV, parcial [*Klebsiella pneumoniae*],
- Transposase [*Klebsiella pneumoniae*] – Identificação da sequência no *gen bank*: ref|YP_003517522.1| e,
- Beta-lactamase SHV-11, parcial [*Klebsiella pneumoniae*] – Identificação da sequência no *gen bank*: [gb|AFN82066.1|](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclref/gb|AFN82066.1|).

Por meio da clonagem houve maior expressão dos genes de resistência presentes nas amostras, sendo possível sua identificação após sequenciamento.

QUADRO 8 - Expressão de genes de resistência aos antimicrobianos por *Klebsiella pneumoniae* (n=5) associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Amostra	Oxa1	Oxa 9	CTXM	SHV	TEM
Kp30	+	-	+	+	+
KP 37	-	-	-	+	+
cKp30 (1) - <i>E. coli</i> Top 10, EcorI PBKCMV	-	-	-	-	+
4cTcKp37 – Hind III	-	-	-	-	+

Entre as amostras de *Acinetobacter baumannii*, verificou-se positividade para a presença dos genes de resistência OXA 23 e OXA 143, que são Oxacilinas de classe D, com atividade de hidrólise dos carbapenêmicos (quadro 9).

QUADRO 9 - Expressão de genes de resistência aos antimicrobianos por *Acinetobacter baumannii* (n=6) associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Amostra	Oxa 23	OXA 143
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab2	+	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab25	-	+
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab36	+	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab38	+	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab39	+	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> - Ab40	+	-



Após sequenciamento, a amostra de *Acinetobacter baumannii* – Ab 25 foi identificada como OXA-253, uma variação de Beta-lactamase OXA-143 [*Acinetobacter baumannii*], conforme descrito por Girlich *et al.*, (2014).

Para as amostras obtidas em casos de colonização durante monitoramento, foram constatados distintos padrões por comparação de similaridade por meio do sistema semiautomatizado da técnica de rep-PCR (Diversilab) entre isolados de *Klebsiella pneumoniae* (figura 2) e *Acinetobacter baumannii*.

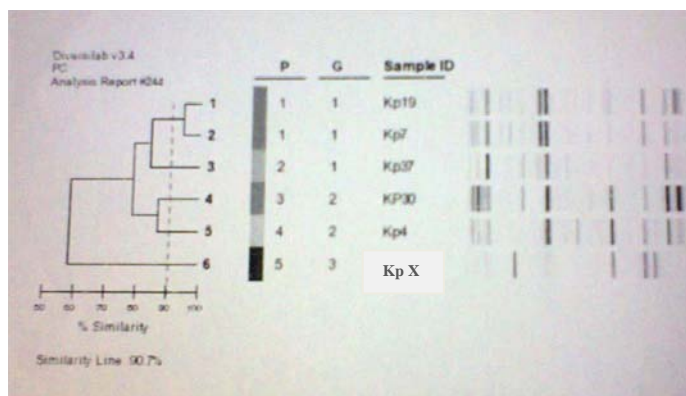


FIGURA 2 - Similaridade entre amostras de *Klebsiella pneumoniae* associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva - Belo Horizonte, 2014

Na comparação de similaridade entre as amostras de *Klebsiella pneumoniae*, verificaram-se três distintos padrões. A transmissão cruzada foi verificada na UTI II, sendo apurado um percentual de similaridade acima de 90,0% entre as amostras Kp7 e Kp19, originadas da colonização de dois distintos pacientes nessa UTI. Outra importante similaridade acima de 80,0% foi observada entre as amostras Kp4, originada da colonização de um paciente na UTI II, e Kp30, da colonização de outra paciente na UTI I, sugerindo disseminação de padrões similares entre as duas UTI. Os dois genótipos foram identificados nas duas UTIs no mês de agosto de 2012.

Para *Acinetobacter baumannii* os padrões identificados para apresentaram um perfil de similaridade de 95,0% (figura 3).

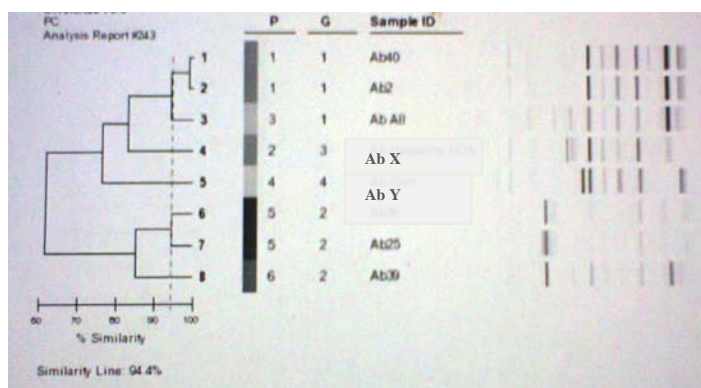


FIGURA 3 - Similaridade entre amostras de *Acinetobacter baumannii* associadas à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva - Belo Horizonte, 2014

As cepas de *Acinetobacter baumannii* foram originadas de casos de colonização em diferentes pacientes e ocasiões na UTI II durante o seguimento, sugerindo disseminação de padrões similares entre os pacientes da UTI II.

4.3 Distribuição dos casos de infecção por bactérias resistentes

Entre os 53 pacientes avaliados, 73,0% (39/53) evoluíram para infecções durante a permanência hospitalar. No entanto, apenas 49,0 % (26/53) destes pacientes estiveram previamente colonizados por bactérias resistentes de fenótipo similar e 24,0% (13/53) apresentaram infecções sem a identificação de colonização prévia por MR.

Nas infecções por bactérias resistentes de fenótipo similar àqueles presentes em colonização prévia, foram identificados *Acinetobacter baumannii* 34,6% (9/26) e *Pseudomonas aeruginosa* 11,5% (3/26), *Klebsiella pneumoniae* ESBL 27,0% (7/26) ou KPC 7,7% (2/26) e VRE 19,0% (5/26). Nesses casos, verificou-se o desfecho de infecção por micro-organismo similar fenotipicamente àquele detectado em colonização de sítios anatômicos durante o monitoramento. Para ORSA, não foram registradas infecções.

A distribuição dos casos de infecção a partir de uma mesma espécie bacteriana e perfil de resistência semelhante àqueles presentes em colonização dos pacientes monitorados na UTI I está apresentada na tabela 2.

TABELA 2 - Distribuições das espécies bacterianas resistentes (n=13) de acordo com os sítios de infecção na Unidade de Terapia Intensiva I – Belo Horizonte – 2014

Espécie bacteriana	Infecção Trato respiratório N	Infecção Corrente sanguínea N	Infecção Trato urinário N
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4,0	1,0	0,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
ESBL	1,0	1,0	1,0
KPC	1,0	0,0	0,0
VRE	2,0	0,0	0,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,0	0,0	0,0
ORSA	0,0	0,0	0,0

Acinetobacter baumannii resistentes aos carbapenêmicos e *Klebsiella pneumoniae* ESBL foram os principais micro-organismos identificados em infecções na UTI I. De modo similar, na UTI II os micro-organismos mais frequentes em infecções foram *Klebsiella pneumoniae* ESBL e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos (tabela 3).

TABELA 3 - Distribuições das espécies bacterianas resistentes (n=13) de acordo com os sítios de infecção na Unidade de Terapia Intensiva II – Belo Horizonte – 2014

Espécie bacteriana	Infecção	Infecção	Infecção
	Trato respiratório	Corrente sanguínea	Trato urinário
	N	N	N
<i>Acinetobacter baumannii</i> resistentes aos carbapenêmicos	3,0	1,0	0,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	2,0	0,0	2,0
KPC	1,0	0,0	0,0
VRE	0,0	3,0	0,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes aos carbapenêmicos	1,0	0,0	0,0
ORSA	0,0	0,0	0,0

O período compreendido entre a colonização e a ocorrência de infecções por bactérias resistentes semelhantes fenotipicamente àqueles presentes em sítios anatômicos de pacientes previamente colonizados variou de acordo com a espécie bacteriana. Entretanto, em todos os casos observados a ocorrência de infecção foi concomitante à apresentação de cargas microbianas mais elevadas (5,0 a 6,3 UFC/ml – log₁₀) em sítios anatômicos dos pacientes previamente colonizados (gráfico 7).

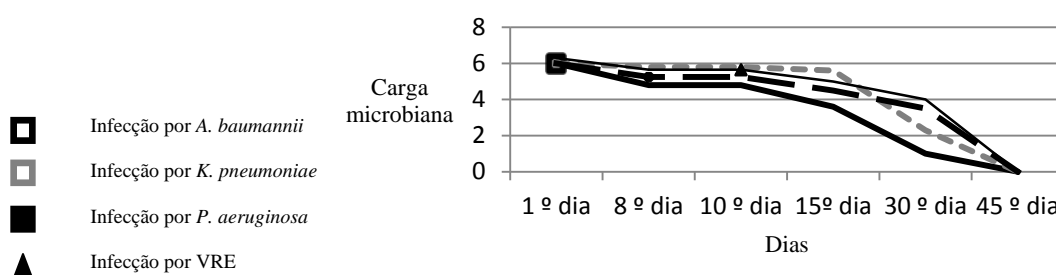


GRÁFICO 7 – Variação da carga microbiana em colonização prévia e ocorrência de infecções por bactérias resistentes - Belo Horizonte – 2014

A ocorrência de infecção por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos e *Klebsiella pneumoniae* ESBL/KPC foi verificada quando os pacientes apresentaram as maiores médias de carga microbiana em sítios anatômicos (6,0 UFC/ml – log₁₀).

As infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos foram registradas em um tempo médio de oito dias após a identificação do estado colonização por este micro-organismo. No caso de VRE, foram verificadas infecções após um tempo médio de

dez dias da identificação do estado de colonização pelo micro-organismo nos sítios anatômicos dos pacientes. As características associadas às infecções por micro-organismos multirresistentes foram analisadas por meio da regressão logística. Nas infecções por *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos, o uso prévio deste antibiótico, durante a permanência em UTI foi importante na ocorrência de infecção por este micro-organismo, conforme os resultados da análise bivariada (tabela 4).

TABELA 4 - Distribuição das variáveis em relação à ocorrência de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Infecções por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes aos carbapenêmicos		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	54,0	55,0	0,40
Sexo			
Masculino	2,0	28,0	0,40
Feminino	1,0	22,0	
Permanência em UTI (média dias)	45,0	22,3	0,90
Presença de úlcera por pressão	3,0	30,0	0,06
Dispositivos invasivos (% de uso)			
Cateter Venoso Central	3,0	26,0	0,06
Sonda nasal	3,0	28,0	0,40
Sonda vesical de demora	3,0	30,0	0,10
Ventilação Mecânica	3,0	27,0	0,40
Drenos	2,0	17,0	0,20
Tempo de uso dos antimicrobianos (tempo médio - dias)	13,0	3,0-7,0	0,29
Classes de antimicrobianos (% de uso)			
Penicilinas	1,0	22,0	0,40
Glicopeptídeos	-	-	-
Fluoroquinolonas	2,0	14,0	0,30
Carbapenêmicos	3,0	21,0	0,02
Índice de gravidade			
C	3,0	39,0	0,80
D	0,0	8,0	
Colonização por <i>P. aeruginosa</i>	3,0	14,0	0,09

De modo semelhante, o uso de antimicrobianos (fluoroquinolonas e penicilinas) durante a permanência em UTI foi importante na ocorrência de infecções por VRE na análise bivariada. A distribuição das variáveis em relação à ocorrência de infecções por VRE está apresentada na tabela 5.

TABELA 5 - Distribuição das variáveis de acordo com a ocorrência de infecções por *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Infecções por VRE		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	33,0	55,0	0,20
Sexo			
Masculino	3,0	27,0	0,20
Feminino	2,0	21,0	
Permanência em UTI (média dias)	42,0	22,3	0,10
Presença de úlcera por pressão	2,0	15,0	0,20
Dispositivos invasivos (% uso)			
Cateter Venoso Central	4,0	26,0	0,70
Sonda nasal	5,0	26,0	0,20
Sonda vesical de demora	5,0	29,0	0,60
Ventilação Mecânica	5,0	25,0	0,20
Drenos	5,0	14,0	0,09
Tempo de uso dos antimicrobianos (média dias)	8,0	3,0-7,0	0,40
Classes de antimicrobianos (% de uso)			
Penicilinas	5,0	18,0	0,05
Glicopeptídeos	5,0	19,0	0,06
Fluoroquinolonas	5,0	11,0	<0,01
Carbapenêmicos	-	-	-
Índice de gravidade			
C	3,0	38,0	0,07
D	2,0	6,0	
Colonização prévia por VRE	2,0	21,0	0,20

Na infecção por VRE, destacaram-se as variáveis tempo de permanência em UTI e o uso de fluoroquinolonas. Elas explicaram um percentual de 32,0% da ocorrência dessas infecções em modelo final de regressão logística (tabela 6).

TABELA 6 - Modelo final de regressão logística para as variáveis associadas à ocorrência de infecções (n = 5) por *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina, em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variáveis	Coeficiente	Valor de p	Intervalo de Confiança 95,0%	
			Mínimo	Máximo
Constante	-5,2	0,000	- 8,1	-2,3
Uso de penicilina	2,3	0,033	0,2	4,6
Tempo de permanência em UTI	0,07	0,007	0,01	0,12

LR $\chi^2 = 14,4$ Prob > $\chi^2 = 0,0007$ pseudo R² = 0,32

Nas infecções por *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC, destacou-se a colonização prévia por este micro-organismo como importante variável para a ocorrência de infecção na análise bivariada. A distribuição das variáveis avaliadas nas infecções por *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC está apresentada na tabela 7.

TABELA 7 - Distribuição das variáveis em relação à ocorrência de infecções por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado e/ou resistentes aos carbapenêmicos em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Infecções por <i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL/KPC		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	46,0	55,0	0,10
Sexo			
Masculino	5,0	25,0	0,90
Feminino	4,0	19,0	
Permanência em UTI (média dias)	26,0	22,3	0,10
Presença de úlcera por pressão	4,0	13,0	0,30
Dispositivos invasivos (% uso)			
Cateter Venoso Central	6,0	24,0	0,30
Sonda nasal	7,0	24,0	0,10
Sonda vesical de demora	6,0	28,0	0,50
Ventilação Mecânica	6,0	24,0	0,40
Drenos	2,0	17,0	0,20
Tempo de uso dos antimicrobianos (tempo médio - dias)	10,0	3,0-7,0	0,04
Classes de antimicrobianos (% uso)			
Penicilinas	3,0	20,0	0,30
Glicopeptídeos	-	-	-
Fluoroquinolonas	6,0	10,0	0,01
Carbapenêmicos	8,0	17,0	<0,01
Índice de gravidade			
C	6,0	37,0	0,30
D	3,0	5,0	
E	0,0	1,0	
Colonização prévia por <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,0	16,0	0,02

A análise bivariada das variáveis associadas às infecções por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos está apresentada na tabela 8.

