

Quésia Souza Damasceno

**Características epidemiológicas dos microrganismos
resistentes presentes em reservatórios de uma
Unidade de Terapia Intensiva**

Belo Horizonte

2010

Quésia Souza Damasceno

Características epidemiológicas dos microrganismos resistentes presentes em reservatórios de uma Unidade de Terapia Intensiva

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Área de concentração: Saúde e Enfermagem

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana C. de Oliveira

Belo Horizonte

Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais

2010

D155c Damasceno, Quésia Souza.
Características epidemiológicas dos microorganismos resistentes presentes em reservatórios de uma Unidade de Terapia Intensiva [manuscrito]. / Quésia Souza Damasceno. -- Belo Horizonte: 2010. 104f.: il.

Orientadora: Adriana Cristina de Oliveira
Área de concentração: Saúde e Enfermagem.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Infecção Hospitalar/epidemiologia. 2. Infecção Hospitalar/prevenção & controle. 3. Farmacorresistência Bacteriana. 4. Contaminação. 5. Descontaminação. 6. Unidades de Terapia Intensiva. 7. Meio-Ambiente. 8. Dissertações Acadêmicas. I. Oliveira, Adriana Cristina de. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. III. Título.

NLM: WX 167

Este estudo é parte de uma pesquisa do Núcleo de Estudos e Pesquisa em Infecções Relacionadas ao Cuidar em Saúde (NEPIRCS/CNPq), da Escola de Enfermagem da UFMG. Projeto subsidiado com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – APQ-00328-08.

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

Bolsa de Iniciação Científica concedida pela FAPEMIG.



Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Enfermagem
Programa de Pós Graduação

Dissertação intitulada “Características epidemiológicas dos microrganismos resistentes presentes em reservatórios de uma Unidade de Terapia Intensiva”, de autoria da mestranda Quésia Souza Damasceno, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Profª Drª Adriana Cristina de Oliveira
Escola de Enfermagem/UFMG
Orientadora

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

Profª Drª Denise de Andrade
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP
Examinadora

Belo Horizonte, 20 de maio de 2010

Ao meu pai, que deixou como exemplos a força e a determinação, e que sempre me incentivou na busca do conhecimento.

À minha mãe e aos irmãos, que compartilharam comigo mais esta etapa. Sem vocês não teria sido possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pelas oportunidades concedidas. "Quando sinto medo e penso que perdi meu caminho, ainda assim Tu estás bem ao meu lado..." (Amy Grant).

À professora Adriana Cristina de Oliveira, pela orientação, pelo investimento, pela presença constante, conferindo segurança nas horas de desafios e ansiedades, e por tornar o caminho possível. Também, pelo seu empenho no desenvolvimento do meu raciocínio crítico e pelo reforço dos valores éticos e do compromisso com tudo que assume realizar. Enfim, obrigada pelo aprendizado múltiplo dispensado nesses dois anos.

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

À professora Andrea Amaral, pela colaboração e recepção no Laboratório de Genética de Microrganismos do ICB/UFMG.

Ao professor Leonardo Vasconcellos, do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, pela gentil concessão das hemoculturas de rotina de pacientes da UTI adulto e discos de difusão do Imipenem.

À microbiologista Luciene França Reis Paiva, do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, pela concessão de material do CLSI.

À professora Silma Maria Pinheiro, pelas importantes considerações em ocasião do estudo piloto.

À Dalva, do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, que, eficientemente, rastreou e reservou todas as culturas da UTI adulto para este trabalho.

À professora Regina Nardi, pelos importantes apontamentos no decorrer dos ensaios e pela concessão do meio OF para identificação de *Acinetobacter baumannii*.

À Patrícia, Cláudia e William, do Laboratório de Genética de Microrganismos do ICB/UFMG, pelo acompanhamento no teste molecular.

À equipe de enfermagem do CTI adulto do Hospital das Clínicas da UFMG, pela recepção e interesse demonstrados no período de coleta das amostras.

Aos pacientes, que, quando conscientes, recebiam com curiosidade a investigação de seu ambiente.

Aos queridos colegas do Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Microrganismos do ICB/UFMG, com os quais aprendi muito: Ariane, Tássia, Glauciane, Sílvia, Flávia, Bianca, Fabiana, Samir, Fábio, Dayane, Michelle e Cléria.

Aos colegas do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Infecções Associadas ao Cuidar em Saúde (NEPIRCS), pela contribuição nas discussões do grupo e pelo companheirismo: Ivone, Maíra, Adriana Paula, Juliana, Camila, Henriqueta, Rafael e Flávia. Em especial, ao Mário, pelo auxílio com os testes estatísticos.

Às colegas do mestrado, que compartilharam tanto os momentos bons quanto os difíceis: Raquel, Allana, Líliam e Thábata.

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

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

Aos funcionários da cantina da Escola de Enfermagem, pela atenciosa reserva de gelo e pelo almoço, mesmo fora do horário.

“De manhã, semeia a tua semente, e de tarde não dêes descanso à tua mão, porque não sabes qual das sementes irá brotar, se esta ou aquela, ou se ambas serão boas.”

Eclesiastes 11,6

RESUMO

DAMASCENO, Q. S. Características epidemiológicas dos microrganismos resistentes presentes em reservatórios de uma Unidade de Terapia Intensiva, 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

O ambiente ocupado por pacientes colonizados ou infectados pode se tornar contaminado por bactérias resistentes e constituir um reservatório secundário, favorecendo a transmissão cruzada. A identificação de potenciais reservatórios de microrganismos de importância epidemiológica no ambiente hospitalar constitui uma importante medida de prevenção da sua disseminação. Objetivou-se determinar as características epidemiológicas de microrganismos de importância clínica quando presentes nas superfícies, soluções, equipamentos e hemocultura de pacientes de uma Unidade de Terapia Intensiva de Belo Horizonte. Tratou-se de um estudo transversal, realizado entre julho e outubro de 2009. As amostras foram obtidas de soluções degermante e por swabs das superfícies (monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, grade lateral da cama, torneira, mesa de cabeceira, estetoscópio e pia). As amostras ambientais sem diluições foram cultivadas em meios: Infuso de Cérebro e Coração (BHI), MacConkey e Agar Sabouraud a 37° por 48 horas. Os isolados bacterianos foram identificados pela morfologia da colônia, coloração de Gram, teste de catalase e Kit API. O teste de sensibilidade foi realizado com a utilização de antibiograma por disco de difusão para o imipenem, vancomicina, ceftriaxona e ciprofloxacina. Os isolados bacterianos com perfil de resistência aos antimicrobianos testados foram comparados às amostras de hemocultura pelo teste “*repetitive extragenic palindromic sequences*” (rep-PCR) para análise de similaridade. As análises foram realizadas nos laboratórios de Ecologia e Fisiologia de Microrganismos e de Genética de Microrganismos da Universidade Federal de Minas Gerais. Verificou-se importante contaminação de superfícies e equipamentos em UTI ($P < 0,004$). Os estetoscópios, ventiladores mecânicos e torneiras apresentaram as maiores médias de contaminação. Não houve contaminação da solução degermante (PVP-I 10%). Nos estetoscópios da unidade de isolamento, registrou-se a presença de *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina, *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii* multirresistente. Entre o isolado de *Acinetobacter baumannii* multirresistente detectado no ventilador mecânico e uma amostra de hemocultura de paciente houve 80% de similaridade. Consideráveis percentuais de similaridade (60-65% - IC: 85%), ainda foram observados entre outros isolados do ambiente e hemoculturas de pacientes. As similaridades entre os isolados bacterianos do ambiente e pacientes reforçam a importância da vigilância epidemiológica quanto a possibilidade da transferência horizontal de patógenos. Conclui-se, que as superfícies inanimadas frequentemente tocadas e equipamentos próximos ao paciente na UTI contaminam-se por bactérias resistentes, sugerindo relação clonal com isolados bacterianos de hemocultura de pacientes. Assim, observa-se a necessidade de reforçar as medidas de controle, redução e prevenção da disseminação de microrganismos resistentes, além de dedicar maior atenção à descontaminação de superfícies e equipamentos em UTI e à avaliação de sua eficácia, aspectos não analisados no estudo, mas de grande relevância nesse contexto.

Palavras chaves: Infecção hospitalar. Transmissão. Farmacorresistência bacteriana. Ambiente. Contaminação. Descontaminação.

ABSTRACT

DAMASCENO, Q. S. Epidemiological characteristics of resistant microorganisms present in reservoirs from an Intensive Care Unit. 2010. 104 s. Master of Science degree dissertation (Master's degree in nursing) - School of Nursing, Minas Gerais Federal University, Belo Horizonte, 2010.

The environment placed by colonized or infected patient may become infected by pathogenic bacteria and constitute a secondary reservoir favoring the cross infection. The identification of potential reservoirs of epidemiological important microorganisms in the hospital environment constitutes an indispensable measure of prevention of its spread. This study aimed to determine epidemiological characteristics of microorganisms of clinical importance when present on surfaces, equipments and in solutions and patient blood culture from an Intensive care Unit from Belo Horizonte. It was a cross-sectional study conducted from July to October 2009. Samples were obtained from the degermant soap and by swabs of surfaces on cardiac monitor, mechanical ventilator, bedside rail, faucet, bedside table, stethoscopes and sink. Concurrently to the environmental sample it was obtained routine culture from ICU adult patients. Environment samples without dilution were cultured onto Brain Heart Infusion (BHI), MacConkey and Sabouraud Agar at 37° for 48h. The bacteria were identified by colonial morphology, Gram stain, catalase and API Kit. The susceptibility test was performed by diffusion disc for imipenem, vacomycin, ceftriaxone and ciprofloxacin. The bacterial isolates from environment and routine cultures were compared by the repetitive extragenic palindromic sequences (rep-PCR) test for similarity analysis. The analyses were performed at the Ecology and Physiology of Microorganisms laboratory and Genetic of Microorganisms laboratory from Minas Gerais Federal University. It was verified an important contamination of surfaces and equipment from UTI ($P < 0,004$). The stethoscopes, mechanical ventilators and tap water showed the highest average of contamination. There wasn't contamination in the degermant solution (PVP-I 10%). On the stethoscopes from the isolation unit were detected Vancomycin resistant *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and multi-resistant *Acinetobacter baumannii*. Between one isolate of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* detected on the mechanical ventilator and a sample of blood culture patient there was 80% of similarity. Considerable percentage of similarity (60-65% - IC: 85%) were, still, observed among others bacterial isolates from the environment and patient blood cultures. The similarities among environment bacterial isolates and samples of patients blood cultures reinforce the importance of epidemiological surveillance regarding the chance of pathogens horizontal transference. In conclusion, inanimate surfaces frequently touched and equipments near by the patients in ICU contaminated by resistant bacteria suggest clonal relatedness with bacterial isolates from patient blood culture. Thus it is necessary to reinforce measures of control, reduction and prevention of multi drug-resistant microorganisms spread. In addition to better attention to surfaces and equipment decontamination in ICU and efficacy assessment, aspects of great relevance in this context, not evaluated in this study.

Key Words: Cross infection. Transmission. Bacterial drug resistance. Environment, Contamination. Decontamination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Teste de disco de difusão em ágar Muller Hinton com discos de ceftriaxona, ciprofloxacina e vancomicina.....	25
FIGURA 2 - Mecanismo de transformação genética em bactérias.....	28
FIGURA 3 - Mecanismo de conjugação em bactérias.....	29
FIGURA 4 - Mecanismo de transdução.....	30
FIGURA 5 - Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos.....	31
FIGURA 6 - Técnica de lavagem das mãos.....	44
QUADRO 1 - Coletas das amostras de superfícies, equipamentos e soluções em uma Unidade de Terapia Intensiva - Belo Horizonte, 2010.....	51
QUADRO 2 - Crescimento bacteriano das amostras obtidas de superfícies e equipamentos do quarto de isolamento e enfermaria de uma Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2010.....	62
QUADRO 3 - Distribuição dos isolados bacterianos resistentes recuperados de superfícies e equipamentos da unidade de isolamento de uma Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2010.....	64
QUADRO 4 - Distribuição dos isolados bacterianos resistentes recuperados de superfícies e equipamentos da enfermaria de uma Unidade de Terapia Intensiva – Belo Horizonte, 2010.....	65
FIGURA 7 - Distribuição de bactérias resistentes nas superfícies e equipamentos do quarto de isolamento da UTI adulto de um hospital universitário – Belo Horizonte, 2010.....	69
FIGURA 8 - Distribuição de bactérias resistentes nas superfícies e equipamentos dos leitos da enfermaria da UTI adulto de um hospital universitário – Belo Horizonte, 2010.....	70
FIGURA 9 - Perfil de bandas das amostras amplificadas pelo rep-PCR com o iniciador (GTG) 5.....	71
FIGURA 10 - Perfil de bandas das amostras amplificadas pelo rep-PCR com o iniciador BOX.....	72
FIGURA 11 - Agrupamento das bactérias Gram negativas de acordo com os perfis de bandas gerados pelo BOX- PCR.....	73
FIGURA 12 - Agrupamento das bactérias Gram positivas de acordo com os perfis de bandas gerados pelo BOX- PCR.....	74

FIGURA 13 - Agrupamento das bactérias Gram negativas de acordo com os perfis de bandas gerados pelo rep-PCR com o iniciador (GTG)5.....74

FIGURA 14 - Agrupamento das bactérias Gram positivas de acordo com os perfis de bandas gerados pelo rep-PCR com o iniciador (GTG)5.....75

LISTA DE TABELAS

1 - Padrões de susceptibilidade de <i>Acinetobacter baumannii</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – Programa MYSTIC do Brasil 2002.....	19
2 - Ponto de corte dos valores de MIC e zona do disco de difusão para classificação dos isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. quanto à susceptibilidade aos antimicrobianos testados, conforme padronização do CLSI 2009.....	27
3 - Espécies de importância epidemiológica identificadas das amostras de superfícies e equipamentos do quarto de isolamento e enfermaria de uma unidade de terapia intensiva – Belo Horizonte, 2010.....	63
4 – Média das unidades formadoras de colônias/ml das amostras de equipamentos em uma Unidade de Terapia Intensiva adulto de um hospital universitário – Belo Horizonte, 2010.....	64
5 - Média das unidades formadoras de colônias/ml das amostras de superfícies em uma Unidade de Terapia Intensiva adulto de um hospital universitário – Belo Horizonte, 2010.....	64
6 - Percentual de bactérias resistentes isoladas de hemoculturas de uma Unidade de Terapia Intensiva adulto de um hospital universitário – Belo Horizonte, 2010.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AHA - *American Hospital Association*
ATP - Trifosfato de Adenosina
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
CTI - Centro de Tratamento Intensivo
DEPE - Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão
ESBL - *Enterobacteriaceae* produtoras de betalactamases de espectro ampliado
FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
HICPAC – *Hospital Infection Control Practices Advisory Committee*
IRAS - Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
LEFM/UFMG - Laboratório de Ecologia e Fisiologia dos Microrganismos da Universidade Federal de Minas Gerais
MIC – *Minimal inhibitory Concentration*
MRSA - *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina
NNIS - *National Nosocomial Infections Surveillance*
OMS - Organização Mundial de Saúde
PBP- proteínas de ligação à penicilina
PCR - *reação em cadeia da polimerase*
PFGE – *Pulsed field gel electrophoresis*
PVP-I - Polivinilpirrolidona-iodo
RAPD - *Randomly Amplified Polymorphic DNA*
rep-PCR - *repetitive extragenic palindromic sequences*
SENTRY - Programa de Vigilância Epidemiológica e Resistência Antimicrobiana
SUS - Sistema Único de Saúde
UFC - unidades formadoras de colônias
UPGMA - *Unweighted pair-group*
UTI - Unidade de Terapia Intensiva
VRE – Enterococos resistentes à vancomicina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	22
3. REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1. Disseminação de bactérias resistentes no ambiente hospitalar	34
3.2. Medidas de controle da disseminação de microrganismos resistentes nos estabelecimentos de saúde	36
3.3. Descontaminação de superfícies e equipamentos hospitalares	41
3.4. Importância da higienização das mãos na prevenção da disseminação de microrganismos	43
3.5. Aplicação da epidemiologia molecular na identificação de reservatórios de bactérias resistentes	46
4. MATERIAL E MÉTODO.....	50
4.1. Delineamento do estudo	50
4.2. Local do estudo	50
4.3. Amostragem	50
4.4. Variáveis do estudo	53
4.5. Técnicas utilizadas para coleta das amostras	53
4.6. Análise microbiológica	54
4.7. Aspectos éticos	58
4.8. Tratamento dos dados	59
5. RESULTADOS	60
5.1. Perfil das espécies bacterianas isoladas das superfícies inanimadas, equipamentos versus isolados de hemoculturas de pacientes da Unidade de terapia Intensiva quanto à susceptibilidade antimicrobiana.....	64
5.2. Distribuição de bactérias resistentes isoladas de superfícies inanimadas e equipamentos na enfermaria e quarto de isolamento.....	68
5.3. Análise da similaridade dos isolados bacterianos resistentes obtidos das superfícies inanimadas, equipamentos e hemoculturas de rotina da Unidade de Terapia Intensiva	70
6. DISCUSSÃO.....	76
7. CONCLUSÃO	89
REFERÊNCIAS.....	91
ANEXOS.....	103

1. INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são definidas como aquelas adquiridas após a admissão do paciente com manifestação durante a internação ou após a alta quando relacionadas à internação ou procedimentos hospitalares. Entretanto, a ampliação do foco não restrito exclusivamente ao ambiente hospitalar se refere ao fato de que as IRAS podem ocorrer em todos os níveis de atenção à saúde, a exemplo dos ambulatórios, clínicas especializadas e assistência domiciliar. Devido a esse aspecto, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), no guideline para precauções de isolamento de 2007, substituiu o termo *infecção hospitalar* por *infecções relacionadas à assistência à saúde* (SIEGEL *et al.*, 2007).

As IRAS constituem, cada vez mais, um assunto de destaque, seja pela sua relevância, seja pelo impacto social, econômico e emocional, independente de suas taxas. Anualmente, nos Estados Unidos ocorrem mais de dois milhões de casos de infecções relacionadas à saúde, com cerca de 90 mil óbitos registrados. Estima-se, nesse contexto, que mais de cinco milhões de dólares são gastos (RUTALLA *et al.*, 2006).

No Brasil, apesar de não haver sistematização de informação sobre a incidência das IRAS, o Ministério da saúde (MS) aponta que estas ocorram em uma taxa global de 9%, sendo que os óbitos decorrentes atingem em média 14% (SANTOS *et al.*, 2005).

Dentre os microrganismos causadores das IRAS, as bactérias contribuem com aproximadamente 95% das infecções, com um percentual considerável de isolados bacterianos resistentes aos antimicrobianos. Os isolados bacterianos na forma resistente crescem mesmo em concentrações de antimicrobianos consideradas suficientes para inibir aqueles sensíveis – ou seja, crescem em doses já consideradas tóxicas. Tais isolados bacterianos são classificados como resistentes, podendo apresentar resistência a uma ou mais classes de agentes antimicrobianos (HOSPITAL INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE - HICPAC, 2006; WRIGHT, 2007).

A manifestação de resistência aos antimicrobianos pelos microrganismos, inicialmente, relaciona-se com a prescrição desses agentes para o tratamento das IRAS, ocasionando a pressão seletiva. O uso dos antimicrobianos pode selecionar cepas naturalmente resistentes ou aquelas previamente sensíveis, que adquiriram mecanismos de resistência. Entretanto, dada a falta de controle da situação, merece destacar a disseminação

de tais cepas, seja entre profissionais e pacientes, paciente e ambiente, e outras formas (HICPAC, 2006; VERMELHO, BASTOS, SÁ, 2007).

A resistência aos antimicrobianos é uma preocupação mundial e crescente. A transferência de microrganismos resistentes entre pacientes, possivelmente, ocorre via mãos dos profissionais de saúde, que podem se contaminar em ocasião de contato com o paciente e superfícies ambientais (SEHULSTER *et al.*, 2004).

As bactérias presentes nas mãos dividem-se em dois grupos: a) residentes; e b) transitórias. As residentes se encontram abaixo das células superficiais da epiderme; colonizam os animais, inclusive os seres humanos, a partir do nascimento; em condições de equilíbrio não causam doenças; e constituem a microbiota normal (TORTORA, FUNKE, CASE, 2005; OMS, 2009).

A microbiota transitória é composta por microrganismos presentes na camada mais superficial da pele; são facilmente removidas durante a lavagem das mãos; geralmente, não se multiplicam na pele, mas podem sobreviver; e sendo de fácil remoção, possivelmente são transferidos para diferentes locais, e assim microrganismos podem ser disseminados entre pacientes, superfícies do ambiente próximas desses, entre profissionais da saúde e pessoas que circulam no setor (TORTORA, FUNKE, CASE, 2005; OMS, 2006).

A presença de bactérias resistentes, a exemplo de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), na microbiota transitória das mãos dos profissionais de saúde e em superfícies inanimadas do ambiente hospitalar sugere a contaminação cruzada. De modo semelhante, pode ser observada a permanência de *Enterococcus* spp. resistente à Vancomicina (VRE) nessas superfícies por até quatro meses. A contaminação ambiental por VRE pode ser verificada em ambiente ocupado por pacientes colonizados e/ou infectados pelos microrganismos (SEHULSTER *et al.*, 2004; OMS, 2006; DREES, 2008).

De acordo com a *Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology* (APIC), são inaceitáveis práticas e comportamentos inseguros que coloquem em risco pacientes e profissionais de saúde. Nesse contexto, a conduta dos profissionais de saúde para a realização de medidas de controle da disseminação de microrganismos é de extrema importância. Apesar disso, a aderência dos profissionais a tais medidas é insatisfatória, a exemplo da adesão à higienização das mãos, com médias inferiores a 50% em quase todos os países (WARYE, MURPHY, 2008; OLIVEIRA, CARDOSO, MASCARENHAS, 2009).