TABELA 8 - Distribuição das variáveis de acordo com a ocorrência de infecções por *Acinetobacter baumannii* em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Infecções por <i>Acinetobacter baumannii</i> resistentes aos carbapenêmicos		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	54,0	55,0	0,50
Sexo			
Masculino	6,0	24,0	0,50
Feminino	3,0	20,0	
Permanência em UTI (média dias)	32,0*	22,3	0,03
Presença de úlcera por pressão	7,0	10,0	0,20
Dispositivos invasivos (% de uso)			
Cateter Venoso Central	6,0	24,0	0,07
Sonda nasogastrica	7,0*	24,0	0,03
Sonda vesical de demora	5,0	29,0	0,60
Ventilação Mecânica	7,0*	23,0	0,02
Drenos	5,0	14,0	0,90
Tempo de uso dos antimicrobianos (tempo médio - dias)	11,0	3,0-7,0	0,30
Classes de antimicrobianos (% uso)			
Penicilinas	4,0	19,0	0,07
Glicopeptídeos	-	-	-
Fluoroquinolonas	4,0	12,0	0,10
Carbapenêmicos	7,0*	18,0	< 0,01
Índice de gravidade			
C	7,0	36,0	0,8
D	2,0	6,0	
E	0,0	1,0	
Colonização prévia por <i>A. baumannii</i>	9,0	18,0	0,6

Nas infecções por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, destacaram-se as variáveis: tempo de permanência em UTI, uso de ventilação mecânica e sonda nasogastrica e uso de carbapenêmicos durante a permanência em UTI. Entretanto, não permaneceram em modelo final de regressão logística.

4.4 Características relacionadas à colonização por bactérias resistentes em Unidade de Terapia Intensiva

Na colonização por *Pseudomonas aeruginosa*, destacaram-se a presença de úlcera por pressão e o índice de gravidade (C = fisiologicamente estáveis, requerendo cuidado de enfermagem intensivo e monitorização e D = instáveis fisiologicamente, requerendo cuidados

médicos e de enfermagem intensivos com a necessidade frequente de reavaliação e ajuste de terapia). A distribuição das variáveis em relação à colonização por *Pseudomonas aeruginosa*, conforme o resultado da análise bivariada está apresentada na tabela 9.

TABELA 9 - Distribuição das variáveis segundo a colonização (n = 17) por *Pseudomonas aeruginosa* em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Colonização por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	51,0	55,0	0,20
Sexo			
Masculino	13,0	17,0	0,04
Feminino	4,0	19,0	
Permanência em UTI (média dias)	33,0	22,3	0,10
Presença de úlcera por pressão	10,0	7,0	<0,01
Dispositivos invasivos (% de uso)			
Cateter Venoso Central	13,0	17,0	0,04
Sonda nasogastrica	14,0	17,0	0,01
Sonda vesical de demora	14,0	20,0	0,05
Ventilação Mecânica	14,0	16,0	0,01
Drenos	7,0	12,0	0,40
Tempo de uso dos antimicrobianos (tempo médio - dias)	9,0	3,0-7,0	0,07
Classes de antimicrobianos (% de uso)			
Penicilinas	9,0	14,0	0,30
Glicopeptídeos	-	-	-
Fluoroquinolonas	11,0	5,0	<0,00
Carbapenêmicos	12,0	13,0	0,01
Índice de gravidade			
C	11,0	32,0	0,05
D	5,0	3,0	
E	1,0	0,0	

Na **colonização** por *Pseudomonas aeruginosa*, destacou-se, ainda, que o uso de ventilação mecânica e de fluoroquinolonas durante o tempo de permanência em UTI foi relevante em modelo final de regressão logística explicando 32,0% da ocorrência de colonizações por esse micro-organismo (tabela 10).

TABELA 10 - Modelo final de regressão logística para as variáveis associadas à colonização (n = 17) por *Pseudomonas aeruginosa* em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Coeficiente	Valor de p	Intervalo de Confiança 95,0%	
			Mínimo	Máximo
Constante	-3,2	0,001	- 5,0	-1,3
Ventilação mecânica	2,2	0,016	0,4	4,0
Uso de fluoroquinolonas	2,8	0,001	1,1	4,5

LR $\chi^2 = 21,10$ Prob > $\chi^2 = 0,0000$ Pseudo R2 = 0,32

Na colonização por VRE, destacou-se o uso de drenos e de glicopeptídeos durante o tempo de permanência em UTI. A distribuição das variáveis segundo a colonização por VRE está apresentada na tabela 11.

TABELA 11 - Distribuição das variáveis segundo a colonização (n = 23) por *Enterococcus faecalis* resistentes à vancomicina em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variáveis	Colonização por VRE		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	50,0	55,0	0,30
Sexo			
Masculino	12,0	18,0	0,50
Feminino	11,0	12,0	
Permanência em UTI (média dias)	25,0	22,3	0,20
Presença de úlcera por pressão	9,0	8,0	0,30
Dispositivos invasivos (% de uso)			
Cateter Venoso Central	14,0	16,0	0,50
Sonda nasal	13,0	18,0	0,70
Sonda vesical de demora	18,0	16,0	0,06
Ventilação Mecânica	13,0	17,0	0,80
Drenos	13,0	6,0	<0,01
Tempo de uso dos antimicrobianos (tempo médio - dias)	10,0	3,0-7,0	0,20
Classes de antimicrobianos (% de uso)			
Penicilinas	11,0	12,0	0,50
Glicopeptídeos	14,0*	9,0	0,04
Fluoroquinolonas	10,0	6,0	0,06
Carbapenêmicos	-	-	-
Índice de gravidade			
C	21,0	22,0	0,09
D	1,0	7,0	
E	1,0	0,0	

Na colonização de paciente por *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC, a característica mais relevante foi o uso de fluoroquinolonas durante o tempo de permanência em UTI.

As variáveis distribuídas de acordo com a colonização por esse micro-organismo estão apresentadas na tabela 12.

TABELA 12 - Variáveis relacionadas à colonização por *Klebsiella pneumoniae* produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado e/ou resistentes aos carbapenêmicos (n = 23) – em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variável	Colonização por <i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL/KPC		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	48,0	55,0	0,50
Sexo			
Masculino	13,0	17,0	0,90
Feminino	10,0	13,0	
Permanência em UTI (média dias)	23,0	22,3	0,40
Presença de úlcera por pressão	9,0	8,0	0,30
Uso de dispositivos (% de uso)			
Cateter venoso central	15,0	15,0	0,20
Sonda nasal	15,0	16,0	0,30
Sonda vesical de demora	12,0	22,0	0,10
Ventilação mecânica	13,0	17,0	0,80
Drenos	6,0	13,0	1,00
Tempo de uso dos antimicrobianos (tempo médio - dias)	9,0	3,0-7,0	0,40
Classes de antimicrobianos (% de uso)			
Penicilinas	12,0	11,0	0,20
Glicopeptídeos	-	-	-
Fluoroquinolonas	11,0	5,0	0,01
Carbapenêmicos	14,0	11,0	0,08
Índice de gravidade			
C	19,0	24,0	0,50
D	3,0	5,0	
E	1,0	0	

Na análise univariada, foram significantes na colonização por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos a presença de úlcera por pressão (n = 12) e o uso de carbapenêmicos durante o tempo de permanência em UTI.

Na tabela 13, as variáveis foram distribuídas de acordo com a colonização por *Acinetobacter baumannii*.

TABELA 13 - Variáveis relacionadas à colonização de pacientes por *Acinetobacter baumannii* (n = 27) em Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte – 2014

Variáveis	Colonização por <i>Acinetobacter baumannii</i>		Valor de p
	Sim (n)	Não (n)	
Idade (média anos)	61,0	55,0	0,30
Sexo			
Masculino	16,0	14,0	0,60
Feminino	11,0	12,0	
Permanência em UTI (média dias)	24,0	22,3	0,40
Presença de úlcera por pressão	12,0	5,0	0,04
Dispositivos invasivos (% de uso)			
Cateter venoso central	17,0	13,0	0,30
Sonda nasal	18,0	13,0	0,20
Sonda vesical de demora	18,0	16,0	0,60
Ventilação mecânica	18,0	12,0	0,09
Drenos	11,0	8,0	0,30
Tempo de uso dos antimicrobianos (média dias)	10,0	3,0-7,0	0,20
Antimicrobianos (% de uso)			
Penicilinas	17,0	13,0	0,30
Glicopeptídeos	-	-	-
Fluoroquinolonas	18,0	7,0	0,60
Carbapenêmicos	19,0	6,0	<0,01
Índice de gravidade			
C	24,0	19,0	0,30
D	3,0	5,0	
E	0,0	1,0	

Na colonização pelo conjunto de bactérias resistentes avaliadas, apenas para *Pseudomonas aeruginosa* foi verificado a permanência em modelo final de regressão logística de variáveis que apresentaram significância na análise bivariada.

No caso de ORSA, apenas quatro pacientes estiveram colonizados no total de casos monitorados. Na análise bivariada, não foi verificada significância das variáveis avaliadas em relação à colonização por esse micro-organismo.

4.5 Seguimento na comunidade após a alta hospitalar

Do total de pacientes monitorados, 45,0% (24/53) apresentaram ausência dos micro-organismos que carregavam até a alta hospitalar; 15,0% (8/53) evoluíram para óbito durante a permanência hospitalar; e 40,0% (21/53) permaneceram colonizados até a alta

hospitalar. Entre os pacientes que receberam alta hospitalar ainda em estado de colonização, 38,0 % (8/21) consentiram no seguimento na comunidade. Em relação aos contatos familiares dos pacientes monitorados na comunidade, 4 foram avaliados para verificação de aquisição de micro-organismos.

O monitoramento na comunidade consistiu de duas fases distintas, descritas a seguir: 1ª) Seguimento na comunidade mensalmente após a alta (maio 2012 a fevereiro de 2013) – durante esse período 8 pacientes consentiram no acompanhamento na comunidade e destes 6 apresentaram ausência de bactérias resistentes em meios de cultura microbiológica, que carregavam após 30 dias de alta hospitalar (*Pseudomonas aeruginosa* e VRE), sendo identificados apenas componentes da microbiota normal, como os *Staphylococcus* spp. coagulase negativo, entretanto com perfil de resistência à oxacilina em cavidade nasal e virilha.

A persistência de colonização por VRE foi observada em um paciente de origem da UTI I que esteve de alta hospitalar por 19 dias em outubro de 2012, mas em ocasião da readmissão, devido à cirurgia cardíaca prévia, o estado de colonização ainda foi confirmado, sendo reisolada a mesma espécie bacteriana com o mesmo perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. Após a segunda alta hospitalar, não foi consentida a continuidade de seguimento deste paciente na comunidade.

Caso semelhante foi observado em um paciente de origem na UTI II que esteve 53 dias em alta hospitalar, sendo posteriormente admitido na UTI I, devido às complicações decorrentes da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida – SIDA. Permaneceu no estado de colonização por *Klebsiella pneumoniae* resistentes aos carbapenêmicos – KPC até o desfecho de óbito durante a permanência nesta UTI.

Durante o primeiro seguimento na comunidade, 4 contatos familiares consentiram em participar do estudo. Entretanto, apenas 1 contato familiar que compartilhava o mesmo ambiente e objetos com um paciente que carregava *Staphylococcus* spp. coagulase negativo resistentes a oxacilina apresentou na cavidade nasal a mesma espécie bacteriana com o mesmo perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. No entanto, os *Staphylococcus* spp. coagulase negativos resistentes à oxacilina não estão incluídos entre o grupo de micro-organismos resistentes de relevância epidemiológica, monitorados a partir das UTI.

2ª) Seguimento na comunidade após um ano de alta hospitalar (fevereiro a março de 2014) – no período após um ano de alta hospitalar, 20 (37,7 %) pacientes consentiram o monitoramento na comunidade. Entre os pacientes avaliados, verificou-se ausência de feridas. Um paciente esteve em uso de antimicrobiano (Azitromicina). Somente 2 pacientes tiveram

reinternação no período de um ano após alta hospitalar. Entre os pacientes monitorados, verificou-se que o contato com estabelecimentos de saúde após um ano de alta hospitalar restringia-se ao acompanhamento ambulatorial para quimioterapia ou hemodiálise.

No segundo seguimento não foram identificados em meio de cultivo bactérias resistentes. Os micro-organismos mais frequentes em colonização nesse período (90,0 %) foram os *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (em amostras de mucosa nasal e virilha) e *Enterococcus* spp. sensíveis à ampicilina e vancomicina recuperados de amostras fecais. Outros micro-organismos não relacionados aos objetivos do estudo identificados em colonização de sítios anatômicos durante o seguimento na comunidade foram os *Streptococcus* spp.

Verificou-se a presença de *Enterococcus* spp. sensíveis a ampicilina e vancomicina em amostras fecais de 3 pacientes (15,0%). Cabe destacar que para um desses verificou-se a colonização por VRE em virilha e períneo anteriormente durante seu tempo de permanência hospitalar, que totalizou 95 dias (73 dias em UTI e 22 dias na enfermaria). A admissão hospitalar deste paciente foi devida às complicações de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) exarcebada em estágio IV. A ausência de VRE nos sítios anatômicos foi constatada após 30 dias de alta hospitalar, em amostras coletadas na primeira visita a este paciente na comunidade. Após 12 meses de alta hospitalar, não foi detectado VRE em sítios anatômicos e em fezes.

5. DISCUSSÃO

Em relação ao número de pacientes colonizados e/ou infectados ($n = 53$) durante o seguimento deste estudo, verifica-se similaridade com outros estudos que se propuseram a monitorar o tempo de descolonização, com ou sem protocolo de descolonização, em períodos que variaram de três meses a um ano, cujo total de pacientes avaliados variou de 26 a 191 (STONE *et al.*, 2008; LONGTIN *et al.*, 2009; LUCET *et al.*, 2009; ALEXANDER *et al.*, 2011; MERMEL *et al.*, 2011).

Os micro-organismos de relevância epidemiológica identificados na colonização de pacientes nas Unidades de Terapia Intensiva avaliadas foram os bastonetes Gram-negativos (*Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*) resistentes aos carbapenêmicos e *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC. Dentre os cocos Gram-positivos destacaram-se os *Enterococcus faecalis* resistentes a vancomicina e *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina. Um perfil similar de colonização por espécies bacterianas de relevância epidemiológica foi verificado em um seguimento de pacientes em instituição de longa permanência (PACIO *et al.*, 2003).

Na colonização e infecção por VRE, destacou-se *Enterococcus faecalis*, diferentemente do registrado em estudos em que verificou a predominância de *Enterococcus faecium*, sendo esta última espécie intrinsecamente multirresistente a vários antibióticos, além de apresentar a aquisição de resistência nos últimos anos a vancomicina, linezolida e daptomicina (HAYAKAWA *et al.*, 2013b; ZHANG *et al.*, 2013).