A prevenção da disseminação de bactérias resistentes nos estabelecimentos de saúde se justifica pelas reduzidas alternativas de tratamento das infecções, devido a seu padrão de não resposta a determinados antimicrobianos, apesar das manifestações clínicas semelhantes àquelas originadas de organismos sensíveis. As infecções causadas por microrganismos resistentes prolongam o período de internação, elevam custos e provocam a mortalidade. As repercussões são percebidas também nos altos custos sociais, com decréscimo da produtividade e da qualidade de vida para os pacientes e familiares (HICPAC, 2006).

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; HICPAC, 2006).

A ocorrência das infecções causadas por microrganismos resistentes constitui um problema mundial de saúde pública. Bactérias resistentes, como *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus* spp., tornam-se cada vez mais comuns nas instituições de cuidados em saúde (TENOVER, 2006).

A descoberta dos antimicrobianos revolucionou o tratamento das infecções. Entretanto, sua utilização indiscriminada levou ao rápido aparecimento da resistência bacteriana, fato observado após a Segunda Guerra Mundial, com o surgimento de bactérias Gram positivas resistentes às penicilinas. Desde seu aparecimento, a resistência bacteriana apresenta prevalência crescente nos estabelecimentos de saúde (HICPAC, 2006; SILVEIRA, *et al.*, 2006).

O primeiro registro de MRSA ocorreu nos EUA, em 1968. Em 1999, o *National Nosocomial Infection Surveillance* (NNIS) registrou que mais de 50% dos isolados de *S. aureus* de pacientes em UTI constituíam MRSA. A crescente prevalência também se destaca com VRE, que entre 1990 e 1997 aumentou de menos de 1% para 15%. Em 2003, o NNIS registrou 28,5%. Para *Pseudomonas aeruginosa*, entre 1999 e 2003 houve um aumento de 23% para 29,5% de resistência as fluorquinolonas em UTI (HICPAC, 2006).

Atualmente, nos EUA 55% das infecções causadas por *Staphylococcus aureus* estão relacionadas à MRSA. Na França, o isolamento de bactérias resistentes varia de 30% a 40%, podendo atingir uma porcentagem de até 78% nas unidades de cuidados intensivos (GALLOISY-GUIBAL *et al.*, 2006).

Apesar de o perfil dos microrganismos resistentes variar de acordo com o estabelecimento de saúde no ambiente hospitalar, em diversos estudos a Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é apontada como a de maior atenção quanto à prevalência de microrganismos resistentes. A aquisição de infecção em UTI durante a internação constituiu fator de risco independente para a ocorrência de óbitos entre pacientes (CORONA-NAKAMURA *et al.*, 2001; HARDY *et al.*, 2006; HUANG, DATTA, PLAT, 2006; YLIPALOSAARI *et al.*, 2006).

A ocorrência das infecções em UTI pode ser favorecida pela gravidade do paciente, instabilidade do seu quadro clínico e necessidade de cuidados intensivos. Somam-se a isso fatores como limpeza, desinfecção e estrutura física (CORONA-NAKAMURA *et al.*, 2001; HARDY *et al.*, 2006; HUANG, DATTA, PLAT, 2006).

No Brasil, destacam-se algumas iniciativas, como: Programa de Vigilância Epidemiológica e Resistência Antimicrobiana (SENTRY) para a América latina e Brasil; e o estudo multicêntrico de vigilância anual *Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection* (MYSTIC) (SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004; MENDES *et al.*, 2005).

O SENTRY foi planejado para monitorar a susceptibilidade aos antimicrobianos dos microrganismos causadores das IRAS e de infecções na comunidade e as tendências da resistência bacteriana em escala global. Similarmente, o MYSTIC é um programa de vigilância longitudinal que acompanha o padrão de susceptibilidade de bastonetes gram negativos isolados de infecções nosocomiais aos antimicrobianos (SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004; MENDES *et al.*, 2005).

De acordo com resultados do SENTRY para a América Latina e Brasil, os bastonetes Gram negativos não fermentadores (*Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*) multirresistentes e as *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Proteus mirabilis*) produtoras de betalactamases de espectro ampliado (ESBL) constituem o principal problema de farmacorressistência desses países. Observam-se altas taxas de isolados resistentes, exceto às polimixinas, desde o início do programa, em 1997 (SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004).

Dos cocos Gram positivos, a resistência à oxacilina entre os estafilococos representa um importante problema na América Latina. Como visto, também nos Estados Unidos. Contudo, as taxas variam significativamente entre os hospitais e países, embora o percentual de isolados de *Staphylococcus aureus* sensíveis à oxacilina originados de casos de bacteremia do Brasil em comparação à América Latina tenha sido aproximado: 68,2% e 68,5%, respectivamente (SADER; JONES; GALES, *et al.*, 2004).

Uma análise do MYSTIC em sete centros brasileiros, distribuídos entre São Paulo, Rio de Janeiro, Florianópolis e Brasília, durante o ano de 2002, constatou que os microrganismos mais frequentes foram: *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, com elevadas taxas de resistência a todos antimicrobianos testados, inclusive carbapenêmicos, imipenem e meropenem (tabela 1) (MENDES *et al.*, 2005).

TABELA 1
Padrões de susceptibilidade de *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* – Programa MYSTIC do Brasil 2002

<i>Espécies/antimicrobianos</i>	<i>Sensível</i> %	<i>Intermediário</i> %	<i>Resistente</i> %	<i>MIC₅₀</i> µg/ml	<i>MIC₉₀</i> µg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=166)					
Imipenem	57,3	6,6	36,1	2	>32
Meropenem	59,8	7,1	33,1	0,75	>32
Ciprofloxacina	53,6	10,2	36,2	16	>32
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=86)					
Imipenem	88,4	1,2	10,4	0,75	>32
Meropenem	89,5	0,0	10,5	1	>32
Ciprofloxacina	31,4	12,8	55,8	32	>32

Fonte: MENDES *et al.*, 2005, p. 48 (adaptada informações apenas das espécies bacterianas de interesse nesse estudo).

A principal fonte desses microrganismos resistentes no ambiente hospitalar são os pacientes colonizados e/ou infectados. No entanto, equipamentos, superfícies inanimadas próximas ao paciente e frequentemente tocadas pelos profissionais, água e soluções podem se tornar contaminados, compondo potenciais reservatórios para infecções (HORAN, ANDRUS, DUDECK, 2008).

A possível participação do ambiente como reservatório de microrganismos de importância clínica – ou seja, de fácil disseminação, resistentes aos antimicrobianos, e emergente ou reemergente – já era questionada em meados de 1970. Todavia, o monitoramento ambiental foi desaconselhado, devido à não associação das taxas de IRAS

com os níveis de contaminação do ar ou superfícies ambientais, pela falta de padrões de níveis permissíveis de contaminação para essa avaliação (SEHULSTER *et al.*, 2004).

O questionamento da participação ambiental na disseminação de microrganismos ganhou recentemente novo destaque, em razão da contaminação de superfícies inanimadas por bactérias resistentes, apontado em diversos estudos, sendo possíveis reservatórios para as infecções (LEMMEN *et al.*, 2004; SEXTON *et al.*, 2006).

Em análise da disseminação por meio da relação clonal entre isolados bacterianos de paciente e ambiente, constatou-se a presença de isolados idênticos de MRSA nas enfermarias em distâncias consideráveis daqueles pacientes colonizados pelo mesmo isolado bacteriano (HARDY *et al.*, 2006).

A identificação de possíveis reservatórios para a prevenção da disseminação de microrganismos causadores de infecções nos estabelecimentos de saúde é uma importante estratégia para o controle da resistência bacteriana e das IRAS, por favorecer a revisão e elaboração de medidas preventivas (TALON, 1999; HARDY *et al.*, 2006; PETIGNAT *et al.*, 2006; SEXTON *et al.*, 2006; BOYCE, 2007).

Para a análise da disseminação ambiental de bactérias resistentes, observa-se que a utilização de métodos de tipificação molecular, associados aos de identificação bioquímica, podem auxiliar no esclarecimento de prováveis reservatórios desses microrganismos. Estes métodos tornam possíveis as análises de similaridade entre cepas isoladas no ambiente e no paciente (OSBORN; SMITH, 2005).

Uma similaridade entre isolados bacterianos de 70% ou mais pode conferir segurança da disseminação de uma mesma espécie. Amostras clínicas, como hemocultura de pacientes, merece destaque na análise de similaridades dos microrganismos identificados com aqueles isolados do ambiente por meio de técnicas de biologia molecular (WAYNE *et al.*, 1987).

Entretanto, a propósito da contribuição ambiental, ainda são necessários mais estudos para determinar as características epidemiológicas de microrganismos de importância clínica quando presentes nas superfícies, soluções, equipamentos, e, possível similaridade com isolados de amostras de pacientes.

A determinação dessas características constitui fundamental importância para a descrição de possíveis reservatórios de microrganismos resistentes no ambiente hospitalar, pois, apesar da possibilidade de contaminação desse ambiente, o perfil e a ocorrência dos microrganismos variam conforme o estabelecimento de saúde.

Embora se considere a possibilidade de contaminação do ambiente hospitalar por microrganismos de relevância clínica, ainda não se conhecem a distribuição e a susceptibilidade aos antimicrobianos da microbiota presente nas superfícies, soluções e equipamentos da UTI adulto de Belo Horizonte escolhida para este estudo, tais como: espécies de importância epidemiológica, susceptibilidade dos isolados aos antimicrobianos utilizados e possível relação com isolados de hemocultura de pacientes desta UTI.

Portanto, nesse contexto, tornou-se relevante questionar se há relação entre os isolados de pacientes em hemocultura de rotina e a possível contaminação de superfícies inanimadas, equipamentos e soluções de uma UTI, considerando-se os microrganismos de maior prevalência apontados na literatura e de importância epidemiológica na instituição (*Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus* spp.).

Espera-se com os resultados obtidos contribuir para maior divulgação da participação do ambiente na transmissão cruzada de microrganismos; nortear a revisão ou implementação das políticas de controle do ambiente; cooperar para aproximação dos resultados com a realidade da prática assistencial, fornecendo dados que permitam aos profissionais repensar condutas e seu papel na interrupção da cadeia de transmissão; e, sobretudo, favorecer a adesão às recomendações de biossegurança, entendidas como adesão ótima à higienização das mãos e cuidados individuais e coletivos, com a adoção de precauções específicas às doenças, de forma a assegurar o exercício das atividades assistenciais com maior segurança (OLIVEIRA, 2005).

A divulgação dos resultados poderá, ainda, colaborar para a estimulação de iniciativas como o uso criterioso dos antimicrobianos, considerando a emergência da resistência bacteriana em bactérias comensais. Este aspecto desperta a atenção para microrganismos até então considerados pouco virulentos, com destaque para *Staphylococcus epidermidis*.

Almeja-se que os resultados deste estudo colaborem também para o conhecimento da microbiota do ambiente da UTI adulto, seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e possível similaridade com isolados bacterianos de hemoculturas do setor, assim como para a identificação dos objetos e superfícies mais frequentemente contaminados com potencial de reservatório de patógenos que necessitem de maior atenção na prática diária e medidas de controle da disseminação ambiental.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

- ❖ Determinar as características epidemiológicas de microrganismos de importância clínica quando presentes nas superfícies, soluções, equipamentos e hemocultura de pacientes de uma Unidade de Terapia Intensiva.