Apesar da maior frequência de *Enterococcus faecium* em estudos, *Enterococcus faecalis* tem sido associado a uma maior probabilidade em eventos de conjugação com transferência de genes codificadores de resistência a vancomicina para *Staphylococcus aureus* (FURUNO *et al.*, 2005; HAYAKAWA *et al.*, 2013b; ZHANG *et al.*, 2013). Nesse sentido, cabe ressaltar que, mesmo com uma baixa frequência da identificação de *Staphylococcus aureus* no presente monitoramento, dois pacientes apresentaram cocolonização por *Enterococcus faecalis* resistentes a vancomicina e ORSA.

Todavia, o maior percentual de cocolonização durante o monitoramento em UTI foi registrado em relação aos micro-organismos Gram-negativos (*Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos e *Klebsiella pneumoniae* ESBL). Similarmente, para uma coorte realizada em instituição de longa permanência em Boston verificou-se a cocolonização por múltiplos micro-organismos Gram-negativos com perfil de resistência aos antimicrobianos associada à demanda por maior assistência,

consequentemente, elevando à frequência de contato com os profissionais. No caso da co-colonização por ORSA e VRE o uso de dispositivos invasivos, severidade clínica e presença de feridas crônicas pode constituir fator importante nessa ocorrência, de acordo com a literatura (SNYDER, O'FALLON, D'AGATA, 2011; HAYAKAWA *et al.*, 2013b; MARCHAIM *et al.*, 2013).

Apesar da maior frequência de colonização por bactérias Gram-negativas na UTI I e na UTI II constatou-se elevada frequência de colonização por VRE. Uma possível explicação para a alta frequência apenas de VRE entre as espécies bacterianas Gram-positivas na colonização de pacientes pode ser a ocorrência de um surto por esse micro-organismo no período de julho a agosto de 2012 na UTI I.

5.1 Caracterização das bactérias resistentes associadas à colonização de pacientes em UTI

Apesar de o perfil dos micro-organismos variar geograficamente e de acordo com os estabelecimentos de saúde, destacou-se na colonização dos pacientes durante a avaliação microbiológica um grupo de bactérias resistentes de relevância epidemiológica reportados nas mais diversas regiões do mundo (SADER *et al.*, 2004; SIEGEL *et al.*, 2006; DESHPANDE *et al.*, 2007).

Na colonização por bactérias Gram-negativas, destacaram *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem *Klebsiella pneumoniae*, com variações de perfil, a exemplo de ESBL (CTXM, SHV e TEM) e KPC₂, e *Acinetobacter baumannii* com expressão fenotípica dos genes OXA-23 e OXA-253, uma variação de OXA-143 distribuídos entre os casos monitorados nas duas UTI de estudo. Tal perfil é coerente com a constatação de maior prevalência de bactérias Gram-negativas associadas à colonização e infecção de pacientes na América do sul (SADER *et al.*, 2004).

A amostra de *Acinetobacter baumannii* identificada como OXA-253 é uma variação de Beta-lactamase OXA-143 [*Acinetobacter baumannii*]. Outras variações de OXA-143 já foram registradas no Brasil (OXA-231, no estado do Paraná), e recentemente em Honduras e nos EUA (GIONCO *et al.*, 2012; ZANDER *et al.*, 2014).

O genótipo de OXA-143 é mais comum no Brasil, enquanto a expressão de OXA-23 é relatada em toda a América do Sul; perfil predominante entre as amostras de *Acinetobacter baumannii* identificadas em casos de colonização dos pacientes no decorrer do monitoramento na UTI I e na UTI II (OPAZO *et al.*, 2012).

Apesar da importante colonização por bactérias Gram-negativas, observou-se, concomitantemente, a colonização por Gram-positivo, como VRE e ORSA, mas em menor frequência. Os micro-organismos Gram-positivos estão amplamente identificados em colonização e infecção nos países da Europa e nos EUA (CRISÓSTOMO *et al.*, 2001; SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004; SIEGEL *et al.*, 2006; DANCER *et al.*, 2013).

Entre as bactérias-Gram negativas, constatou-se a expressão de ESBL, a exemplo de CTX-M, que se tornou o perfil predominante de ESBL em todo o mundo. A expressão de ESBL por enterobactérias é frequente no ambiente hospitalar. Tais enzimas hidrolizam cefalosporinas de espectro ampliado, a exemplo de cefotaxima, ceftazidime e Aztreonam (PATERSON, 2008).

A expressão de enzimas CTX-M foi observada a partir da década de 1990, sendo identificada principalmente em amostras de *Escherichia coli*. Este tipo de ESBL, ainda, se destaca-se pela possibilidade de expressão em isolados adquiridos na comunidade (LARTIGUE *et al.*, 2007; RUPPÉ *et al.*, 2012).

Um dos aspectos mais relevantes na expressão de ESBL por diversas espécies bacterianas constitui seu impacto no aumento do uso dos carbapenêmicos, sendo esta classe de antimicrobianos uma opção terapêutica para o tratamento das infecções causadas por tais micro-organismos. Nesse sentido, o uso elevado de carbapenêmicos favorece o aumento da expressão de carbapenemases, devido à pressão seletiva proporcionada (LARTIGUE *et al.*, 2007; PATERSON, 2008).

Tais genótipos compartilham sequência de DNA semelhantes, apresentando, portanto, positividade em PCR para *screening* de genes correlacionados. Para a análise das características genótípicas desses variantes, torna-se importante a determinação de seu ambiente genético, para a caracterização dos genes associados ao seu perfil de resistência (HIGGINS *et al.*, 2009).

As maiores variações foram identificadas nos perfis das amostras de *Klebsiella pneumoniae* ESBL/KPC, com apresentação de três diferentes perfis na comparação de similaridade entre estes, variando de 80,0% a 90,0%. A maior similaridade foi verificada entre amostras de dois pacientes da UTI II referente ao perfil de KPC₂. Mas cabe destacar que um percentual considerável de 80,0% de similaridade foi identificado entre amostras de paciente da UTI I e da UTI II referente ao perfil KPC₂ e ESBL. Provavelmente, este aspecto pode ter sido influenciado pela possibilidade de readmissão de paciente após alta do outro estabelecimento; aspecto observado com um paciente colonizado por KPC, que, após alta da UTI II, foi readmitido na UTI I, ainda, em estado de colonização.

Os perfis identificados para *Acinetobacter baumannii* apresentaram alta similitude (95,0%). No entanto, estiveram restritos a UTI II, com variação temporal, sendo, provavelmente, os genótipos mais importantes relacionados à resistência por *Acinetobacter baumannii* nesse estabelecimento de saúde.

5.2 Variação da carga microbiana na colonização por bactérias resistentes

A pele compõe a proteção/interface entre o corpo humano e o ambiente externo. Além de prevenir a perda de líquidos, proporciona uma barreira contra a entrada de patógenos. Nesse sentido, constitui um importante ecossistema ao albergar micro-organismos que se adaptam em sítios anatômicos fisiologicamente distintos (GRICE *et al.*, 2009).

Na pele, em locais parcialmente ocluídos, a exemplo da prega inguinal, as populações bacterianas podem ser mais estáveis ao longo do tempo. Em contrapartida, nos locais mais secos e mais expostos a diversidade microbiana pode ser mais elevada e com maior oscilação temporal. As alterações podem ocorrer após alguns fatores externos, como o uso de antibióticos ou a aquisição de algum patógeno (GRICE *et al.*, 2009; CHEN, TSAO, 2013).

Neste estudo, foi utilizada a técnica de contagem semiquantitativa da replicação bacteriana em meios de cultivo seletivos para os micro-organismos de relevância epidemiológica (MARCHAIM *et al.*, 2007; STONE *et al.*, 2008; LUCET *et al.*, 2009; BIRGAND *et al.*, 2013; ZIMMERMAN *et al.*, 2013).

A análise semiquantitativa é comumente usada em estudos similares. Entretanto, é frequente a associação da carga a uma variável qualitativa como presença ou ausência do micro-organismo no meio de cultivo ou por categorias como: 0) sem crescimento, 1) baixo crescimento, 3) crescimento moderado e 4) alto crescimento (MARCHAIM *et al.*, 2007; STONE *et al.*, 2008; LUCET *et al.*, 2009; BIRGAND *et al.*, 2013; ZIMMERMAN *et al.*, 2013).

Todavia, os métodos de análise da carga microbiana podem diferir. Neste estudo, foram utilizadas a técnica tradicional do cultivo das amostras, a contagem dos micro-organismos com fenótipos similares e a caracterização. Uma metodologia semelhante foi utilizada por Mermel *et al* (2011). Na avaliação da carga microbiana de MRSA associada ao risco de infecção, conduzida por Stenehjem, Rimland (2013), foi utilizada a PCR em tempo real para a quantificação do micro-organismo em questão. Nesta técnica, o número de ciclos completos na amplificação antes da detecção do DNA alvo é inversamente proporcional à quantidade de DNA presente na amostra.

A PCR em tempo real tem como vantagens a quantificação das amostras, obtidas, por exemplo de *swabs* nasal em duas horas, e a detecção de cargas microbianas muito baixas. No entanto, cargas microbianas muito reduzidas são de baixa importância ecológica. Entretanto, nesta técnica, como pelo Xpert MRSA, tem como alvo a junção do cassete cromossômico *mec* (*SCCmec*)-*orfX*, e não especificamente o gene *mecA*, podendo, portanto, contabilizar amostras de *Staphylococcus aureus* sensíveis a meticilina (STENEHJEM *et al.*, 2012). No método tradicional, o tempo de análise é maior, necessitando de até dois dias para cultivo da amostra, além de ser laborioso. Entretanto, seu custo é menor e permite análises fenotípicas, sendo mais acessível.

A carga microbiana relativa a ORSA expressa em \log_{10} variou de 1,0 a 6,0 neste estudo. Semelhantemente, em um monitoramento da descolonização de pacientes, realizado para quantificar a distribuição do patógeno em questão e sua inter-relação em diferentes sítios anatômicos, a cavidade nasal e a virilha foram associadas significativamente como os principais sítios de detecção e de carga microbiana mais elevada. A média da carga microbiana associada a ORSA expressa em \log_{10} foi mucosa nasal (1,9), virilha (1,7); em períneo 1,9 (MERMEL *et al.*, 2011). A carga microbiana referente a ORSA foi mais elevada neste estudo, provavelmente, devido a um maior tempo de seguimento da colonização dos pacientes, dentre outros fatores, tais como variação geográfica, perfil dos pacientes e uso de antimicrobianos.

Destaca-se no monitoramento a partir da UTI I e da UTI II que a colonização por ORSA teve uma frequência muito baixa, podendo ter dificultado a determinação das características relacionadas à colonização por esse micro-organismo.

Na avaliação da microbiota de populações saudáveis, a mucosa nasal e a virilha foram identificadas entre os sítios mais consistentes em relação à composição e à estrutura da comunidade microbiana em um estudo de caracterização da variação temporal da microbiota (GRICE *et al.*, 2009).

Similarmente, na identificação de colonização por espécies bacterianas de relevância epidemiológica neste estudo a mucosa nasal foi importante para a recuperação de *Pseudomonas aeruginosa* (p : 0,8; $p < 0,05$), *Acinetobacter baumannii* (p : 0,7; $p < 0,05$) e ORSA. Entre os pacientes avaliados nas UTI, a virilha, ainda, constituiu relevante sítio de colonização por *Klebsiella pneumoniae* ESBL/KPC (p : 0,7; $p < 0,05$). Conforme previsto, para a recuperação de VRE o períneo foi o principal sítio (p : 0,6; $p < 0,05$), não sendo observada correlação importante quando avaliadas a cavidade nasal e a virilha. Tal aspecto é atribuído ao fato de os *Enterococcus* spp. pertencerem a microbiota intestinal e, que sobre a

pressão seletiva de antimicrobianos poderem ser selecionadas populações bacterianas resistentes à vancomicina. Frequentemente, em estudos sobre colonização por VRE o *screening* é realizado por *Swab* retal ou perianal e/ou amostras de fezes (PACIO *et al.*, 2003; BABADY *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2012; SOHN *et al.*, 2013).

Em um estudo transversal em hospitais de longa permanência, na avaliação da correlação entre a colonização de pacientes em múltiplos sítios anatômicos e a contaminação ambiental, verificou-se a necessidade de *screening* de mais de um sítio anatômico para a detecção de todos os casos de colonização por KPC. No referido estudo, os principais sítios para detecção de KPC foram o retal e o inguinal (THURLOW *et al.*, 2013).

A avaliação de amostras fecais além dos sítios anatômicos no seguimento do paciente na comunidade após a alta poderia favorecer a detecção da persistência de colonização por micro-organismos multirresistentes, a exemplo de VRE e *Klebsiella pneumoniae* ESBL/KPC em trato intestinal após a descolonização dos sítios anatômicos.

Apesar da detecção de *Enterococcus* spp. em amostras fecais de três pacientes após 12 meses de alta hospitalar, todos os isolados foram sensíveis a ampicilina e a vancomicina, embora um desses pacientes tenha apresentado colonização por VRE na virilha e no períneo durante o tempo de permanência hospitalar (95 dias). Apesar do tempo de colonização por micro-organismos multirresistentes permanecer controverso, verifica-se na literatura possibilidades de longa permanência de colonização por VRE (PACIO *et al.*, 2003).

Não obstante um menor prazo de colonização por VRE ter sido registrado, tal resultado pode sugerir a possibilidade de redução da carga microbiana em condições específicas para esse micro-organismo em níveis pouco detectáveis por métodos de cultivo microbiológico. O declínio dessa carga microbiana pode ter sido favorecido pelo menor contato com estabelecimentos de saúde após a alta hospitalar, sendo observado apenas acompanhamento ambulatorial, resultando, portanto, em menor pressão de colonização. Citam-se, ainda, fatores como a provável recuperação do sistema imune do paciente, a retirada de dispositivos invasivos e, sobretudo a suspensão do uso de antimicrobianos, reduzindo a pressão seletiva, além de, geralmente, as mutações relacionadas à resistência aos antimicrobianos serem mais instáveis, devido ao alto custo ao *fitness* celular (ANDERSSON, HUGHES, 2010; SNITKIN *et al.*, 2013).

Aspecto semelhante foi verificado com pacientes colonizados por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes e tratados com colistina durante surto no *The National Institutes of Health Clinical Center (NIHCC)* em Maryland, EUA. Após a suspensão do uso de

colistina, foi verificada a recolonização de pacientes por cepas sensíveis aos antimicrobianos (SNITKIN *et al.*, 2013).

No caso de ORSA, verifica-se que a multirresistência pode ser adquirida por meio de elementos genéticos móveis (resistência aos β lactâmicos, aminoglicosídeos, clindamicina, tetraciclina e cloranfenicol), ou de mutações em genes cromossomais (resistência a fluorquinolona e rifampicina) ou dos dois fatores (ácido fusídico, trimetropim, co-trimazol e mupirocina). A transferência horizontal desses genes pode ser mediada por bacteriófagos. Diante desse amplo perfil de resistência, verificam-se possibilidades de **ganhos e perdas de genes de resistência durante a colonização e/ou infecção de pacientes**, conforme relatado em estudos, sugerindo a continuidade da evolução e adaptação de acordo com as pressões seletivas (KNIGHT *et al.*, 2012; McCARTHY, BREATHNACH, LINDSAY, 2012).

A média da carga microbiana presentes em colonização dos sítios anatômicos dos pacientes monitorados na UTI I e na UTI II variou de 1,0 a 7,2 (\log_{10}) UFC/ml em um intervalo de tempo de 27 a 41 dias. A carga microbiana estimada para o conjunto de bactérias resistentes avaliadas foi mais elevada que a média registrada para MRSA (1,7 a 1,9) em estudo semelhante (MERMEL *et al.*, 2011). Entretanto, foi inferior à média verificada para componentes da microbiota normal. Na avaliação da colonização intestinal por *Enterobacteriaceae*, componente da microbiota normal, em adultos saudáveis no Japão, verificou-se uma média da carga microbiana de 7,1 (\log_{10}) (KURAKAWA *et al.*, 2013).

As alterações na microbiota podem estar associadas a fatores como idade e uso de antimicrobianos, conforme observado em pacientes idosos de dois hospitais irlandeses. Os Bacteroides e *Bifidobacterium* spp. reduziram com o aumento da idade, enquanto para *Enterobacteriaceae* a variação da carga microbiana de 2,0 a 10,0 log UFC/g de amostras de fezes não foi significativa (O'SULLIVAN, 2012).

A importância do uso antimicrobianos e a colonização por bactérias resistentes verificada neste estudo pode estar relacionada às alterações ocorridas na microbiota após terapia antimicrobiana. As características principais relacionadas à colonização por *Pseudomonas aeruginosa* foram o uso de fluoroquinolonas e de ventilação mecânica. Na colonização por VRE, destacou-se o uso de glicopeptídeos e drenos durante o tempo de permanência em UTI. O uso de carbapenêmicos foi relevante na colonização por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos. A colonização por *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC relacionou-se à ocorrência de infecções por este micro-organismo, quando avaliadas as características associadas ao desfecho de infecção. Cabe destacar que o micro-organismo mais frequente em colonização foi o *Acinetobacter*

baumannii resistentes aos carbapenêmicos. Concomitantemente, o antimicrobiano mais utilizado durante o monitoramento dos pacientes foi o meropenem, sendo um antimicrobiano da classe dos carbapenêmicos.

Em ecossistemas equilibrados e com variedade de espécies bem estabelecidas, a resistência à colonização confere uma proteção contra a invasão de patógeno. Entretanto, alterações ambientais, como exposição a antimicrobianos, podem desestabilizar o ecossistema e facilitar a entrada e permanência de patógenos. O uso de antimicrobianos pode reduzir a contagem ou, mesmo, a deleção na proporção de algumas espécies bacterianas da microbiota normal, diminuindo, conseqüentemente, a resistência a invasão de patógenos (ROBINSON, BOHANNAN, YOUNG, 2010).

Dentre os fatores a serem considerados durante a colonização de um sítio cabe destacar a possibilidade de permanência do micro-organismo na pele mesmo após sua renovação, com uma média de descamação em um intervalo de 21 dias e a melhor adaptação ambiental daqueles sensíveis aos antimicrobianos, considerando que os micro-organismos resistentes apresentam sua expressão fenotípica voltada para os mecanismos de resistência (GRICE *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2011).

Uma maior permanência de um patógeno como colonizador pode implicar a possibilidade de desfecho de infecção, dependendo das condições imunológicas do paciente, e de associação com outros fatores preditivos das infecções. A invasão de um ecossistema por patógenos pode favorecer a ocorrência de infecções, devido a aspectos do micro-organismo, como virulência e carga microbiana, ou da resposta imune do hospedeiro, como também pode ocorrer um *clearance*, ou controle do patógeno, sem resultar em sintomas de infecção (CASADEVALL, PIROFSKI, 2003; ROBINSON, BOHANNAN, YOUNG, 2010).

Algumas características inerentes às condições do paciente em UTI podem estar associadas à ocorrência de infecções, como o uso de antimicrobianos e dispositivos invasivos, conforme verificado no monitoramento da UTI I e da UTI II, geralmente registrado em outros estudos. Entre os pacientes em cuidados intensivos, verificam-se alguns fatores de risco que predisõem ao desfecho de infecção, como o uso prolongado de antimicrobianos, a própria admissão em UTI, imunossupressão, uso de dispositivos invasivos, fatores de virulência do micro-organismo e perda de integridade da pele (CORONA-NAKAMURA *et al.*, 2001; HARDY *et al.*, 2006; HUANG, DATTA, PLAT, 2006; SCHECHNER *et al.*, 2013).

A carga microbiana presente no estado de colonização por bactérias resistentes pode favorecer a ocorrência de infecções. Além do inóculo do micro-organismo, os resultados da interação entre o micro-organismo e o hospedeiro são de grande relevância na ocorrência

de infecções. Os fatores que predisõem à infecção estão relacionados à integridade da pele e à imunidade do hospedeiro, somados à virulência do micro-organismo, a exemplo da adesão nas células e tecidos do hospedeiro, e à produção de cápsula (CASADEVALL, PIROFSKI, 2003; MERMEL *et al.*, 2011; ROBINSON, BOHANNAN, YOUNG, 2010).

Em relação à ocorrência de infecções a partir do estado de colonização prévio, para os pacientes monitorados, neste estudo foi verificada a ocorrência de infecção por bactérias resistentes semelhantes fenotipicamente àqueles presentes na colonização. Entretanto, não foi confirmado pelos testes de biologia molecular se a cepa presente nos casos de colonização foi similar àquela associada ao desfecho de infecção e não foram comparadas amostras de sítios anatômicos com aquelas de sítio de infecção. Os dados referentes à ocorrência de infecções e a seus respectivos sítios foram obtidos dos prontuários dos pacientes e dos registros hospitalares, restringindo, portanto, a possibilidade de comparações de similaridade entre as amostras de colonização dos sítios anatômicos com aquelas identificadas nos casos de infecção notificados nas UTI de estudo.

5.3 Tempo médio de variação da carga microbiana por bactérias resistentes

Durante o monitoramento dos pacientes, 45,0% (24/53) apresentaram redução gradual da carga microbiana até a ausência de colônias da bactéria resistente que carregavam em sítios anatômicos, não sendo mais visível seu crescimento em meio de cultivo microbiológico até a ocasião da alta hospitalar. Nos casos de redução da carga microbiana em sítios anatômicos, destacou-se a ocorrência desse aspecto, mesmo entre pacientes que, além da colonização, tiveram desfecho de infecção.

A redução da carga microbiana até a ausência do micro-organismo em meios de cultivo microbiológico ou resultado negativo na PCR em tempo real por três vezes consecutivas é geralmente referida como “descolonização dos pacientes”. Entretanto, ainda não se verificam consenso e recomendações claras para seu uso na prática clínica em relação ao tempo de permanência dos pacientes em precauções de isolamento. Em manuais e guidelines são discutidos resultados e considerações dos autores em estudos de descolonização “natural”, mas as recomendações, ainda, não estão bem expressas (SIEGEL *et al.*, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007; STONE *et al.*, 2008; LONGTIN *et al.*, 2009; LUCET *et al.*, 2009; ALEXANDER *et al.*, 2011; MERMEL *et al.*, 2011).

No monitoramento dos pacientes a partir da UTI I e da UTI II, o tempo médio de redução da carga microbiana por espécie bacteriana de relevância epidemiológica variou de

27 a 41 dias, destacando-se que 24 entre os 53 pacientes avaliados apresentaram ausência do crescimento dos micro-organismos resistentes avaliados em meio de cultivo por três vezes consecutivas. Mesmo entre pacientes que tiveram desfecho de infecção, foi verificado declínio da carga microbiana em sítios anatômicos. Essa redução na carga microbiana em sítios anatômicos pode ter sido influenciada pelo uso de antimicrobianos para tratamento de infecções. No caso de pacientes que utilizaram polimixina E em esquema terapêutico durante infecções, verificou-se correlação entre o uso deste antimicrobiano e o declínio da carga microbiana em sítios anatômicos referentes à *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* ESBL.

Cabe destacar que as polimixinas estão indicadas no tratamento de infecções por Enterobactérias resistentes em terapia associada aos aminoglicosídeos (gentamicina ou ampicacina), carbapenêmicos (meropenem ou doripenem) ou tigeciclina para evitar resistência ao antimicrobiano e, tentar um sinergismo entre os antimicrobianos (ANVISA, 2013).

Entre 62,0% (5/8) dos pacientes monitorados na comunidade, verificou-se a ausência em meio de cultivo microbiológico das espécies bacterianas resistentes que estiveram presentes em sítios anatômicos durante a permanência hospitalar em um tempo médio de 30 dias após a alta. No monitoramento por cultura microbiológica na comunidade, predominaram *Staphylococcus* spp. coagulase negativos, componentes da microbiota normal, que não constituíram foco desse estudo. Apenas em dois casos foi observada a permanência no estado de colonização por bactéria resistente, sendo um paciente colonizado por VRE e outro por KPC, com posterior reinternação. No caso do paciente colonizado por KPC foi registrado óbito após readmissão hospitalar, relacionado ao estágio final de SIDA.

A avaliação da aquisição de bactérias resistentes por contatos familiares constatou apenas a presença de micro-organismos comuns na pele. Destes, apenas um caso de um parceiro que compartilhava o mesmo ambiente e objetos com o paciente coincidiu com o perfil de resistência a oxacilina (*Staphylococcus* spp. coagulase negativo). Entretanto, sendo este um micro-organismo comum na pele, pode ser provável a apresentação de perfil de resistência após frequente utilização de antimicrobianos.

Em estudo com maior população e tempo de seguimento após alta hospitalar na França, o percentual de transmissão de ORSA para os contatos domiciliares foi de 19% entre 191 pacientes monitorados, numa rede de 47 instituições hospitalares e 16 unidades de assistência domiciliares, durante um ano (LUCET *et al.*, 2009; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010).

Alguns aspectos podem ter influenciado a estimativa da variação da carga microbiana de pacientes durante a permanência hospitalar, como alta de paciente ainda colonizado e ocorrência de óbitos, uma vez que impossibilitou a observação da redução da carga microbiana nesses casos. Os óbitos foram decorrentes, principalmente, do agravamento das doenças identificadas no diagnóstico principal na admissão desses pacientes em UTI, destacando as neoplasias. Apenas em um caso o óbito foi relacionado a vários episódios de sepse por VRE.

O tempo de descolonização por ORSA, conforme observado na literatura, tem uma variação de meses até um ano. Seu maior tempo nas superfícies muco-cutâneas é referido como colonização permanente e seu menor tempo, associado a um quantitativo de uma a três culturas positivas, tem sido estimado como colonização intermitente. Provavelmente, entre os pacientes acompanhados nesse estudo, considerando o tempo relativamente curto de redução do micro-organismo em questão, a colonização foi intermitente, podendo, inclusive, ser inferida a possibilidade de se obter positividade em cultura microbiológica caso realizasse uma nova avaliação após um intervalo de tempo maior (MARSCHALL, MÜHLEMANN, 2006; COGEN, NIZET, GALLO, 2008; LUCET *et al.*, 2009; ALEXANDER *et al.*, 2011).

A descolonização espontânea por MRSA foi verificada durante a seleção de pacientes, constituindo critério de exclusão desses em estudo multicêntrico em hospitais da Holanda (AMMERLAAN *et al.*, 2011). A descolonização espontânea pode ser favorecida por aspectos como declínio da carga microbiana à medida que ocorre melhora no prognóstico do paciente e, conseqüente, redução da necessidade de monitorização invasiva, reestabelecimento de integridade da pele e do sistema imune e menor uso de antimicrobianos.

No caso de VRE, tem se registrado o tempo de permanência de colonização por até cinco anos após sua detecção. Conforme observado, neste estudo, a colonização por VRE persistiu até a reinternação para um dos pacientes monitorados. Destaca-se, assim, a importância da reavaliação de pacientes com histórico de colonização prévia por esse micro-organismo (BADEN *et al.*, 2001).

Entre os casos de colonização por bactéria Gram-negativa, o tempo médio de redução da carga microbiana foi menor para *Klebsiella pneumoniae* ESBL ou KPC e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos (27 dias) quando comparados àquelas Gram-positivas. Um desfecho similar foi constatado em um seguimento entre pacientes que apresentaram cocolonização concomitante por bactéria Gram-negativa e Gram-positiva de relevância epidemiológica, sendo observada uma chance de redução da carga microbiana para Gram-negativa até quatro vezes maior que para aquelas positivas. Destacam-

se na literatura maior tempo de permanência na colonização de pacientes por ORSA, em média, de um ano e VRE com relatos de até cinco anos (BADEN *et al.*, 2001; PACIO *et al.*, 2003; LUCET *et al.*, 2009).

Em um monitoramento realizado durante 14 anos com pacientes admitidos em um hospital da França e acompanhamento na comunidade, o tempo médio de descolonização por ESBL do trato intestinal foi de 6,0 meses, ou aproximadamente, 198 dias. Semelhantemente, na verificação da persistência da colonização intestinal por ESBL de amplo espectro em pacientes admitidos em outro hospital da França registrou-se uma média de colonização de 132 dias (ZAHAR *et al.*, 2010; BIRGAND *et al.*, 2013).

A comparação entre os estudos disponíveis sobre o tempo médio de descolonização ou redução da carga microbiana por micro-organismos de relevância epidemiológica pode ser dificultada em razão das variações metodológicas. Entretanto, a avaliação das características epidemiológicas para os grupos específicos pode favorecer o manejo e a prevenção de infecções que possam estar associadas à colonização e/ou infecção por micro-organismos resistentes. Tal conduta pode permitir definições e recomendações sobre a manutenção ou descontinuidade das precauções de contato sem implicar a disseminação de micro-organismos. O período de manutenção das medidas ainda é arbitrário, sendo este um dos motivos de interesse mundial na última década para a determinação do tempo médio de descolonização em estudos (EVEILLARD *et al.*, 2006; GBAGUIDI-HAORE *et al.*, 2008; VIKRAM *et al.*, 2010; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010).

Correntemente, após a identificação em *screening* da colonização por micro-organismos de relevância epidemiológica os pacientes são direcionados imediatamente para o isolamento até a alta hospitalar e, em casos de reinternação até três meses, após a alta de pacientes colonizados (EVEILLARD *et al.*, 2006; SIEGEL *et al.*, 2007; GBAGUIDI-HAORE *et al.*, 2008; VIKRAM *et al.*, 2010; MARTINEZ-CAPOLINO *et al.*, 2010).