Objetivos específicos

- ❖ Identificar as espécies bacterianas isoladas de superfícies, soluções e equipamentos;
- ❖ Definir o perfil das bactérias isoladas quanto à susceptibilidade antimicrobiana;
- ❖ Verificar possível relação clonal entre os isolados bacterianos isolados em unidades do paciente na Unidade de Terapia Intensiva e aqueles obtidos de hemoculturas de pacientes;
- ❖ Mapear a prevalência de microrganismos isolados segundo sua localização quanto às superfícies inanimadas (grade da cama, mesa de cabeceira, torneira e pia), equipamentos (monitor de função cardíaca, ventilador mecânico e estetoscópio) e soluções (PVP-I, sabão e desinfetantes).

3. REVISÃO DE LITERATURA

Atualmente, as IRAS destacam-se como um dos principais desafios à garantia de um cuidado seguro, seja no âmbito hospitalar, seja nos cuidados domiciliares (PITTET, 2005).

No entanto, não se trata de um fato recente. Desde a Idade Média há relatos da disseminação de infecções nas instituições que abrigavam, indiscriminadamente, sem condições sanitárias adequadas, doentes, peregrinos, pobres e inválidos (FONTANA, 2006).

A partir do século XVIII, os hospitais receberam uma conotação de local para medicalização, e não apenas de abrigo. Até então as pessoas obtinham atendimento médico em domicílio. As condições sanitárias desses hospitais foram melhoradas apenas no século XIX, a partir das intervenções de Florence Nightingale, que destacou a importância da limpeza, luz, calor e ar puro para a recuperação da saúde. Na mesma época, por volta de 1847, foi também preconizada a higienização das mãos, por Semmelweis. Essas intervenções constituíram as primeiras medidas de prevenção da disseminação de infecções no ambiente hospitalar (FONTANA, 2006).

Apesar do controle ambiental preconizado, existiam outras fontes para infecções, como o próprio tratamento das doenças com técnicas cada vez mais invasivas, a exemplo das cirurgias, sem assepsia. Ou seja, não havia garantia da ausência de microrganismos nos instrumentais. Ressalta-se que o conhecimento microbiológico foi efetivamente associado à prática hospitalar no século XX, impulsionado pelo avanço científico e tecnológico (FERNANDES, 2000).

O tratamento das infecções por meio de antibióticos – isto é, seu uso clínico – só ocorreu no século XX, embora, o isolamento de princípios ativos seja observado desde o século XVI, com os alquimistas. O termo *antibiótico* originou-se de *antibiose*, definido como “antagonismo aos seres vivos em geral” (FERNANDES, 2000).

O uso clínico dos antibióticos, a partir da década de 1940, com as penicilinas, trouxe a ideia de que 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 do surgimento de isolados resistentes a eles (FERNANDES, 2000; ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

A apresentação de mecanismos de resistência pelas bactérias foi provavelmente favorecida pelo uso inadequado dos antimicrobianos. Por volta das décadas 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; ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

De acordo com a terminologia estabelecida, incluem na categoria de resistentes os isolados bacterianos com crescimento *in vitro* nas concentrações séricas de antimicrobianos (*Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI, 2009*).

Os parâmetros para a avaliação da susceptibilidade antimicrobiana – ou seja, a comparação da inibição dos isolados pelos agentes antimicrobianos – são propostos por um subcomitê composto por microbiologistas, agências governamentais, profissionais de saúde, educadores e farmacêuticos, cujos objetivos são:

- 1) desenvolver métodos de referência padrão para testes de susceptibilidade antimicrobiana;
- 2) prover parâmetros de controle de qualidade para os testes;
- 3) estabelecer critérios interpretativos para os resultados dos testes de susceptibilidade antimicrobiana padronizados;
- 4) prover sugestões para testes e estratégias de relatos clinicamente relevantes e custo-efetivo;
- 5) otimizar continuamente os padrões utilizados e detecção de mecanismos emergentes de resistência mediante a revisão e o desenvolvimento de novos métodos, critérios de interpretação, e parâmetros de controle de qualidade;
- 6) educação dos usuários, por meio da comunicação de padrões e manuais; e
- 7) prover o diálogo entre os usuários dos métodos.

Os métodos utilizados para a análise da susceptibilidade *in vitro* de microrganismos aos antimicrobianos são: técnica de disco de difusão em Agar; e técnica da diluição de antimicrobianos em ágar ou caldo (CLSI, 2009).

Na técnica de diluição, a atividade antimicrobiana *in vitro* de um agente contra um isolado bacteriano é mensurada quantitativamente para várias concentrações que podem ser testadas. Nesta técnica, pode-se determinar a concentração inibitória mínima (MIC) de um antimicrobiano para determinado isolado bacteriano. As concentrações testadas derivam, tradicionalmente, da diluição seriada (duas vezes). O MIC trata-se da menor concentração do antimicrobiano capaz de inibir o crescimento de um microrganismo. Sua determinação na prática clínica tem fundamental importância, pois indica a concentração necessária desses no

local da infecção para inibir o microrganismo causador. No entanto, não representa um valor absoluto (CLSI, 2009).

A determinação da concentração inibitória mínima de um antimicrobiano favorece a escolha de uma dosagem adequada, evitando o seu uso indiscriminado. Conseqüentemente, a escolha da dose correta pode prevenir ou adiar a resistência bacteriana (CLSI, 2009).

Na análise da susceptibilidade *in vitro* de microrganismos aos antimicrobianos por meio do disco de difusão, observa-se a presença ou ausência de uma zona de inibição. A zona, ou halo, de inibição é determinada pela medida do diâmetro em torno do disco impregnado pelo antimicrobiano no qual foi verificado a ausência do crescimento do microrganismo testado (CLSI, 2009).

O halo de inibição em torno do disco pela técnica padronizada, conforme o CLSI, deve correlacionar-se com o MIC para aquele microrganismo. O diâmetro do halo de inibição é mensurado em milímetros (Figura 1) (CLSI, 2009).

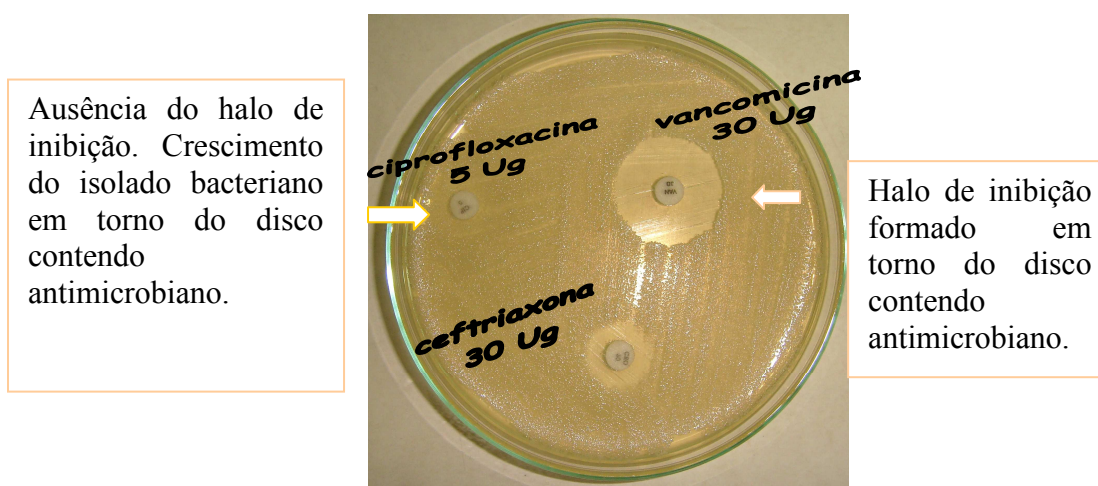


FIGURA 1 - Teste de disco de difusão em ágar Muller Hinton com discos de ceftriaxona, ciprofloxacina e vancomicina

As análises da susceptibilidade *in vitro* de microrganismos aos antimicrobianos são indicadas quando o microrganismo causador da infecção está relacionado às espécies que podem apresentar resistência aos antimicrobianos comumente utilizados.

Nos testes de rotina, a seleção dos antimicrobianos para a verificação da susceptibilidade de microrganismos é baseada no consenso do laboratório clínico, em conformidade com os controladores das infecções, farmácia, terapeutas e comissões de controle de infecção. As recomendações do CLSI quanto ao teste dos antimicrobianos para

cada grupo de microrganismos considera agentes de eficácia comprovada com aceitável atividade nos testes *in vitro*.

Os agentes antimicrobianos são classificados para uso de acordo com a sua eficácia clínica, prevalência de resistência, custos e recomendações em consenso para a escolha primária ou alternativa de um antimicrobiano, entre outros aspectos. Quanto à utilização de um agente antimicrobiano estes podem ser classificados pela escolha de uso primário, secundário ou alternativo (CLSI, 2009).

Para o controle da qualidade dos testes, recomenda-se a utilização de isolados da coleção *American Type Culture Collection* (ATCC), que, sabidamente, são inibidos (controle positivo) ou não (controle negativo) pelo agente antimicrobiano para as espécies testadas (CLSI, 2009).

Os resultados dos testes de susceptibilidade *in vitro* dos microrganismos aos antimicrobianos são reportados em três categorias:

a) Isolados sensíveis – com o crescimento inibido em concentrações usuais do agente antimicrobiano para tratamento das infecções. Na leitura do antibiograma, os isolados sensíveis apresentam maiores halos de inibição em torno do disco contendo antimicrobiano.

b) Isolados intermediários – apresentam o valor de MIC próximo à concentração sérica do antimicrobiano, com possibilidade de menor inibição do crescimento em comparação aos sensíveis.

c) Isolados resistentes – com crescimento nas concentrações testadas. Ou seja, não são inibidos na presença do antimicrobiano. Para os isolados resistentes, observam-se halos menores ou ausentes em torno do disco contendo antimicrobiano.

Para categorizar os isolados bacterianos como sensíveis, intermediários ou resistentes nos testes por discos de difusão, os halos de inibição são mensurados em milímetros e comparados aos pontos de corte das medidas do halo específicos para cada espécie bacteriana e antimicrobianos nas concentrações testadas.

Quanto à leitura dos testes de diluição dos antimicrobianos são registradas as concentrações mínimas do antimicrobiano, na qual foi observada inibição do crescimento do isolado bacteriano, em comparação com os pontos de corte do MIC, específicos para cada espécie bacteriana e antimicrobianos nas concentrações testadas.

Na tabela 2, são apresentados os pontos de corte de acordo com a medida do halo de inibição e concentração inibitória mínima para as espécies *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. em relação a alguns antimicrobianos utilizados na instituição em estudo: ceftriaxona, ciprofloxacina, imipenem e vancomicina.