Neste estudo, apesar de suas limitações, a exemplo da possibilidade de não detecção de cargas microbianas menores em meio de cultivo e do seguimento no período de apenas 11 meses em duas instituições de saúde, refletindo em uma amostragem menor dos casos e do tempo de colonização, os resultados evidenciaram a possibilidade de declínio da carga microbiana no estado de colonização e da ocorrência de infecções em períodos de cargas microbianas mais elevadas. Os resultados evidenciaram, ainda, características relacionadas à colonização por bactérias Gram-negativas resistentes aos antimicrobianos. Entretanto, o tempo para a redução da carga microbiana foi inferior neste estudo quando comparado à literatura. Apesar de esse tempo para possível descolonização ainda permanecer

controverso, geralmente, varia de semanas a uma média de um ano em estudos com avaliação da colonização por MRSA e *Enterobacteriaceae* ou até cinco anos para VRE (PACIO *et al.*, 2003; STONE *et al.*, 2008; LONGTIN *et al.*, 2009; LUCET *et al.*, 2009; ALEXANDER *et al.*, 2011; MERMEL *et al.*, 2011).

Cabe destacar, todavia que a carga microbiana e suas variações não são geralmente estimadas, principalmente para bactérias Gram-negativas. Os estudos com determinação de carga microbiana estão geralmente voltados para o MRSA, sendo este micro-organismo mais frequentemente identificado em colonização e infecção nos países da Europa e nos EUA (STONE *et al.*, 2008; MERMEL *et al.*, 2011).

A determinação da carga microbiana e de suas variações pode contribuir para o conhecimento de aspectos relacionados à colonização por bactérias Gram-negativas resistentes, tais como as características associadas e os períodos de maior risco de disseminação destes micro-organismos.

Provavelmente, o declínio da carga microbiana das cepas bacterianas resistentes em sítios anatômicos pode ser de grande relevância para a prática clínica, considerando a possibilidade de decréscimo da disseminação destes. Ainda mais quando se levam em consideração às condições adequadas de utilização das boas práticas direcionadas ao cuidado seguro, a exemplo da manutenção de um ambiente biologicamente seguro e da melhor adesão à higiene das mãos, o que poderiam minimizar a ocorrência de contaminação cruzada, novos casos de colonização e infecção, embora as boas práticas não tenham sido objeto de avaliação nesse estudo.

Destaca-se que a higiene de mãos e o reforço da limpeza ambiental são eficazes na minimização da transmissão cruzada de micro-organismos, mas ainda observa-se a necessidade de melhor adesão ou realização dessas práticas não mensuradas neste estudo (HAYDEN *et al.*, 2006; OMS 2009; HUSLAGE *et al.*, 2010; SMITH *et al.*, 2012).

Dentre outros fatores determinantes da aquisição de bactérias resistentes e do tempo de colonização, destaca-se o uso de antimicrobianos. A restrição do uso de cefalosporina (ceftriaxona) e fluoroquinolona (ciprofloxacina) em uma campanha educacional promovida em um hospital geral de Glasgow, no Reino Unido, resultou na menor aquisição de *Clostridium difficile*, MRSA e ESBL. O resultado foi verificado em auditoria após três de realização da intervenção (DANCER *et al.*, 2013).

Constata-se, assim, que apenas a estimativa do tempo de colonização por uma cepa bacteriana resistente não é suficiente, sendo necessária a determinação dos fatores associados às oscilações da carga microbiana, além, da avaliação do risco real de

disseminação de micro-organismos pelo paciente colonizado de acordo com as oscilações das cargas microbianas até a sua redução ou ausência em resultados de testes utilizados na sua identificação.

A colonização de múltiplos sítios anatômicos, conforme observado neste estudo, por uma mesma espécie bacteriana pode implicar maior risco de sua disseminação. Assim, a avaliação de múltiplos sítios de colonização de pacientes por bactérias resistentes pode ser relevante no monitoramento desses casos. Tal aspecto pode ser verificado para a colonização extra-nasal por ORSA, sendo até então a mucosa nasal o principal sítio de colonização por esse micro-organismo. Entretanto, há relatos de colonização de virilha e períneo por esse micro-organismo (BISHOP *et al.*, 2006; MERMEL *et al.*, 2011).

A identificação de fatores de risco preditores da persistência de colonização de pacientes por micro-organismos resistentes pode direcionar a estimativa do tempo necessário de manutenção das precauções de contato, apontando características que provavelmente estão relacionadas com a redução da carga microbiana e do risco de disseminação. Embora não tenham sido determinados neste estudo, os fatores de risco associados à persistência do estado de colonização podem ser um aspecto importante para avaliação em estudos (MERTZ *et al.*, 2013).

Um possível método de avaliação do tempo de permanência em precauções de isolamento por pacientes colonizados foi avaliado em unidades de cuidados agudos de hospitais de ensino em Ontário, Canadá. Um algoritmo para estimar o tempo necessário para a manutenção das precauções de isolamento foi elaborado a partir da análise de derivação de duas populações distintas admitidas nos hospitais no período. Para tanto, os pacientes foram entrevistados sobre fatores de risco como portadores de bactérias resistentes. As informações foram complementadas com anotações do prontuário dos pacientes, sendo considerados os seguintes aspectos: histórico de colonização por bactéria resistente, data do último resultado positivo em cultivo de amostras, identificação múltipla ou única de colonização, três resultados consecutivos negativos de swabs desde a última detecção de bactéria resistente, instituição de longa permanência, presença de cateter venoso ou urinário, histórico de perdas cognitivas, setor hospitalar e uso ativo de droga intravenosa (MERTZ *et al.*, 2013).

Concomitantemente, realizou-se *screening* dos pacientes na ocasião da admissão para a identificação de colonização por MRSA, VRE, ESBL e/ou *Pseudomonas aeruginosa*. O algoritmo final incluiu três fatores: última detecção do estado de colonização < 2 anos, três resultados negativos consecutivos após a última detecção e uso ativo de droga intravenosa. Entre os pacientes admitidos com histórico prévio de colonização por bactérias resistentes

verificou-se que 62% não permaneceram por longos tempos colonizados. O uso do algoritmo permitiu a redução de isolamentos desnecessários em quase 60% dos casos (MERTZ *et al.*, 2013).

A utilização de pacote de medidas *bundle* na prevenção da disseminação de MRSA também favoreceu o decréscimo de 17% da transmissão de MRSA em Unidades de Terapia Intensiva. Destacou-se, ainda, um declínio constante de MRSA durante as 24 meses após a implementação das medidas. As medidas utilizadas consistiram em: a) *screening* nasal para MRSA; b) precauções de contato para pacientes colonizados ou infectados por MRSA; c) higienização das mãos; e d) mudança na cultura institucional, corresponsabilizando cada profissional pelo controle de infecção (EVANS *et al.*, 2013).

Outra medida de controle da disseminação de bactérias resistentes trata-se da descolonização por uso de agentes antimicrobianos. Entretanto, dentre os micro-organismos resistentes, o MRSA é o único que se destaca com regimes de descolonização efetivos e recomendação dessa prática em guideline tanto para pacientes colonizados como para profissionais de saúde em situações específicas (SIEGEL *et al.*, 2007). Contudo, verificam-se controvérsias em seu uso devido à possibilidade de seleção de bactérias resistentes, além de escassez de estudos sobre a descolonização por outros micro-organismos (VIVONE *et al.*, 2005; MONGKOLRATTANOTHAI *et al.*, 2008).

Na descolonização por MRSA, em estudos, destaca-se o uso de mupirocina (1% a 2%) em formulação tópica (pomada ou pó), associado ao banho diário com clorexidina (2% a 4%) em um tempo médio de cinco dias. Entretanto, mesmo na descolonização por MRSA, com possibilidades de sucesso, verificada em estudos, no uso de protocolos com terapia antimicrobiana considera-se a possibilidade de seleção de cepas resistentes (VIVONE *et al.*, 2005; MACFARLANE *et al.*, 2007; MONGKOLRATTANOTHAI *et al.*, 2008; CLIMO *et al.*, 2013; DERDE *et al.*, 2014).

6. Conclusão

Para a determinação dos aspectos epidemiológicos relacionados à colonização de pacientes por bactérias resistentes, foram identificados *Acinetobacter baumannii* (51,0%) e *Pseudomonas aeruginosa* (32,0%) resistentes aos carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* ESBL (38,0%) e/ou KPC (5,6%), *Enterococcus faecalis* resistentes à vancomicina – VRE (43,0%) e os *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina – ORSA (7,5%). Nas infecções, identificaram-se o *Acinetobacter baumannii* (34,6%) e *Pseudomonas aeruginosa* (11,5%) resistentes aos carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* ESBL (27,0%) ou KPC (7,7%) e VRE (19,0%). Para ORSA, não foram registradas infecções.

O perfil de resistência apresentado por *Klebsiella pneumoniae* esteve associado à ESBL (CTX-M, SHV e TEM) e KPC₂. Para *Acinetobacter baumannii*, foi identificado o perfil relacionado a OXA-23 e OXA-253, uma variação de OXA-143. Os perfis de ESBL e KPC₂ referentes à resistência aos antimicrobianos expressos por *Klebsiella pneumoniae* estiveram distribuídos entre a UTI I e a UTI II. A distribuição de OXA-23 e OXA-253 foi verificada apenas na UTI II.

A cocolonização foi frequente entre os pacientes, sendo identificada a presença concomitante, em sítios anatômicos, de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas resistentes aos antimicrobianos. Os principais sítios para a detecção desse conjunto de bactérias resistentes foram a mucosa nasal e a virilha.

O tempo médio de redução da carga microbiana foi específico por micro-organismo, variando de 27 a 41 dias. A carga microbiana variou de 7,2 a 1,0 UFC/ml (log₁₀). As oscilações da carga microbiana apontaram para importantes aspectos no desfecho de colonização e/ou infecção, sendo verificada a ocorrência de infecções concomitantes às cargas microbianas mais elevadas (5,0 a 6,3 UFC/ml – log₁₀) em sítios anatômicos e, de outra forma, o declínio contínuo dessa carga culminou com a ausência de detecção de bactérias resistentes, por meio de cultivo, em sítios previamente colonizados. Tal aspecto pode estar relacionado aos períodos de maior possibilidade de disseminação de bactérias resistentes por pacientes colonizados e/ou infectados, pois cargas microbianas mais elevadas no estado de colonização podem estar associadas à ocorrência de infecções, assim como possibilitar a disseminação do micro-organismo para o ambiente e outros pacientes.

Nesse sentido, o declínio da carga microbiana presente na colonização pode diminuir a possibilidade de disseminação do micro-organismo. Assim, considera-se a possibilidade de reduzir o tempo de permanência em isolamento estrito a partir de alternativas

como o remanejamento de pacientes com características semelhantes, após declínio da carga microbiana, para coortes intermediárias ao isolamento e enfermaria. Apesar de a determinação da carga microbiana não constituir uma realidade nas intuições de saúde, sendo um trabalho laborioso quando realizado pelos métodos tradicionais de cultivo microbiológico e de maior custo se estimada na PCR em tempo real, sua determinação em estudo associada às variáveis preditoras de sua oscilação pode auxiliar na determinação desse período de maior risco de disseminação de bactérias resistentes ou de possível descolonização de pacientes.

Os casos de infecções por bactérias resistentes registrados entre os pacientes previamente colonizados apresentaram fenótipos semelhantes àqueles presentes em colonização. O uso de antimicrobianos e dispositivos invasivos foi importante na ocorrência de infecções.

A partir do monitoramento dos pacientes admitidos nas duas Unidades de Terapia Intensiva de adultos, verificou-se importante redução da carga microbiana em sítios anatômicos dos pacientes colonizados por bactérias resistentes, não implicando sua total descolonização, mas a possibilidade de diminuição do micro-organismo em níveis pouco detectáveis em meios de cultivo.

A partir do monitoramento na comunidade, verificou-se que mais de 50,0% dos pacientes apresentaram ausência, em um tempo médio de trinta dias após alta, das bactérias resistentes que carregavam durante a permanência no ambiente hospitalar.

Nos dois casos de readmissão hospitalar ocorridos durante o estudo, verificou-se a permanência no estado de colonização dos pacientes por VRE e *Klebsiella pneumoniae* KPC. O intervalo de tempo para a permanência no estado de colonização entre a alta e a readmissão hospitalar foi de 19 dias para VRE e 53 dias para *Klebsiella pneumoniae* KPC.

Na avaliação dos contatos familiares, foram identificados apenas micro-organismos pertencentes à microbiota normal, mas em uma amostra houve expressão de resistência à oxacilina.

Embora não tenham sido determinados neste estudo, alguns aspectos são de relevância em futuras avaliações, tais como: variáveis associadas à persistência de colonização por bactérias resistentes; avaliação das boas práticas de cuidado seguro (adesão às medidas de precaução); e seu impacto na redução da aquisição de bactérias resistentes.

7. Referência

ALEXANDER, E. L.; MORGAN, D.J.; KESH, S.; WEISENBERG, S. A.; ZALESKAS, J.M.; KALTSAS, A. *et al.* Prevalence, persistence and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York Hospital. **Diag. Microbiol. Infect. Dis.**, Nova York, v.70, p.37-44, fev.2011.

AMMERLAAN, H.S.M.; KLUYTMANS, J.A.J.W.; BERKHOUT, H.; BUITING, A.; BRAUWER, E.I.G.B.; VAN DEN BROEK, P.J., *et al.* Eradication of carriage with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: effectiveness of a national guideline. **J Antimicrob Chemother.**, Londres, v.66, p.2409-17, jun.2011.

ANDERSSON, D.I.; HUGHES, D. Antibiotic resistance and its cost: Is it possible to reverse resistance? **Nat. Rev. Microbiol.**, Londres, v.8, p. 260-271, abril.2010.

APIC Home [Homepage na Internet]. Washington, DC, Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology-APIC; c.1972-2009 [Acesso em 2009 Jul 3]. Targeting Zero HAIs - Position Statement, 2008; Disponível em: <http://www.apic.org/AM/CM/ContentDisplay.cfm?ContentFileID=11707>.

BABADY, N. E.; GILHULEY, K.; CIANCIMINIO-BORDELON, D. TANG, Y. W. Performance Characteristics of the Cepheid Xpert vanA Assay for rapid identification of patients at high risk for carriage of Vancomycin-Resistant *Enterococci*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.50, n.11, p.3659-63, set.2012.

BADEN, L. R.; THIEMKE, W.; SKOLNIK, A.; CHAMBERS, R.; STRYMISH, J.; GOLD, H. S., *et al.* Prolonged colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in long-term care patients and the significance of “clearance”. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v.33, p.1654–60, 2001.

BISHOP, E. J.; GRABSCH, E. A.; BALLARD, S. A.; MAYALL, B.; XIE, S., MARTIN, R., *et al.* Concurrent analysis of nose and groin swab specimens by the IDI-MRSA PCR assay is comparable to analysis by individual-specimen PCR and routine culture assays for detection of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.44, n.8, p.2904-8, ago.2006.

BIRGAND, G.; LEFEVRE, L. A., LOLOM, I.; RUPPE, E.; ANDREMONT, A.; LUCET, J. C. Duration of colonization by extended-spectrum b-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* after hospital discharge. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, p.41, 443-7, set.2013.

BITTAR, E. E.; BITTAR, N. Principles of Medical Biology: Molecular and cellular pharmacology. Ed. Stamford: JAI Press Inc., 1997. p. 1111.

BORER, A.; SAIDEL-ODES, L.; ESKIRA, S.; NATIV, R., RIESENBERG, K.; LIVSHIZ-RIVEN, I., *et al.* Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.40, p.421-5, jun.2012.

BOYCE, J. M. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.65, p.50-4, jun.2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Nota Técnica Nº 01/2013. Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Brasília, 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect>. acessado em: 20/10/13.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Brasília, 2004. Disponível em: <http://www.espacobiologico.hd1.com.br/introducao.pdf>. acessado em: 01/10/10.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Informes Técnicos. Anvisa suspende a manutenção do sistema sinais. Brasília, 22 de maio de 2009 - 17h. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/informes/2009/220509.htm>. Acessado em: 04/12/09.

BRENNAN, L.; LILLIEBRIDGE, R. A.; CHENG, A. C.; GIFFARD, P. M.; CURRIE, B. J.; TONG, S. Y. C. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in hospitalized patients in tropical northern Australia. **J. Hosp. Infection.**, Londres, v.83, p.205-11, mar.2013.

BROWN, S. A.; PALMER, K. L.; WHITELEY, M. Revisiting the host as a growth medium. **Nat. Rev. Microbiol.**, Londres, v.6, p.657-66, set.2008.

CALFEE, D.; JENKINS, S. G. Use of active surveillance cultures to detect asymptomatic colonization with carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care unit patients. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.29, p.966-8, 2008.

CASADEVALL, A.; PIROFSKI, L. A. The damage-response framework of microbial pathogenesis. **Nat. Rev. Microbiol.**, Londres, v.1, p.17-24, 2003.

Centers for Diseases Control (CDC). Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. **MMWR**. Atlanta, GA, 2002 Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5110a1.htm>>. Acesso em: 30 abr. 2010.

Centro colaborador da Organização Mundial de Saúde. Biblioteca Virtual de Saúde. Classificação Internacional de Doenças – CID 10 (Boletins OMS 20-24, 1999-2003). Disponível em: <http://hygeia.fsp.usp.br/cbcd/>. Acessado em: 28 abril 2014.

CHEN, Y. E.; TSAO, H. The skin microbiome: Current perspectives and future. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.69, n.1, p.143-155, 2013.

CLIMO, M. W.; YOKOE, D. S.; WARREN, D. K.; PERL, T. M.; BOLON, M.; HERWALDT, L., et al. Effect of Daily Chlorhexidine Bathing on Hospital-Acquired Infection., **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.368, p.533-42, fev.2013.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard – tenth edition. CLSI document M02-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.

CLOCK, S. A.; COHEN, B.; BEHTA, M.; ROSS, B.; LARSON, E. L. Contact precautions for multidrug resistant organisms: current recommendations and actual practice. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.38, p.105-11, mar.2010.

COATES, T.; BAX, R.; COATES, A. Nasal decolonization of *Staphylococcus aureus* with mupirocin: strengths, weaknesses and future prospects. **J. Antimicrob. Chemoth.**, Londres, v.64, p.9-15, jul.2009.

COGEN, A. L.; NIZET, V.; GALLO, R. L. Skin microbiota: a source of disease or defence? **Br. J. Dermatol.**, Londres, v.158, p.442-455, mar.2008.

COQUE, T. M.; CARATTOLI, A.; POIREL, L.; PITOUT, J.; PEIXE, L.; BAQUERO, F. et al. Dissemination of Clonally Related *Escherichia coli* Strains Expressing Extended-Spectrum β -Lactamase CTX-M-15. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.14, n.2, p.195-200, fev.2008.

CORONA-NAKAMURA, A. L.; MIRANDA-NOVALES, M. G.; LEANOS-MIRANDA, B. Epidemiologic study of *Pseudomonas aeruginosa* in critical patients and reservoirs. **Arch. Med. Res.**, Mexico, v.32, p.238-242, 2001.

CRISÓSTOMO, M. I.; WESTY, H.; TOMAS, A.; CHUNG, M.; OLIVEIRA, D. C.; LENCASTRE, H. The evolution of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: Similarity of genetic backgrounds in historically early methicillin-susceptible and -resistant isolates and contemporary epidemic clones. **PNAS.**, Washington, v.98, n.17, p.9865-70, ago.2001.

DANCER, S. J. Importance of the environment in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition: the case for hospital cleaning. **Lancet Infect. Dis.**, Nova York, v.8, p.101-13, 2008.

DANCER, S. J.; KIRKPATRICK, P.; CORCORAN, D. S.; CHRISTISON, F.; FARMER, D.; ROBERTSON, C. Approaching zero: temporal effects of a restrictive antibiotic policy on hospital-acquired *Clostridium difficile*, extended-spectrum beta-lactamase-producing coliforms and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Inter. J. Antimicrob. Agent.**, v.41, p.137-42, fev.2013.

DEDRICK, R. E.; SINKOWITZ-COCHRAN, R. L.; CUNNINGHAM, C.; MUDER, R. R.; PERREIAH, P.; CARDO, D. M. *et al.* Hand hygiene practices after brief encounters with patients: An important opportunity for prevention. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v. 28, n.3, p.341-345, mar.2007.

DEFEZ, C.; FABBRO-PERAY, P.; CAZABAN, M.; BOUDEMAGHE, T.; SOTTO, A.; DAURE'S, J. P. Additional direct medical costs of nosocomial infections: an estimation from a cohort of patients in a French university hospital. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.68, p.130-6, fev.2008.

DENIS, O.; JANS, B.; DEPLANO, A.; NONHOFF, C.; RYCK, R., SUETENS, C., *et al.* Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among residents of nursing homes in Belgium. **J. Antimicrob. Chemoth.**, Londres, v.64, p.1299-306, dez.2009.

DERDE, L.P.G.; DAUTZENBERG, M. J. D.; BONTEN, M. J.M. Chlorhexidine body washing to control antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: a systematic review. **Intensive Care Med.**, Nova York, v.38, p.931–9, jun.2012.

DERDE, L.P.G.; COOPER, B.S.; GOOSSENS, H.; MALHOTRA-KUMAR, S.; WILLEMS, R.J.L.; GNIADKOWKI, M., et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. **Lancet. Infect. Dis.**, Nova York, v.14, p.31–9, jan.2014.

DESHPANDE, L. M.; FRITSCH, T.R.; MOET, G. J.; BIEDENBACH, D. J.; JONES, R. N. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, Nova York, v.58, p.163-70, 2007.

DREES M, SNYDMAN, D. R.; SCHMID, C. H.; BAREFOOT, L.; HANSJOSTEN, K.; VUE, P.M.; et al. Prior environmental contamination increases the risk of acquisition of vancomycin-resistant Enterococci. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v.46, p.678-85, mar. 2008.

DUMINGAN, D. G.; BOYCE, J. M.; HAVILL, N. L.; GOLEBIEWSKI, M.; BALOGUN, O.; RIZVANI, R. Who is really caring for your environment of care? Developing standardized cleaning procedures and effective monitoring techniques. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.38, p.387-92, jun.2010.

EVANS, M.E.; KRALOVIC, S.M.; SIMBART, L.A.; FREIBERG, R.W.; OBROSKY, D. S.; ROSELLE, G. A., et al. Veterans Affairs methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevention initiative associated with a sustained reduction in transmissions and health care-associated infections. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.41, p.1093-5, nov.2013.

EVEILLARD, M.; LEROY, C.; TEISSIERE, F.; LANCIEU, E.; BRANGER, C.; LASSENCE, A. Impact of selective screening in the emergency department on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* control programmes. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.63, p.380-84, ago.2006.

FELDMAN, N.; ADLER, A.; MOLSHATZKI, N.; NAVON-VENEZIA, S.; KHABRA, E.; COHEN, D.; CARMELI, Y. Gastrointestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* following hospital discharge: duration of carriage and risk factors for persistent carriage. **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.19, p.190–6, abr.2013.

FERNANDES, A. T. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 953 p, v.1.

FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W. Epidemiologia clínica: elementos essenciais. 4 Ed. Porto Alegre: ARTMED. 2006. 288p.

FLUIT, A.C.; TERLINGEN, A.M.; ANDRIESSEN, L.; IKAWATY, R.; VAN MANSFELD, R., et al. Evaluation of the DiversiLab system for detection of hospital outbreaks of infections by different bacterial species. **J Clin Microbiol.**, Washington, v.48, p.3979–89, nov.2010.

FORTALEZA, C.M.B.; FREITAS, F.M; LAUTERBACH, G.P. Colonization pressure and risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical

surgical intensive care unit in Brazil. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.41, p.263-5, mar.2013.

FOSTER, T. J. Immune evasion by Staphylococci. **Nature.**, v.3, p.948-59, 2005.

FURUNO, J. P.; PERENCEVICH, E. N.; JOHNSON, J. A.; WRIGHT, M. O.; MCGREGOR, J. C.; MORRIS, J. G. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococci* co-colonization. **Emerg. Infect. Dis.**, Nova York, v.11, n.10, p.1539-44, 2005.

GALOISE-GUIBAL, L.; SOUBIROU, J. L.; DESJEUX, G.; DUSSEAU, J.Y.; EVE, O.; ESCARMENT, J. *et al.* Screening for multidrug-resistant bacteria as a predictive test for subsequent onset of nosocomial infection. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v. 27, n.11, p. 1233-41, nov.2006.

GASINK, L. B.; EDELSTEIN, P. H.; LAUTENBACH, E.; SYNNESTVEDT, M.; FISHMAN, N. O. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella Pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.30, p.1180-85, dez.2009.

GBAGUIDI-HAORE, H.; LEGAST, S.; THOUVEREZ, M.; BERTRAND, X.; TALON, D. Ecological study of the effectiveness of isolation precautions in the management of hospitalized patients colonized or infected with *Acinetobacter baumannii*. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.29, p.1118-23, dez.2008.

GILLIGAN, P.; QUIRKE, M.; WINDER, S.; HUMPHREYS, H. Impact of admission screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the length of stay in an emergency department. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.75, p.99-102, jun.2010.

GILMORE, M. S.; FERRETTI, J. J. The thin line between gut commensal and pathogens. **Science.**, v.299, p.1999-2002, mar.2003.

GIONCO, B.; PELAYO, J. S.; VENANCIO, E. J.; CAIO, R.; GALES, A. C.; CARRARA-MARRONI, F. E. Detection of OXA-231, a new variant of blaOXA-143, in *Acinetobacter baumannii* from Brazil: a case report. **J. Antimicrob. Chemother.**, Londres, v.67, p.2531-9, jun.2012.

GIRLICH, D.; DAMACENO, Q.S.; OLIVEIRA, A.C.; NORDMANN, P. OXA-253, a variant of the carbapenem-hydrolyzing class D ss-lactamase OXA-143 in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob. Agents. Chemother.**, Londres, in press, mar.2014.

GRICE, E. A.; KONG, H. H.; CONLAN, S.; DEMING, C. B.; DAVIS, J.; YOUNG, A. C., *et al.* Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. **Science.**, v.324, p.1190-2, mai.2009.

GROTHS, P.; PINEAU, B.; KAC, G.; GUTMANN, L.; MEYER, G. Readmission of known MRSA carriers and MRSA colonization pressure in hospital. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, v.41, p.1181-6, jun.2013.

HARDY, K. J.; OPPENHEIM, B. A.; GOSSAIN, S.; GAO, F.; HAWKEY, P. M. A study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.27, n.2, p. 127-132, 2006. 100

HAYDEN, M. K.; BONTEN, M. J. M.; BLOM, D. W.; LYLE, E. A.; VAN DE VIJVER, D. A. M. C.; WEINSTEIN, R. A. Reduction in acquisition of vancomycin-resistant *Enterococcus* after enforcement of routine environmental cleaning measures. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v.42, p.1552-60, 2006.

HAYAKAWA, K.; MARCHAIM, D.; PALLA, M.; GUDUR, U. M.; PULLURU, H.; BATHINA, P. *et al.* Epidemiology of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis*: a Case-Case-Control Study. **Antimicrob. Agent. Chemother.**, v.57, n.1, p.49-55, jan.2013a.

HAYAKAWA, K.; MARCHAIM, D.; BATHINA, P.; MARTIN, E.T.; POGUE, J. M.; SUNKARA, B., *et al.* Independent risk factors for the co-colonization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the region most endemic for vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolation. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, Berlim, v.32, n.6, p.815-20, jun.2013b.

Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. Chapel Hill, 2008. Disponível em: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf. Acesso em: 09 mar. 2010.

HENDERSON, D. K. Managing methicillin-resistant *Staphylococci*: A paradigm for preventing nosocomial transmission resistant organism. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.34, p.36-54, jun. 2006.

HIGGINS, P. G.; POIREL, L.; LEHMANN, M.; SEIFERT, H. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D lactamase in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob. Agent. Chemother.**, Londres, v.53, n.12, p.5035-38, 2009.

HO, PAK-LEUNG. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, ceftazidime-resistant Gram-negative bacilli, and vancomycin resistant enterococci before and after intensive care unit admission. **Crit. Care. Med.**, v.31, p.1175-82, 2003.

HOLLENBECK, B. L.; RICE, L. B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. **Virulence.**, Austin, v.3, n.5, p.421-33, ago.2012.

HUANG, S. S.; DATTA, R.; PLATT, R. Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. **Arch. Inter. Med.**, Chicago, v.166, p.1945-51, out.2006.

HUSLAGE, K.; RUTALA, W. A.; BENNET-SICKBERT, E.; WEBER, D. J. A quantitative approach to defining "high touch" surfaces in hospitals. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.31, n.8, ago.2010.

HUANG, S.S.; DATTA, R.; RIFAS-SHIMAN, S.; KLEINMAN, K.; PLACZEC, H.; LANKIEWICZ, J.D. *et al.* Colonization with antibiotic-susceptible strains protects against

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* but not vancomycin-resistant *enterococci* acquisition: a nested case-control study. **Crit. care.**, Londres, v.15, p.2-10, 2011.