TABELA 2

Valores de MIC e halo do disco de difusão para classificação dos isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. quanto à susceptibilidade aos antimicrobianos testados, conforme padronização do CLSI 2009

Espécie bacteriana	Antimicrobiano	Ponto de corte – disco de difusão (milímetros)			Ponto de corte do MIC (microlitros por ml)		
		S	I	R	S	I	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ciprofloxacina 5 µg	≥ 21	16-20	≤15	≤1	2	≥4
	Ceftriaxona 30 µg	≥ 21	14-20	≤13	≤8	16-32	≥64
	Imipenem 10 µg	≥16	14-15	≤13	≤4	8	≥16
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Ciprofloxacina 5 µg	≥21	16-20	≤15	≤1	2	≥4
	Ceftriaxona 30 µg	≥21	14-20	≤13	≤8	16-32	≥64
	Imipenem 10 µg	≥16	14-15	≤13	≤4	8	≥16
<i>Staphylococcus</i> spp.	Ciprofloxacina 5 µg	≥21	16-20	≤15	≤1	2	≥4
	Ceftriaxona 30 µg	≥21	14-20	≤13	≤8	16-32	≥64
	Vancomicina – <i>S. aureus</i>	-	-	-	≤2	4-8	≥16
	Vancomicina – Estafilococos coagulase negativo	-	-	-	≤4	8-16	≥32
<i>Enterococcus</i> spp.	Ciprofloxacina 5 µg	≥21	16-20	≤15	≤1	2	≥4
	Vancomicina 30 µg	≥17	15-16	≤14	≤4	8-16	≥32

Fonte: *Clinical and Laboratory Standards Institute*, v. 29, n. 3, 2009, p. 45-58, 61-62. (adaptada para restrição apenas de interesse neste estudo).

S = sensível, I = intermediário, R = resistente

Algumas bactérias apresentam resistência natural a uma ou mais classes de antimicrobianos. Entretanto, um aspecto preocupante sobre a resistência bacteriana é a seleção de isolados resistentes em populações susceptíveis, que, sob a pressão seletiva de antibióticos, proliferam e disseminam no ambiente hospitalar ou, mesmo, na comunidade (TENOVER, 2006).

Os mecanismos de resistência adquiridos podem ser: efluxo do antimicrobiano; aquisição de genes codificadores de enzimas, como as beta-lactamases; alteração da parede celular nos sítios de ligação; e limitação do acesso da droga ao alvo intracelular (TENOVER, 2006).

Populações sensíveis também podem adquirir resistência pela transferência de material genético de outras bactérias resistentes, por meio da transformação, conjugação ou transdução com transposons. Este processo facilita a incorporação de genes, codificadores de resistência aos diversos antimicrobianos, para o genoma de uma bactéria sensível ou seu plasmídeo, tornando-a multirresistente (TENOVER, 2006).

No mecanismo de transformação (Figura 2), o material genético dispersado no meio é incorporado ao genoma de uma célula bacteriana receptora (VERMELHO, BASTOS, SÁ, 2007).

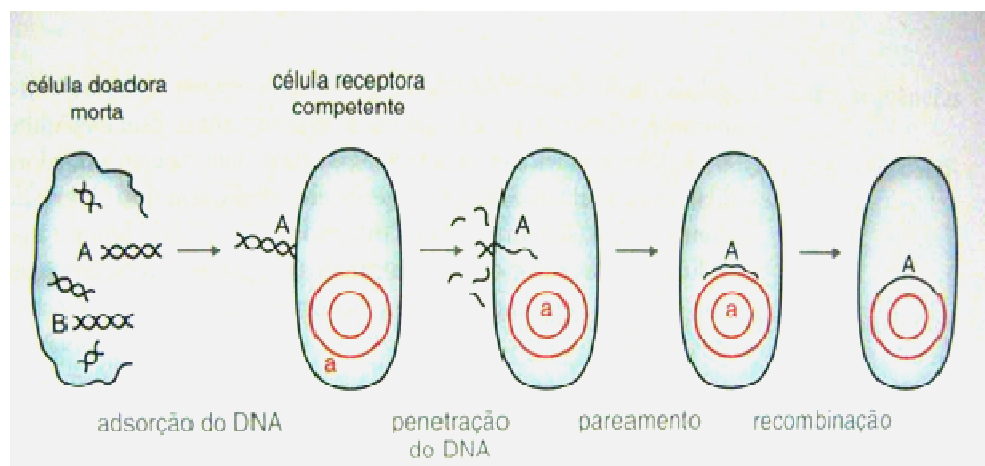


FIGURA 2 - Mecanismo de transformação genética em bactérias

Fonte: VERMELHO, BASTOS, SÁ, 2007, p. 473.

Na conjugação (Figura 3), geralmente ocorre a transferência do DNA do plasmídeo de uma célula bacteriana para outra. Pode ocorrer entre diferentes espécies e gêneros, a exemplo da transferência de genes codificadores de resistência aos antimicrobianos. No ambiente hospitalar, entre bactérias de importância epidemiológica essa

transferência de material genético possivelmente favorece a aquisição de múltiplos genes de resistência (SHERLEY *et al.*, 2004).

A colonização e/ou infecção de pacientes por mais de um tipo de microrganismo resistente, 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.

O surgimento de microrganismos multirresistentes em UTI ainda pode ser favorecido pela pressão seletiva causada pela diversidade de agentes antimicrobianos utilizados para tratamento das infecções.

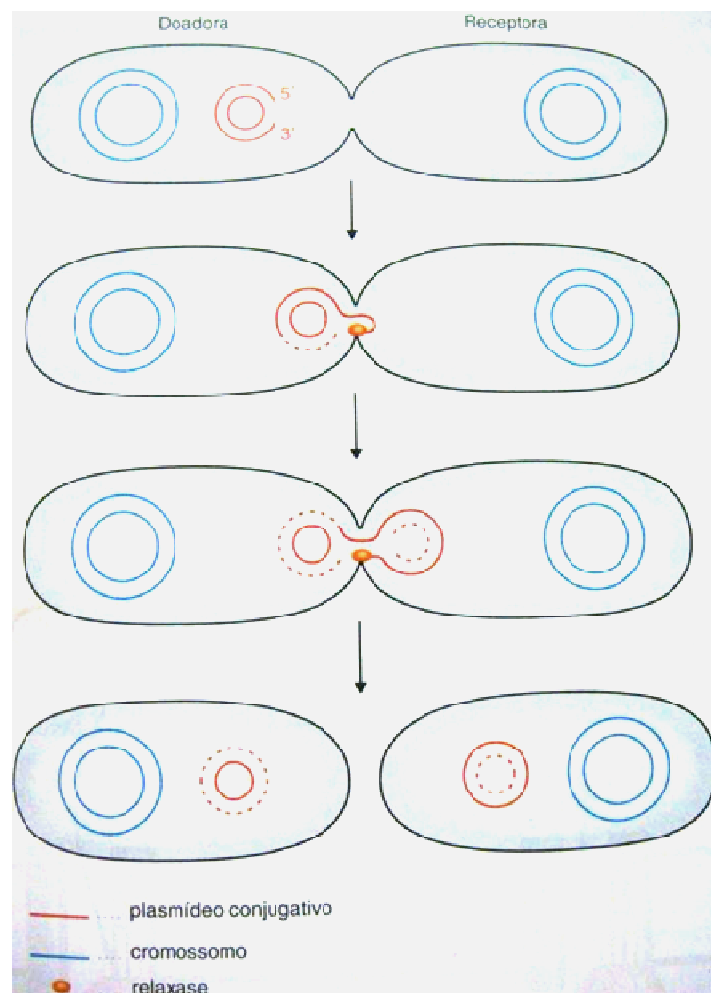


FIGURA 3 - Mecanismo de conjugação em bactérias

Fonte: VERMELHO, BASTOS, SÁ, 2007, p. 485.

Na transdução (Figura 4), há transferência de material genético entre bactérias por meio de um bacteriófago; vírus que se replica em bactérias, constituindo vetor para transferência de genes entre elas (VERMELHO, BASTOS, SÁ, 2007).

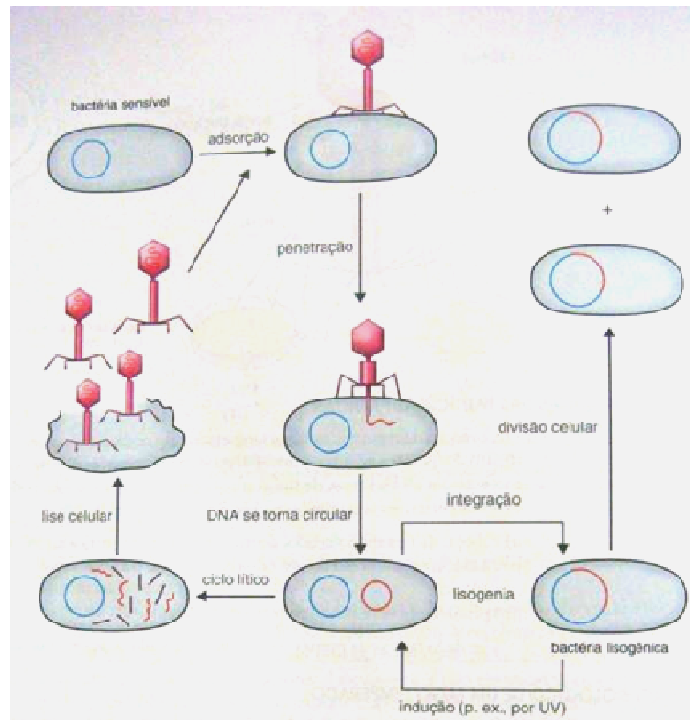


FIGURA 4 - Mecanismo de transdução

Fonte: VERMELHO, BASTOS, SÁ, 2007, p. 496.

Para os propósitos epidemiológicos, microrganismos multirresistentes são aqueles (principalmente, bactérias) que apresentam resistência a mais de um antimicrobiano. De acordo com o guideline para controle dos microrganismos resistentes nos estabelecimentos de saúde, atenção especial deve ser conferida ao controle de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e enterococos resistentes à vancomicina, e de certos bacilos Gram negativos (BGN), inclusive os produtores de beta-lactamases de amplo espectro, e *Acinetobacter baumannii*, devido à frequência de resistência destes aos principais antimicrobianos disponíveis e registros atualmente na comunidade (HICPAC, 2006).

Os betalactâmicos ainda hoje são muito utilizados, em razão da sua efetividade, baixo custo e efeitos adversos mínimos. Atuam na formação da parede celular bacteriana, conferindo ligações mais fracas no peptidoglicano, resultando em lise celular (WILK, LOVERING, STRYNADKA, 2005).

Os mecanismos gerais de resistência aos beta-láctamicos são: inativação do antibiótico pelas beta-lactamases produzidas por diversas espécies bacterianas; modificação das proteínas de ligação à penicilina (PBP); comprometimento da penetração do antibiótico até as PBP alvo; e presença de uma bomba de efluxo. A alteração das PBP alvo foi observada em estafilococos resistentes à meticilina (KATZUNG, 2005; WILK, LOVERING, STRYNADKA, 2005).

Dentre os mecanismos de resistência, o mais comum é a produção de beta-lactamases, sendo que já foram identificados mais de 470 tipos, sendo classificadas em quatro classes, de A a D, de acordo com a semelhança. O comprometimento da penetração do antibiótico é comum nos Gram negativos, devido à falta de permeabilidade da membrana externa destes, como pode ser visto na figura 5 (KATZUNG, 2005; WILK, LOVERING, STRYNADKA, 2005).

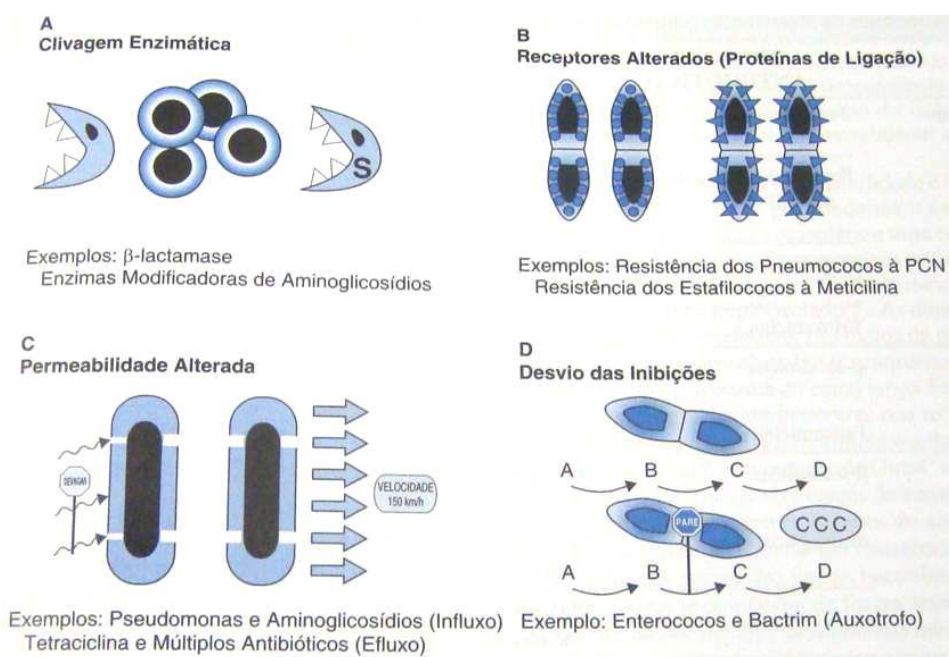


FIGURA 5 - Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos

Fonte: WINN JR *et al.*, 2008, p. 945.

Diversos são os mecanismos de resistência adquiridos ou naturais de uma espécie de microrganismo. Tal aspecto reforça o desafio da resistência bacteriana em relação à disponibilidade de antimicrobianos para tratamento das infecções por microrganismos resistentes, evidenciando a necessidade de maior controle de disseminação deles.

No caso das beta-lactamases, destaca-se que essas enzimas estão amplamente disseminadas entre bactérias Gram negativas e Gram positivas. Essas enzimas atuam na degradação ou modificação do antibiótico antes que este atinja seu sítio de ação. Um grupo amida do anel beta-lactâmico é hidrolizado por tais enzimas (WILK, LOVERING, STRYNADKA, 2005).

Das famílias de beta-lactâmicos penicilinas, cefalosporinas (cefalotina, ceftriaxona), monobactâmicos (aztreonam) e carbapenêmicos (imipenem, meropenem), a última não apresenta hidrólise por beta-lactamases devido à sua diferente configuração estereoquímica no anel lactâmico. Neste caso, os carbapenêmicos, a exemplo do imipenem, tornam-se uma escolha para tratamento de infecções por espécies produtoras de beta-lactamases. No entanto, o imipenem pode ser hidrolizado por todos tipos de metalo- β -lactamases produzidas por algumas bactérias gram negativas, a exemplo de *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* (BORGSMANN *et al.*, 2004; KATZUNG, 2005).

De acordo com estudos moleculares, há dois tipos de enzimas que hidrolizam os carbapenêmicos descritas: enzimas serinas, que possuem uma fração serina no seu sítio ativo; e metalo- β -lactamases (MBLs), que requerem cátions divalentes, geralmente o zinco, como cofator metálico para a atividade enzimática. Observa-se que elas podem ser inibidas pelo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), assim, como outros agentes quelantes de íons divalentes (WALSH, 2005).

Quanto à bomba de efluxo, existem cinco famílias de proteínas, todas associadas com a multirresistência aos antimicrobianos, a saber: superfamília ABC (*ATP-binding cassette*); os fatores principais (*major facilitator superfamily* - MFS); família de exclusão (*multidrug and toxic-compound extrusion* - MATE); pequena resistência à múltiplas drogas (*small multidrug resistance* - SMR); e resistência-nodulação-divisão (RND). A classificação das famílias baseia-se no número de componentes, no número de regiões transmembranares que a proteína transportadora possui, na fonte de energia utilizada e no tipo de substrato exportado pela bomba (PIDDOCK, 2006).

A bomba de efluxo, possivelmente, constitui o mecanismo mediador quando há aumento simultâneo da concentração inibitória mínima para três ou mais antimicrobianos por um isolado bacteriano de paciente em particular quando comparada à mesma espécie susceptível ou a este isolado antes da terapia. Alguns microrganismos, a exemplo de *Pseudomonas aeruginosa*, apresentam mais de uma família de proteína de bomba de efluxo (PIDDOCK, 2006).

No tratamento das infecções causadas por bactérias Gram positivas, a vancomicina possui potente atividade, afetando a formação do peptídeoglicano da parede celular desses microrganismos. Este antibiótico constitui terapia indicada para tratar infecções causadas por *Staphylococcus aureus*. Entretanto, na Europa, em 1988, foram isolados os primeiros casos de enterococos resistentes à vancomicina (VRE) e, em 2002, nos EUA, detectou-se *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA). A colonização intestinal por VRE de pacientes com longo tempo de internação pode resultar em fonte de infecções para imunocomprometidos (CDC, 2002a; SILVEIRA, *et al.*, 2006).

No Brasil, observa-se maior prevalência de Gram negativos, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, com destaque para as UTI, com isolados resistentes aos carbapenêmicos. Na análise de uma UTI de São Paulo, registrou-se a disseminação entre pacientes de um clone de *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos. Similarmente, destacou-se em uma UTI de Belo Horizonte para os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes colonizados um percentual de 95% de resistência destes ao imipenem (GALES *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

O *Acinetobacter baumannii* pode ser encontrado em diversos ambientes: solo, água, animais e humanos. No entanto, no ambiente hospitalar verifica-se a presença deste microrganismo em ferimentos traumáticos, corrente sanguínea e pneumonia associada à ventilação mecânica, principalmente em UTI (GIAMARELLOU *et al.*, 2008).

O sucesso como patógeno nosocomial de *Acinetobacter baumannii* se relaciona, provavelmente, à multirresistência aos antimicrobianos e à sobrevivência em ambientes de pouca umidade e substrato, tornando-o causa de surtos nos níveis nacional e mundial (PEREZ *et al.*, 2007).

De modo semelhante, *Pseudomonas aeruginosa* pode sobreviver em condições ambientais diversas. A espécie é comum em locais úmidos, podendo sobreviver em sabões e desinfetantes. Raramente causa infecções em pessoas saudáveis. Contudo, em ambientes com pacientes imunocomprometidos, principalmente UTI, é uma das principais causas de infecções, inclusive pneumonias, com isolados resistentes aos carbapenêmicos (GALES *et al.*, 2004; ADACHI *et al.*, 2009).

Após a associação de um microrganismo às infecções em determinado estabelecimento de saúde, a permanência e a disseminação do mesmo no local dependem da vulnerabilidade do hospedeiro, da pressão seletiva 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 (HICPAC, 2006).

Os pacientes mais susceptíveis às infecções são aqueles com doenças graves, principalmente com o sistema imunológico comprometido devido às terapias utilizadas, submetidos a procedimentos cirúrgicos ou com dispositivos invasivos (HICPAC, 2006).

À medida que surgem novas tecnologias e terapias, a exemplo dos transplantes, tende a aumentar a frequência de pacientes com a imunidade comprometida. Portanto, mais susceptíveis às infecções por microrganismos oportunistas (SEHULSTER *et al.*, 2004).

Os microrganismos oportunistas são geralmente definidos como aqueles nos quais a patogenicidade é fortemente dependente, se não exclusivamente, do comprometimento do sistema imune do hospedeiro. Tais organismos, se adquiridos do ambiente por pessoas híidas, permaneceriam em estado de latência, raramente desenvolvendo doença. Dessa forma, o estado de doença seria principalmente definido mais pela situação do hospedeiro do que pelo microrganismo (PIROFSKY; CASADEVALL, 2002).

Os pacientes em cuidados intensivos, na maioria das vezes, encontram-se com o sistema imune debilitado por uma doença de base ou por modalidades de terapia, trauma, falha respiratória e outras condições de risco (infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, agravos renais, extremos de idade). Devido a essas condições esses pacientes têm a susceptibilidade aumentada à colonização e/ou infecção por microrganismos resistentes (HICPAC, 2006).

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 utilização de tratamentos mais invasivos, dispositivos como cateteres, sondas e ventilação mecânica, além da permanência quase sempre elevada nesta unidade (HICPAC, 2006).

Em razão da gravidade e da instabilidade do quadro clínico do paciente em UTI e da necessidade de cuidados intensivos, somados a fatores do ambiente como limpeza, desinfecção, estrutura física, quantidades de equipamentos e superfícies, considera-se também a possibilidade de participação ambiental na disseminação de bactérias resistentes (HUANG, DATTA, PLAT, 2006).

3.1. Disseminação de bactérias resistentes no ambiente hospitalar

A disseminação das IRAS frequentemente advém da contaminação cruzada. A via mais comum de transferência de patógenos ocorre entre as mãos de profissionais de saúde e pacientes (DREES *et al.*, 2008).

No entanto, o ambiente hospitalar pode contribuir para a disseminação de patógenos. Geralmente, o ambiente ocupado por pacientes colonizados e/ou infectados pode tornar-se contaminado. As superfícies inanimadas e os equipamentos são possíveis fontes de bactérias, principalmente as resistentes (DREES *et al.*, 2008; KAYABAS *et al.*, 2008).

Nas duas últimas décadas, observa-se uma maior atenção dispensada às superfícies do ambiente hospitalar. Considerando a possível participação destas na transmissão de microrganismos associados aos cuidados em saúde. Não raramente é apontada a contaminação de equipamentos, superfícies e soluções de limpeza por microrganismos de importância epidemiológica. No caso dos *Enterococcus* spp., de acordo com seu hábitat natural, comumente encontrados no trato gastrointestinal de pacientes, o ambiente ocupado por eles pode favorecer a contaminação e atuar como potencial reservatório (FALK *et al.*, 2000; HENGELHART, 2002; BOYCE, 2007; ROHR *et al.*, 2009).

Em análise da disseminação de VRE, por meio da cultura de pacientes, superfícies e mãos e/ou luvas de profissionais antes e após procedimentos, verificou-se que a taxa de transferência do microrganismo foi de 10,6% entre superfícies e pacientes. Além das culturas de pacientes, a sequência dos locais tocados pelos profissionais foi monitorada por cultivo de amostras dessas superfícies e das mãos deles. Observou-se a transferência de VRE de superfícies contaminadas para aquelas limpas por mãos de profissionais (DUCKRO *et al.*, 2005).

De modo semelhante, foram observados isolados idênticos de *Acinetobacter baumannii* em secreções, ambiente e nas mãos de profissionais com resistência às cefalosporinas e carbapenêmicos (EL SHAFIE, ALISHAQ, GARCIA, 2004).