JACOBY, T. S.; KUCHENBECKER, R.S.; SANTOS, R. P.; MAGEDANS, L.; GUZATTO, P.; MOREIRA, L. B. Impact of hospital-wide infection rate, invasive procedures use and antimicrobial consumption on bacterial resistance inside an intensive care unit. **J. Hosp. Infection.**, Londres, p.1-5, mai.2009.

KALATA, N. L.; KAMANGE, L.; MUULA, A.S. Adherence to hand hygiene protocol by clinicians and medical students at Queen Elizabeth Central Hospital, Blantyre-Malawi. **Malawi. Med. J.**, Lilongwe, v.25, n.2, p.50-52, jun.2013.

KEMPF, M.; ROLAIN, J-M. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. **Int. J. Antimicrob. Agents.**, Amsterdam, v.39, p.105-114, fev.2012.

KIM, Y. J .; KIM, S.; KIM, Y. R.; LEE, J. Y.; PARK, Y. J .; KANG, M. W. Risk factors for vancomycin-resistant enterococci infection and mortality in colonized patients on intensive care unit admission. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.40, p.1018-9, dez.2012.

KNIGHT, G. M.; BUDD, E. L.; WHITNEY, L.; THORNLEY, A.; AL-GHUSEN, H.; PLANCHE, T., *et al.* Shift in dominant hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) clones over time. **J. Antimicrob. Chemother.**, Londres, v.67, p. 2514–22, out.2012.

KOLA, A.; HOLST, M.; CHABERNY, I. F.; ZIESING, S.; SUERBAUM, S.; GASTMEIER, P. Surveillance of extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria and routine use of contact isolation: experience from a three-year period. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.66, p.46-51, mai.2007.

KURAKAWA, T.; KUBOTA, H.; TSUJI, H.; MATSUDA, K.; TAKAHASHI, T.; RAMAMURTHY, T., *et al.* Intestinal *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli* populations in Japanese adults demonstrated by the reverse transcription-quantitative PCR and the clone library analyses. **J. Microbiol. Methods.**, Amsterdam, v.92, p.213-9, fev.2013.

LANDELLE, C.; PAGANI, L.; HARBARTH, S. Is patient isolation the single most important measure to prevent the spread of multidrug-resistant pathogens? **Virulence.**, Austin, v.4, n.2, p.163-71, fev.2013.

LARTIGUE, M-F.; ZINSIUS, C.; WENGER, A.; BILLE, J.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Extended-Spectrum β -Lactamases of the CTX-M Type Now in Switzerland. **Antimicrob. Agent. Chemot.**, Londres, v.51, n.8, p.2855–60, ago.2007.

LEE, A.S.; MACEDO-VINAS, M.; FRANCOIS, P.; RENZI, G.; SCHRENZEL, J.; VERNAZ, N. Impact of Combined Low-Level Mupirocin and Genotypic Chlorhexidine Resistance on Persistent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage After Decolonization Therapy: A Case control Study. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v.52, n.12, p.1422–30, jun.2011.

LIVERMORE, D. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. **Korean. J. Intern. Med.**, v.27, p.128-42, jun.2012.

LONGTIN, Y.; SUDRE, P.; FRANÇOIS, P.; SCHRENZEL, J.; ARAMBURU, C.; PASTORE, R. et al. Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: risk factors for infection, and long term follow up. **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.15, p.552-559, jun.2009.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v.111:1265-73, mai.2003.

LOWE, F. C.; MCGEER, A.; MULLER, M. P.; KATZ, K. For the Toronto ESBL Working Group. Decreased Susceptibility to Noncarbapenem Antimicrobials in Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Toronto, Canada. **Antimicrob. Agents. Chemother.**, Londres, v.56, n.7, p.3977-80, jul.2012.

LUCET, J. C.; PAOLETTI, X.; DEMONTPION, C.; DEGRAVE, M.; VANJAK, D.; VINCENT, C.; et al. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in home care settings. Prevalence, duration, and transmission to household members. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v.169, n.15, p.1372-8, ago.2009.

MACFARLANE, M.; LEAVY, A.; MCCAUGHAN, J.; FAIR, R.; REID, A.J.M. Successful decolonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in paediatric patients with cystic fibrosis (CF) using a three-step protocol. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.65, p.231-6, mar.2007.

MARTINEZ-CAPOLINO, C.; REYES, K.; JOHNSON, L.; SULLIVAN, J.; SAMUEL, L.; DIGIOVINE, B., et al. Impact of active surveillance on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* transmission and hospital resource utilization. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.74, p.232-7, mar.2010.

MARCHAIM, D.; NAVON-VENEZIA, S.; SCHWARTZ, D.; CARMELI, J. T.; FEFER, I.; SCHWABER, M.J., et al. Surveillance Cultures and Duration of Carriage of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.45, n.5, p.1551-5, mai.2007.

MARSHALL, C.; RICHARDS, M.; McBRYDE, E. Do Active Surveillance and Contact Precautions Reduce MRSA Acquisition? A Prospective Interrupted Time Series. **PLOS ONE**, San Francisco, v.8, 2012.

MARSCHALL, J.; MÜHLEMANN, K. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, according to risk factors for acquisition. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, .27, n.11, p.1206-12, nov.,2006.

MAYER, J.; MOONEY, B.; GUNDLAPALLI, A.; HARBARTH, S.; STODDARD, G. J.; RUBIN, M. A. Dissemination and Sustainability of a Hospital-Wide Hand Hygiene Program Emphasizing Positive Reinforcement. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.32, n.1, p.59-66, jan.2011.

MCCARTHY A.J.; BREATHNACH, A.S.; LINDSAY, J.A. Detection of mobile-genetic-element variation between colonising and infecting hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 50, p.1073–5, mar.2012.

McCUSKER, M.E.; PÉRISSÉ, A.R.S.; ROGHMANN, M.C. Severity-of-illness markers as predictors of nosocomial infection in adult intensive care unit. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.30, n.3, p.139-44, mai.2002.

MERMEL, L. A.; CARTONY, J. M.; COVINGTON, P.; MAXEY, G.; MORSE, D. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Colonization at different body sites: A prospective, quantitative analysis. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.49, n.3, p.1119-21, mar.2011.

MERTZ, D.; NURI, K.; O'NEILL, C.; LOEB, M and Hamilton Health Sciences Infection Prevention and Control Team. Algorithm to reduce unnecessary isolation days in patients with a history of colonization by antimicrobial-resistant organisms. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.41, p.1119-21, nov.2013.

MONGKOLRATTANOTHAI, K.; MANKIN, P.; RAJU, V.; GRAY, B. Surveillance for mupirocin resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Washington, v.29, p.993–4, mar.2008.

MURTHY, A.; DE ANGELIS, G.; PITTET, D.; SCHRENZEL, J.; UCKAY, I.; HARBARTH, S. Cost-effectiveness of universal MRSA screening on admission to surgery. **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.16, p.1747–53, dez.2010.

NAAS, T.; CUZON, G.; TRUONG, HV.; NORDMANN, P. Role of ISKpn7 and Deletions in blaKPC Gene Expression. **Antimicrob. Agent. Chemother.**, Londres, v.56, n.9, p.4753–4759, set.2012.

NORDMANN, P.; RONCO, E.; NAAS, T.; DUPORT, C.; MICHEL-BRIAND, Y.; LABIA, R. Characterization of a novel extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrob. Agent. Chemother.**, Londres, v.37, p.962-9, mai.1993.

NORDMANN, P.; POIREL, L.; DORTET, L. Rapid Detection of Carbapenemase producing Enterobacteriaceae. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.18, n.9, p.1503-7, set.2012.

NORDMANN, P.; POIREL, L. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. **J. Antimicrob. Chemother.**, Londres, v. 68, p. 487–9, mar.2013.

ODEH, R.; KELKAR, S.; HUJER, A.M.; BONOMO, R.A.; SCHRECKENBERGER, P.C.; QUINN, J. P. Broad resistance due to plasmid-mediated AmpC b-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli*. **Clin Infect Dis.**, Chicago, v.35, p.140–5, jul.2002.

O'FALLON, E.; GAUTAM, S.; D'AGATA, E.M.C. Colonization with multidrug-resistant gram-negative bacteria: prolonged duration and frequent cocolonization. **Clin. Infect. Dis.** Chicago, v.48, p.1375–1381, mai.2009.

OLIVEIRA, A. C.; CARDOSO, C. S.; MASCARENHAS, D. Intensive care unit professionals' knowledge and behavior related to the adoption of contact precautions. **Rev Latino-am. Enfermagem.**, São Paulo, v.17, n.5, p.625-31, set-out.2009. 104

OLIVEIRA, A.C.; SILVA, S.S.; DIAZ, M. E. P.; IQUIAPAZA, R. A. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Rev. Latino-Am. Enfermagem.**, São Paulo, v.18, n.6, p.[10 telas], dez.2010.

OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S.; PISCOYA, M.; NICOLI, J. R. Epidemiologic characteristics of resistant microorganisms present in reserves from an intensive care unit. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, p.1-3, mar.2012.

OPAZO, A.; DOMINGUEZ, B. H.; SEBASTIAN, G. B.; ROCHA, G.G. OXA-type carbapenemases in *A. baumannii* in South America. **J. Infect. Dev. Ctries.**, v.6, n.4, p.311-16, abr.2012.

OPLUSTIL, C. P. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. Edição, 2 Ed. São Paulo: Sarvier. 2004. 340p., 2004.

Organização Mundial de Saúde. World Alliance for patient Safety. Who guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge clean care is safer care. Geneva, 2009. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597906_eng.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2009.

World Health Organization (WHO). World Health Day – 7 April 2011. Antimicrobial resistance and its global spread. WHO, 2011. Disponível em: <http://www.who.int/world-health-day/2011>. Acesso em: 23 set. 2011.

O'SULLIVAN, O.; COAKLEY, M.; LAKSHMINARAYANAN, B.; CONDE, S.; CLAESSION, M.; CUSAK, S., *et al.* Alterations in intestinal microbiota of elderly Irish subjects post-antibiotic therapy. **J. Antimicrob. Chemother.**, Londres, v.68, p.214–221, set.2013.

PACIO, G. A.; VISINTAINER, P.; MAGUIRE, G.; WORMSER, G.P.; RAFFALLI, J.; MONTECLAVO, M.A. Natural history of colonization with Vancomycin-Resistant Enterococci, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, and Resistant Gram negative bacilli among long-term-care facility residents. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.24, p.246-250, abr.2003.

PAPADIMITRIOU-OLIVGERIS, M.; MARANGOS, M.; FLIGOU, F.; CHRISTOFIDOU, M.; BARTZAVALI, C.; ANASTASSIOU, E. D., *et al.* Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* enteric colonization upon ICU admission. **J. Antimicrob. Chemother.**, Londres, v.67, p. 2976–81, dez.2012.

PATEL, M.; WAITES, K. B.; HOESLEY, C. J.; STAMM, A. M.; CANUPP, K. C.; MOSER, S. A. Emergence of USA 300 in a tertiary medical centre: implications of epidemiological studies. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.68, p.208-213, mar.2008.

PATERSON, D. L. The molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase producing organisms. **Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.**, Barcelona, v.26, n.7, p.403,2008.

PIROFSKY, L. A.; CASADEVALL, A. The meaning of microbial exposure, infection, colonization, and disease in clinical practice. **Lancet Infect. Dis.**, Nova York, v.2, p.238-245, out.2002.

PITTET, D.; DONALDSON, L. Clean care is safer care: the first global challenge of the WHO world alliance for patient safety. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, p.476-9, nov.2005.

POIREL, L.; NAAS, T.; NORDMANN, P. Diversity, Epidemiology, and Genetics of Class D β -Lactamases. **Antimicrob Agent Chemother.**, Londres, v.54, n.1, p. 24–38, jan.2010.

RANDLE, J.; ARTHUR, A.; VAUGHAN, N. Twenty-four-hour observational study of hospital hand hygiene compliance. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.76, p.252-55, nov.2010.

RAZAZI, K.; DERDE, L. P. G.; VERACHTEN, M.; LEGRAND, P.; LESPRIT, P.; BRUN-BUISSON, C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria in the intensive care unit. **Intensive Care. Med.**, Nova York, 38:1769–78, nov.2012.

REILLY, J. S.; STEWART, S.; CHRISTIE, P.; ALLARDICE, G. M.; STARI, T.; MATHESON, A., *et al.* Universal screening for meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in acute care: risk factors and outcome from a multicentre study. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.80, p.31-5, jan.2012.

RICE, L. B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. **J. Infect. Dis.**, Oxford, v.197, p.1079-81, abr.2008.

RICE, L. B. Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Chicago, v. 31, no. s1, p.s7-s10, nov.2010.

RICE, L. B. Mechanisms of Resistance and Clinical Relevance of Resistance to β -Lactams, Glycopeptides, and Fluoroquinolones. **Mayo Clin Proc.** Oxford, v.87, n.2, p.198-208, fev.2012.

ROBINSON, C.J.; BOHANNAN, B.J.M.; YOUNG, V.B. From Structure to Function: the Ecology of Host-Associated Microbial Communities. **Microbiol. Molec. Biol. Reviews.**, v.74, n.3, p. 453–476, set.2010.

RODRIGUEZ- BANO, J.; GARCIA, L.; RAMIREZ, E.; MARTINEZ, L.; MUNIAIN, M. A.; *et al.* Long-term control of hospital-wide, endemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* through a comprehensive “bundle” approach. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.37, p.715-22, nov.2009.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. Resistencia bacteriana. Interpretando o antibiograma. 1 ed. São Paulo : Atheneu, 2005. p.118.

RUPPÉ, E.; PITSCH, A.; TUBACH, F.; LASTOURS, V.; CHAU, F.; PASQUET, B. Clinical predictive values of extended-spectrum beta-lactamase carriage in patients admitted to medical wards. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, Berlim, v.31, p.319–325, mar.2012.

RUSHTON, S.P.; SHIRLEY, M. D.F.; SHERIDAN, E. A.; LANYON, C. V.; O'DONNELL, A. G. O. The transmission of nosocomial pathogens in an intensive care unit: a space–time clustering and structural equation modeling approach. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, v.138, p.915–26, jun.2010.

RUTALA, A. W.; WHITE, M. S.; GERGEN, M. F.; WEBER, D. J. Bacterial contamination of keyboards: efficacy and functional impact of disinfectants. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.27, n.4, p.372-377, abr.2006.

SADER, H. S.; JONES, R. N.; GALES, A. C.; SILVA, J. B.; PIGNATARI, A. C.; PARTICIPANTES DO GRUPO SENTRY (AMÉRICA LATINA). SENTRY antimicrobial surveillance program report: latin american and brazilian results for 1997 through 2001. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v.8, n.1, p.25-79, fev.2004.

SAKKA, V.; TSIODRAS, S.; GALANI, L.; SOULI, M.; GALANI, I., PANTELAKI, M. Risk-factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.14, p.14–21, jan.2007.