Nesse aspecto, a recuperação dos microrganismos de superfícies inanimadas do ambiente hospitalar constitui uma grande preocupação, pois advém daí a possibilidade de sobrevivência de microrganismos, a exemplo do MRSA, VRE e *Clostridium difficile*, em áreas clínicas por períodos variados, podendo permanecer viáveis por dias, semanas ou meses (SEXTON *et al.*, 2006; BOYCE, 2007).

A relação contaminação do ambiente hospitalar/superfícies inanimadas pode estar diretamente associada a alguns mecanismos de disseminação, a saber: mãos, microbiota, descamação e limpeza do ambiente. Na elevação do tempo de realização da limpeza em consonância com protocolo institucional em duas UTIs de Boston, verificou-se que não houve recuperação bacteriana como antes detectada em telefones, torneiras e bomba de infusão. Todavia, há relato da persistência de VRE no ambiente devido à provável remoção incompleta do patógeno durante a limpeza. A recontaminação foi constatada após algumas semanas da troca de torneiras contaminadas, em surto por *Pseudomonas aeruginosa*, pela possível formação de biofilme na tubulação de água (MARTINEZ *et al.*, 2003; PETIGNAT *et al.*, 2006; DREES *et al.*, 2008).

Nas UTI, a contaminação das superfícies ambientais tem sido frequentemente associada ao maior risco de aquisição de MRSA e VRE em situações endêmicas, enquanto nos surtos destacam-se *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes ao imipenem e meropenem. Nos surtos e nas situações endêmicas, já foram observados casos de similaridade dos isolados bacterianos presentes em pacientes e superfícies ambientais, reforçando a premissa de disseminação de microrganismos entre paciente e ambiente (BURES *et al.*, 2000; SIMOR, *et al.*, 2002; PENA *et al.*, 2003; DEPLANO *et al.*, 2005; HAYDEN *et al.*, 2006; HARDY *et al.*, 2006; ENOCH *et al.*, 2008).

3.1.1 Manutenção do ambiente biologicamente seguro nos estabelecimentos de saúde

Registros de medidas de controle das doenças e infecções são concomitantes ao nascimento da enfermagem científica com os postulados defendidos por Florence Nightingale (1859) (FERNANDES, 2000; CARRARO, 2004; FONTANA, 2006).

Numa época pré-microbiana, na qual as infecções ameaçavam tanto quanto a guerra, Florence defendia a necessidade de ambientes limpos e arejados, e maior separação entre os pacientes, com registros estatísticos enfatizando o ser humano, o meio ambiente, a saúde e a enfermagem (FERNANDES, 2000; CARRARO, 2004; FONTANA, 2006).

Na mesma época, de modo semelhante, o médico húngaro Ignaz Phillip Semmelweis, após meticulosa observação da infecção puerperal entre mulheres assistidas por parteiras e aquelas atendidas por médicos e estudantes, constatou a transmissão cruzada. Com base nesse achado e outros relativos à disseminação de infecções Semmelweis defendia a

lavagem das mãos, instituindo sua obrigatoriedade para toda a equipe multiprofissional (FERNANDEZ, 2009 apud THORWALD, s/d).

Contemporâneo de Florence e Semmelweis, John Snow reforça a necessidade de medidas de controle das infecções durante uma epidemia de cólera em Londres (1854). Para tanto, elaborou hipóteses de disseminação da cólera, sendo elas: via de disseminação entre as pessoas (considerou ser via oro-fecal); período de incubação de 24 a 48 horas; capacidade de reprodução do organismo no hospedeiro; importância da higiene relacionada à classe social (a doença se espalhava na ausência de limpeza e higiene do ambiente e pessoas); e água utilizada contaminada. Essas hipóteses foram coerentemente testadas antes do conhecimento do microrganismo como agente causador (WELBOURN, 2009).

A preocupação com a segurança do paciente era percebida também no final dos anos de 1800 e início dos de 1900 pela expressão recitada em latim e comumente utilizada: *primum non nocere*, ou “primeiro não causeis dano” (SMITH, 2005).

Apesar das iniciativas para o controle de fatores ambientais, de modo a favorecer um cuidado mais seguro, a prevenção das infecções retomava outros aspectos ainda não controlados, como procedimentos cirúrgicos seguros, com técnicas de assepsia. A utilização da antissepsia nos procedimentos cirúrgicos teve início com o sucesso da técnica elaborada por Joseph Lister em 1867. Como citado anteriormente sobre a disponibilidade da penicilina para uso clínico a partir 1939, por um breve período obteve-se um bom controle das infecções hospitalares. Porém, desde a Segunda Guerra Mundial, com a ampla utilização dos agentes antimicrobianos, observa-se crescente emergência de resistência bacteriana para as mais diversas espécies causadoras das IRAS (LACERDA, EGRY, 1997; SILVEIRA *et al.*, 2006).

Nesse contexto, destacam-se políticas e os programas para o controle das infecções relacionadas aos cuidados em saúde devido ao seu impacto nos pacientes e instituições. Na década de 1970, nos Estados Unidos, foi lançado o sistema de vigilância das infecções (*National Nosocomial Infections Surveillance – NNIS*), no qual informações de rotina de vigilância das IRAS eram repassadas a uma base de dados nacional, de forma voluntária entre setenta hospitais (Division of Healthcare Quality Promotion, CDC, Public health Service, US Department of Health and Human Services, 2004).

Tais dados propiciaram a formulação de medidas de controle das infecções conforme as características locais. Desde então, vêm sofrendo modificações até os dias atuais, seja em seus critérios diagnósticos das IRAS ou medidas de prevenção em relação à emergência de pandemias mundiais, como SARS, AH1N1 e outras (Division of Healthcare

Quality Promotion, CDC, Public health Service, US Department of Health and Human Services, 2004).

No Brasil, diante dos desafios do cuidar em saúde e da necessidade de garantir a qualidade da assistência, surgiram na década de 1970, as primeiras Comissões de Controle das Infecções Hospitalares (CCIH). No entanto, o marco inicial de políticas de controle das infecções no Brasil foi observado na década de 1980, com a Portaria 196, de 1983, com recomendações para a instituição de CCIHs nos hospitais brasileiros (AZAMBUJA, PIRES, VAZ, 2004).

Em 1998, foi estabelecida a Portaria 2616, em que foi definido o programa de controle das infecções como as “ações mínimas necessárias, a serem desenvolvidas, deliberada e sistematicamente, com vistas à redução máxima possível da incidência e da gravidade das infecções dos hospitais”, além de estabelecer que cada hospital deveria possuir uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, sendo este um órgão de assessoria à autoridade máxima da instituição e de execução das ações de controle da infecção hospitalar.

Apesar dos programas e dos esforços empregados para o controle das infecções, um grande desafio em nível mundial tem sido evidenciado pela progressão da resistência bacteriana. Há mais de duas décadas, observa-se crescente frequência de infecções por cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos (MEYER *et al.*, 2006).

Em relação aos desafios para o controle das IRAS e à resistência bacteriana, o princípio de segurança do paciente é retomado com um desafio da Organização Mundial de Saúde (OMS): o *World Alliance for Patient safety*, que considera a necessidade de um cuidado “limpo”, livre de contaminações, para a segurança do paciente. Este desafio é fruto da magnitude alcançada pelas infecções, associada ao cuidado em saúde em nível global, constituindo a principal ameaça à segurança do paciente nesses estabelecimentos, pelas complicações, mortalidade e custos (PITTET; DONALDSON, 2005).

No contexto da resistência bacteriana, as medidas de prevenção e controle merecem destaque. Para essas medidas, os possíveis reservatórios e os meios de transmissão dos agentes causadores das infecções são de extrema relevância, pois um indivíduo não se torna colonizado ou infectado por determinado patógeno sem primeiro ter ocorrido o contato efetivo, qual seja, direto ou indireto, com um reservatório (FARR, 2006).

A principal fonte para a disseminação de patógenos são os pacientes colonizados e/ou infectados. Na colonização, apesar de não haver sintomas clínicos e imunológicos de infecção, os microrganismos estão presentes nas superfícies cutâneas e mucosas do indivíduo.

Portanto, os pacientes e profissionais de saúde colonizados constituem um inegável reservatório, assim como as superfícies inanimadas e os equipamentos, muito tocados, próximos aos pacientes (GALLOISY-GUIBAL *et al.*, 2006; BOYCE, 2007).

Há registros da disseminação de VRE e MRSA em UTI adulto, observada em relação à localização em quartos previamente ocupados por portadores desses microrganismos, com aumento significativo da possibilidade de aquisição para o próximo paciente (HUANG *et al.*, 2006).

Para a disseminação de VRE, a contaminação ambiental pode contribuir mesmo após extensiva limpeza ambiental, provavelmente pelo fato de que o microrganismo pode persistir no ambiente mesmo após uma média de 2,8 limpezas terminais pelo método convencional em rotina do setor. Em avaliação da contaminação ambiental em UTI, foi verificado risco elevado para colonização com VRE por pacientes na admissão em quartos ocupados uma semana antes por indivíduo colonizado (MARTINEZ *et al.*, 2003; DREES, 2008).

A persistência de bactérias resistentes em superfícies e equipamentos do ambiente hospitalar provavelmente está relacionada à frequência na qual são limpos, à forma como é realizada a limpeza, e ao uso adequado dos desinfetantes conforme concentração indicada e técnica adequada de desinfecção de equipamentos em acordo com as indicações do fabricante, dentre outros fatores.

Diante das evidências do potencial de reservatório do ambiente para bactérias resistentes, diversas medidas de prevenção e o controle da disseminação ambiental desses microrganismos são demonstradas (SEHULSTER *et al.*, 2004; SIEGEL *et al.*, 2007).

As recomendações para o controle da disseminação de microrganismos resistentes podem ser agrupadas nas seguintes categorias: suporte administrativo; uso criterioso de antimicrobianos; vigilância de rotina e de reforço; adoção às precauções padrão e de contato; medidas ambientais; e educação (SEHULSTER *et al.*, 2004; SIEGEL *et al.*, 2007).

Para a garantia da efetividade dos programas de saúde e das medidas de controle das infecções, em acordo com as necessidades observadas, inclui-se aqui: número suficiente de profissionais, ou seja, política de pessoal, considerando o número mínimo de funcionários por leito; participação de profissionais controladores das infecções nas decisões de reforma, construção e arquitetura dos estabelecimentos de saúde; suporte dos laboratórios de microbiologia; suprimento adequado de equipamentos; e avaliação e correção de possíveis

falhas que contribuem para a disseminação das infecções, com retorno e discussões dos resultados com a equipe de trabalho (SIEGEL *et al.*, 2007).

Quanto ao uso dos antimicrobianos, a limitação da sua utilização pode prevenir o surgimento de microrganismos resistentes, como VRE e MRSA. Em diversos hospitais, certos antimicrobianos são prescritos com restrição, a exemplo da vancomicina e imipenem, reservados para o tratamento das infecções não responsivas a outros antimicrobianos (HALL, 2004; HICPAC, 2006).