SANGAL, V.; GIRVAN, E.K.; JADHA, V. S.; LAWES, T.; ROBB, A.; VALI, L.; EDWARDS, G.F.; YU, J.; GOULD, I. Impacts of a long-term programme of active surveillance and chlorhexidine baths on the clinical and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in an Intensive Care Unit in Scotland. **Int. J. Antimicrob. Agent.**, Amsterdam, v.40, p.323–331, out.2012.

SCHECHNER, V.; KOTLOVSKY, T.; KAZMA, M.; MISHALI, H.; SCHWARTZ, D.; NAVON-VENEZIA, S. *et al.* Asymptomatic rectal carriage of blaKPC producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: who is prone to become clinically infected? **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.19.n.5, p.451–456, mai.2013.

SEHULSTER, L. M.; CHINN, R. Y. W.; ARDUINO, M. J.; CARPENTER, J.; DONLAN, R.; ASHFORD, D., *et al.* Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations from Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Chicago, IL: American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association; 2004.

SEXTON, T.; CLARK, P.; O'NEILL, E.; DILLANE, T.; HUMPHREYS, H. Environmental reservoirs of methicillin-resistant staphylococcus aureus in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. **J Hosp Infect.**, Londres, v.62, n.2, p.187-94, fev.2006.

SIEGEL, J. D.; RHINEHART, E.; JACKSON, M.; CHIARELLO, L. HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. United states, 2007. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2009.

SIEGEL, J. D.; RHINEHART, E.; JACKSON, M.; CHIARELLO, L. HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE. Management of multidrug-resistant organisms in healthy care settings, 2006. United States, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/ar/mdroGuideline2006.pdf>>. Acesso em: 07 abr. 2010.

SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; GESSER, J. C.; SÁ, M. M. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Quim Nova.**, São Paulo, v.29, n.4, p.844-855, mar.2006.

SMITH, S. J.; YOUNG, V.; ROBERTSON, C. DANCER, S. J. Where do hands go? An audit of sequential hand-touch events on a hospital ward. **J. Hosp. Infection.**, Londres, p.1-6, mar.2012.

SNITKIN, E. S.; ZELAZNY, A. M.; GUPTA, J.; NISC Comparative Sequencing Program, PALMORE, T. N.; MURRAY, P. R., *et al.* Genomic insights into the fate of colistin resistance and *Acinetobacter baumannii* during patient treatment. **Gen. Research.**, v.23, p.1155-62, jul.2013.

SNYDER, G. M. ; O'FALLON, E.; D'AGATA, E. M. C. Co-colonization with multiple different species of multidrug-resistant Gram negative bacteria. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, p.1-5, ago.2011.

SOHN, K. M.; PECK, K. R.; JOO, E. J.; HA, Y. E.; KANG, C.; CHUNG, D. R. *et al.* Duration of colonization and risk factors for prolonged carriage of vancomycin-resistant *enterococci* after discharge from the hospital. **Int. J. Infect. Dis.**, Hamilton, v.17, p.240-6, abr.2013.

SOSTARICH, A. M.; ZOLLDMANN, D.; HAEFNER, H.; LUETTICKEN, R.; SCHULZE-ROEBECKE, R.; LEMMEN, S.W. Impact of multiresistance of gram negative bacteria in bloodstream infection on mortality rates and length of stay. **Infection.**, v.36, n.1, p.3105, 2008.

STECHER, B.; CHAFFRON, S.; KAPPELI, R.; HAPFELMEIER, S.; FRIEDRICH, S.; WEBER, T. C. Like will to like: abundances of closely related species can predict susceptibility to intestinal colonization by pathogenic and commensal bacteria. **Plos Pathogens.**, San Francisco, v.6, p.1-15, jan.2010.

STELFOX, H. T.; BATES, D. W.; REDELMEIER, D. A. Safety of patients isolated for infection control. **JAMA.**, Chicago, v.290, n.14, p.1899-1905, out.2003.

STENEHJEM E.; RIMLAND, D. MRSA nasal colonization burden and risk of MRSA infection. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.41, p.405-10, mai.2013.

STENEHJEM E.; RIMLAND, D.; CRISPELL, E. K.; STAFFORD, C.; GAYNES, R.; SATOLA, S. W. Cepheid Xpert MRSA cycle threshold in discordant colonization results and as a quantitative measure of nasal colonization burden. **J. Clin. Microbiol.**, Oxford, v.50, n.6, p.2079-81, jun.2012.

STONE, N.D.; LEWIS, D. R.; LOWERY, H. K.; DARROW, L. A.; KROLL, C. M.; GAYNES, R. P., *et al.* Importance of bacterial burden among methicillin-resistant

Staphylococcus aureus carriers in a long-term care facility. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.29, n.2, p.143-8, fev.2008.

TACONELLI, E. Screening and isolation for infection control. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.73, p.371-77, dez.2009.

TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **Am. J. Med.**, Nova York, v.119, s.6A, p.3-10, jun.2006.

THAMPI, N.; MORRIS, A. M. Pro/con debate: are barrier precautions cost-effective in improving patient outcomes in the intensive care unit? **Crit. Care.**, v.16, jan.2012.

THIBAUT, S.; CAILLON, J.; LEPELLETIER, D.; LOMBRAIL, P.; POTEL, G.; BALLEREAU, F., *et al.* Who are the carriers of MRSA in the community? A prospective study in the Pays de la Loire region of France. **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.16, p.915-920, jul.2010.

TOWNER, K. J. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.73, p.355-363, dez.2009.

TREACLE, A. M.; THOM, K. A.; FURUNO, J. P.; STRAUSS, S. M.; HARRIS, A.D.; PERENCEVICH, E. N. Bacterial contamination of health care workers' white coats. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.37, p.101-5, mar.2009.

THOMPSON-CHAGOYÁN, O. C.; MALDONADO, J.; GIL, A. Colonization and impact of disease and other factors on intestinal microbiota. **Dig. Dis. Sci.**, Nova York, v.52, p.2069-77, set.2007.

THURLOW, C. J.; PRABAKER, K.; LIN, M. Y.; LOLANS, K.; WEINSTEIN, R. A.; HAYDEN, M. K. Anatomic sites of patients colonization and environmental with *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at Long-Term Acute Care hospitals. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.34, n.1, p.56-61, jan.2013.

VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; SÁ, M. H. B. Bacteriologia geral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 582p.

VIKRAM, H. R.; DUMIGAN, D. G.; KOHAN, C.; HAVILL, N. L.; TAUMAN, A.; BOYCE, J. M. Discontinuation of contact precautions for patients no longer colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.31, n.5, mai.2010.

VIVONI, A.M.; SANTOS, K.R.; DE-OLIVEIRA, M.P., *et al.* Mupirocin for controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: lessons from a decade of use at a university hospital. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Nova Jersey, v.26, p.662-7, jul.2005.

VOULGARI, E.; POULOU, A.; KOUMAKI, V.; TSAKRIS, A. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: now that the storm is finally here, how will timely detection help us fight back? **Future Microbiol.**, Londres, v.8, n.1, p.27-39, jan.2013.

ZAHAR, J. R.; LANTERNIER, F.; MECHAI, F.; FILLEY, F.; TAIEB, F.; LANCIEN
MAINOT, E., *et al.* Duration of colonization by Enterobacteriaceae producing extended- 109
spectrum beta-lactamase and risk factors for persistent faecal carriage. Letters for Editor. **J.**
Hosp. Infect., Londres, v.75,p.73-84, mai.2010.

ZANDER, E.; BONNIN, R. A.; SEIFERT, H.; HIGGINS, P. G. Characterization of blaOXA-
143 Variants in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter pittii*. **Antimicrob. Agent.**
Chemother., Londres, v.58, n.5, p.2704, mai.2014.

ZHANG, X.; TOP, J.; BEEN, M.; BIERSCHENK, D.; ROGERS, M.; LEENDERTSE, M. *et*
al. Identification of a genetic determinant in clinical *Enterococcus faecium* strains that
contributes to intestinal colonization during antibiotic treatment. **J. Infect. Dis.**, Londres,
v.207, p.1780-6, jun.2013.

ZIMMERMAN, F. S.; ASSOUS, M. V.; BDOLAH-ABRAM, T.; LACHISH, T. Duration of
carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae following hospital discharge. **Am. J.**
Infect. Control., St. Louis,v.41,p.190-4, mar.2013.

YIGIT, H.; QUEENAN, A. M.; ANDERSON, G. J.; DOMENECH-SANCHEZ, A.;
BIDDLE, J. W.; STEWARD, C. D., *et al.* Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase KPC-1
from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob. Agent.**
Chemother., Londres, v.45, p.1151–61, abr.2001.

YLIPALOSAARI, P.; ALA-KOKKO, T.; LURILA, J.; OHTONEN, P.; SYRJÄLÄ, H.
Intensive care acquired infection is an independent risk factor for hospital mortality: a
prospective cohort study. **Crit. Care.**, v.10, n.2, p.1-6, 2006.

WIDDEL, F. Theory and Measurement of Bacterial Growth. Grundpraktikum Mikrobiologie,
4. Sem. (B.Sc.). Universität Bremen. Junho, 2010.

WILLWMSSEN, I.; ELBERTS, S.; VERHULST, C.; RIJNSBURGER, M.; FILIUS, M.;
SAVELKOUL, P., *et al.* Highly resistant Gram-negative microorganisms: incidence density
and occurrence of nosocomial transmission (TRIANGLE Study). **Infect. Control. Hosp.**
Epidemiol., Nova Jersey, v.32, n.4, p.333-41, abr.2011.

Inclusão dos pacientes colonizados por micro-organismos multirresistentes**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado (a) participar, voluntariamente do estudo **Aspectos epidemiológicos relacionados à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva**. Trata-se de um estudo em nível de doutorado vinculado a uma pesquisa do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Infecções Relacionadas ao Cuidar em Saúde (NEPIRCS/CNPq), da Escola de Enfermagem da UFMG.

O estudo tem por objetivo determinar os aspectos epidemiológicos relacionados à colonização de pacientes por micro-organismos multirresistentes (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.) em pacientes de uma Unidade de Terapia Intensiva, com seguimento após alta.

O participante (a) deverá permitir a coleta de amostras microbiológicas, que será realizada por meio de swabs de regiões do corpo de provável presença dos micro-organismos em estudo (narinas, virilha, feridas e reto), realizada por profissionais devidamente treinados em ambiente reservado e com toda respeito à sua intimidade.

Riscos: Não haverá riscos envolvidos para o paciente durante o procedimento de coleta das amostras microbiológicas nas regiões do seu corpo. O local do corpo em que o swab será rolado dependerá do tipo de micro-organismo que você seja portador durante a internação ou após a alta. Os locais do corpo de acordo com a presença dos micro-organismos são: Cavidade nasal (*Staphylococcus aureus*), períneo (*Enterococcus* spp., Enterobactérias), feridas (*Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) e virilhas (*Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp., Enterobactérias, *Klebsiella pneumoniae*).

Benefícios: A participação do paciente portador de micro-organismos multirresistentes neste estudo poderá contribuir para a determinação das características epidemiológicas destes micro-organismos presentes no serviço de saúde em estudo e possivelmente na comunidade. A determinação destas características é de importante relevância para o controle da disseminação dos micro-organismos multirresistentes em nível nacional e mundial. Os resultados obtidos a partir deste estudo poderão contribuir para o gerenciamento das medidas de controle das infecções relacionadas a assistência à saúde. E, diretamente poderá impactar na redução de custos hospitalares, essencialmente nas unidades de isolamento; consumo de equipamento de proteção individual, disseminação de micro-organismos multirresistentes na comunidade, transmissão horizontal deste além da maior qualidade e segurança do cuidado prestado ao paciente.

As dúvidas acerca dos riscos, benefícios, procedimentos serão esclarecidas sempre que solicitadas. O participante terá a liberdade de deixar de participar do estudo se o desejar a qualquer momento, sem quaisquer constrangimentos para si. **As informações obtidas neste estudo serão confidenciais, com preservação da identidade e, serão utilizadas apenas para fins de pesquisa.**

Ciente das informações acima, eu _____, aceito participar do estudo “Aspectos epidemiológicos relacionados à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva”.

Quésia Souza Damaceno – Doutoranda da Escola de Enfermagem da UFMG

Prof.^a Dr.^a Adriana C. de Oliveira - Coordenadora do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Infecções Relacionadas ao Cuidar em Saúde (NEPIRCS/CNPq), da Escola de Enfermagem da UFMG.

Escola de Enfermagem da UFMG - Av. Alfredo Balena 190, Santa Efigênia. Belo Horizonte, MG. CEP 30130100. Telefone: (31)3248-9855

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa/UFMG b

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II. Campus Pampulha - 2º andar. Belo Horizonte, MG - Brazil. CEP 31270-901. Telefone: (31) 34994592

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Projeto: CAAE – 0386.0.203.000-11

**Interessado(a): Profa. Adriana Cristina de Oliveira
Departamento de Enfermagem Básica
Escola de Enfermagem - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 21 de setembro de 2011, o projeto de pesquisa intitulado "**Aspectos epidemiológicos relacionados à colonização de pacientes em Unidade de Terapia Intensiva**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. T. Marques Amaral', is positioned above the name of the signatory.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**



**Universidade Federal de Minas Gerais
Hospital das Clínicas**

Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão

Belo Horizonte, 10 de outubro de 2011.

PROCESSO: Nº 114/11 “ÁSPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS RELACIONADOS À COLONIZAÇÃO DE PACIENTES EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA”

SR(A) PESQUISADOR(A):

Reportando-nos ao projeto de pesquisa acima referenciado, considerando sua concordância com o parecer da Comissão de Avaliação Econômico-financeira de Projetos de Pesquisa do HC e a aprovação pelo COEP/UFMG em 21/09/2011, esta Diretoria aprova seu desenvolvimento no âmbito institucional. Solicitamos enviar à DEPE **relatório** parcial ou final, após um ano.

Atenciosamente,

PROF.ª ANDRÉA MARIA SILVEIRA
Diretora da DEPE/HC-UFMG

À Sr.ª.
Prof.ª Adriana Cristina de Oliveira
Depto. Enfermagem Básica
Escola de Enfermagem- UFMG



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Registro CEP: 107/2011(Este número deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Belo Horizonte, 30 de janeiro de 2012

Ilma. Sra.
Dra. Adriana Cristina de Oliveira
Pesquisadora Responsável

Referência: "Aspectos epidemiológicos relacionados à colonização de pacientes em unidade de Terapia Intensiva."

Tendo em vista o parecer elaborado pelo relator, o protocolo de pesquisa foi aprovado do ponto de vista ético. Entretanto, para realização do projeto será necessário autorização explícita do chefe do CTI e do diretor clínico da Santa Casa de Belo Horizonte.

Atenciosamente,


Dr. Francisco das Chagas Lima e Silva
Coordenador do CEP