Em associação ao uso criterioso dos antimicrobianos, a monitorização da prevalência dos microrganismos resistentes, a emergência de novos perfis de resistência e a avaliação das medidas de prevenção adotadas favorecem o controle das infecções. A vigilância destes aspectos permite maior controle da disseminação de microrganismos resistentes tanto nas situações endêmicas como nos surtos (HICPAC, 2006).

A utilização de medidas como as precauções padrão e de contato, de acordo com cada situação, pode favorecer o controle das infecções e evitar gastos desnecessários ao usar apenas recursos e equipamentos indispensáveis.

As precauções padrão constituem ações preventivas utilizadas no cuidado a todos os pacientes, independente de seu diagnóstico. Essas ações preventivas incluem a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI), higienização das mãos, descarte adequado dos materiais perfuro-cortantes e vacinação contra hepatite B. Os objetos e equipamentos do ambiente do paciente com provável contaminação devem ser manuseados de maneira a prevenir a disseminação de patógenos (SIEGEL *et al.*, 2007).

As precauções de contato são recomendadas para prevenir a transmissão de microrganismos, principalmente os de importância epidemiológica que são disseminados pelo contato direto ou indireto com o paciente e o ambiente. Um quarto privativo é desejável para o paciente em precaução de contato quando possível. Porém, na impossibilidade deste, enfatiza-se um maior espaço entre leitos, evitando compartilhamento de objetos, etc., além do uso estrito de equipamento de proteção individual para os profissionais em contato com paciente e áreas potencialmente contaminadas (SIEGEL *et al.*, 2007).

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 também pode favorecer o controle da disseminação ambiental de bactérias resistentes (SIEGEL *et al.*, 2007).

Nesse sentido, cabe destacar a importância do treinamento periódico dos profissionais responsáveis pela limpeza do ambiente hospitalar, pois, muitas vezes, superfícies e equipamentos aparentemente limpos podem não receber a devida atenção no momento da limpeza, seja pela não visualização de sujeira ou pela complexidade dos equipamentos presentes no ambiente, dentre outros fatores.

A presença de microrganismos em superfícies ambientais pode ser influenciada por umidade, substrato, quantidade de pessoas que transitam no local, tipo de superfície, contato direto com o paciente e frequência na qual são tocadas (SEHULSTER *et al.*, 2004).

A análise da contribuição do ambiente hospitalar na disseminação de doenças compreende alguns critérios de avaliação do potencial e da força da evidência para uma fonte ambiental ou sua significância na transmissão de agentes infecciosos (SEHULSTER *et al.*, 2004).

Os principais critérios ressaltados para a avaliação de uma fonte ambiental de microrganismos são:

a) pode sobreviver em um fômite, ou seja, pode permanecer viável por tempo suficiente para ser transferido para outros locais do ambiente hospitalar, para pacientes ou para as mãos dos profissionais de saúde.

b) pode ser cultivado dos fômites em uso; isto é, pode ser recuperado desses objetos pelo cultivo em meio de cultura.

c) pode proliferar no fômite; dependendo das características do microrganismo e da quantidade de sujeira presente no fômite, ele pode ser multiplicar e aderir às superfícies do objeto, formando biofilme.

d) Algumas formas de aquisição da infecção não podem ser explicadas por outros modos reconhecidos de transmissão; ou seja, a contaminação de fômites em alguns casos pode ser a causa plausível para a aquisição de infecção (SEHULSTER *et al.*, 2004).

Os componentes necessários para a cadeia de infecção são: número adequado de microrganismos (dose), virulência, hospedeiro susceptível, meio de transmissão, e, porta de entrada adequada ao hospedeiro (SEHULSTER *et al.*, 2004).

A análise microbiológica do ambiente, incluindo superfícies, apesar do custo elevado, é indicada para investigações de surtos quando fontes ambientais ou fômites estão implicados epidemiologicamente na disseminação de doenças. Mas a análise faz sentido quando há correlação dos resultados microbiológicos com dados epidemiológicos ou estudos

que comparam isolados ambientais e clínicos pela epidemiologia molecular (SEHULSTER *et al.*, 2004).

Um fator intrínseco ao potencial de reservatório de microrganismos dos estabelecimentos de saúde refere-se à limpeza conferida a esse ambiente. A limpeza reduz a carga microbiana das superfícies, favorecendo o processo de desinfecção, no qual os microrganismos são eliminados, restando apenas bactérias em forma de esporos, e a esterilização que elimina todas as formas de vida microbiana (HICPAC, 2008).

Os equipamentos não críticos, a exemplo das máquinas de diálise, na ausência de instruções do fabricante, geralmente requerem apenas limpeza, seguida de desinfecção intermediária, com a eliminação das formas bacterianas vegetativas, mas não dos esporos. Para termômetros, estetoscópios e, ocasionalmente, as superfícies externas de equipamentos, como ventiladores mecânicos, são usualmente utilizados o álcool etílico, ou isopropílico, na concentração entre 60% e 90% (v/v) (HICPAC, 2008).

A escolha de um desinfetante perpassa por questões importantes relacionadas ao tempo necessário para a desinfecção, (sem danificar o equipamento ou superfícies), que pode se relacionar à carga microbiana, presença de esporos, e características das superfícies, como a porosidade, que requer agentes com maior capacidade de penetração. Para a escolha de produtos desinfetantes é relevante considerar o tipo de superfície, os microrganismos prevalentes na instituição, a concentração necessária e o uso correto do produto, assim como avaliar a possibilidade de riscos ocupacionais (SPAULDING, EMMONS, 1958).

Dos produtos indicados para a desinfecção de superfícies e equipamentos nos estabelecimentos de saúde, são mais utilizados o álcool e o hipoclorito de sódio. O álcool é indicado na concentração de 70% em peso, com três aplicações em um período de dez minutos. As superfícies devem ser friccionadas com álcool. Aguarda-se a secagem, o procedimento é repetido três vezes. Pode ser utilizado na desinfecção concorrente, ou seja, a desinfecção diária. Entretanto, o produto pode danificar plástico e borracha. O hipoclorito de sódio para a descontaminação de superfícies é indicado na concentração de 1% de cloro ativo (10:000 ppm) por dez minutos. Pode provocar corrosão em objetos metálicos, mas constitui uma boa opção para pisos (BRASIL, 1994).

Na presença de matéria orgânica ou secreções, a limpeza e a desinfecção devem ser imediatas. Para a limpeza, é recomendado o uso de luvas para remoção com material absorvente, com descarte em locais apropriados, seguida da desinfecção. Dos desinfetantes recomendados, o hipoclorito de sódio é um dos mais usados nessas situações. Em superfícies

não porosas, a diluição de 1:100 (500-615 ppm) de hipoclorito é suficiente para descontaminação após contato com sangue ou secreções. No caso de elevada quantidade de material orgânico contaminante, a diluição de 1:10 (5.000 – 6.150 ppm) de hipoclorito de sódio é indicada (BRASIL, 1994; CHITNIS *et al.*, 2004; SEHULSTER *et al.*, 2004).

Cabe ressaltar a importância do uso de EPI adequado para a realização desses procedimentos de limpeza, observando-se as normas de biossegurança.

Uma opção abordada recentemente é a utilização da radiação ultravioleta para a desinfecção de ambientes possivelmente contaminados por patógenos, sendo promissora para a eliminação de esporos e biofilmes após fricção. No entanto, seu efeito na eliminação de microrganismos depende de fatores como: intensidade da exposição, tempo e tipo de microrganismo (CHRISTOFI *et al.*, 2008; SUNG, KATO, 2010).

A ação germicida da radiação ultravioleta baseia-se na sua capacidade de danificar o DNA. O efeito germicida está relacionado à dimerização das bases de timina adjacentes do DNA. A alteração no DNA pela radiação ultravioleta não é seletiva para os microrganismos, podendo alterar o DNA humano também. Dessa forma, sua utilização pode ser mais adequada na limpeza terminal após a alta do paciente e antes da ocupação da unidade pelo próximo (SUNG, KATO, 2010).

A descontaminação por vapor de peróxido de hidrogênio na limpeza terminal pode permitir a eliminação de microrganismos geralmente persistentes em superfícies inanimadas, tais como VRE e MRSA. O produto não deixa resíduos tóxicos no ambiente. Na etapa de aeração, durante o procedimento, o peróxido de hidrogênio, por meio de uma reação catalítica, é convertido em água e oxigênio (OTTER *et al.*, 2007).

Em análise da limpeza terminal numa enfermaria de um hospital universitário de Londres, utilizando vapor de peróxido de hidrogênio, foi verificada redução na contaminação de superfícies por MRSA, VRE e bastonetes gram negativos em comparação à desinfecção de rotina realizada com compostos de quaternário de amônia (OTTER *et al.*, 2007).

A eficácia do peróxido de hidrogênio na limpeza terminal, ainda, foi observada em UTI, com a eliminação de MRSA de superfícies contaminadas. Entretanto, verificou-se a recontaminação dessas superfícies por MRSA após 24h. O tempo para a ocorrência da recontaminação pode estar associado à pressão de colonização, ao tipo de produto utilizado na desinfecção, principalmente aqueles sem ação residual, e à frequência de toque das superfícies pelas mãos dos profissionais de saúde (HARDY *et al.*, 2007).

Além da rápida recontaminação após o uso de peróxido de hidrogênio sua associação à limpeza de rotina pode elevar os gastos em torno de 10 mil euros, dependendo do tamanho da enfermaria ou UTI. Ressalta-se a necessidade de um prazo de 12 horas de desocupação da unidade pra realizar a limpeza terminal (HARDY *et al.*, 2007).

3.4 Importância da higienização das mãos na prevenção da disseminação de microrganismos

Além da limpeza e da desinfecção de superfícies e equipamentos do ambiente hospitalar, a higienização das mãos se destaca para a garantia de um cuidado seguro (OMS, 2009).

As mãos dos profissionais de saúde e das pessoas que transitam no setor constituem importante meio de disseminação de patógenos entre paciente e o ambiente hospitalar. Todavia, principalmente na UTI, constata-se que a higienização das mãos não conta com a adesão suficiente entre os profissionais de saúde, provavelmente devido a múltiplas tarefas, irritação da pele, acessibilidade à pia e produtos de higiene e nível de conhecimento entre outros fatores (HENDERSON, 2006; DEDRICK *et al.*, 2007; WARYE, MURPHY, 2008; OLIVEIRA, CARDOSO, MASCARENHAS, 2009; OMS, 2009).

O termo *higienização das mãos* é genérico e compreende qualquer ação de limpeza, tais como: lavar as mãos com água e sabão, lavar as mãos com sabão antiséptico e água, fricção das mãos com antiséptico (frequentemente o álcool), ou degermação das mãos (lavagem ou fricção antiséptica das mãos antes de cirurgias) para eliminar a microbiota transitória e reduzir a residente (SIEGEL *et al.*, 2007, OMS, 2009).

A higienização das mãos é indicada: antes e após o contato com o paciente, após remoção das luvas, antes de manipular dispositivos invasivos, após contato com fluidos ou secreções corporais, pele não íntegra e feridas, quando mudar de um local contaminado do corpo do paciente para outro limpo e após contato com objetos inanimados (incluindo equipamentos médicos). Ressalta, ainda, que a higienização das mãos **não pode** ser substituída pelo uso de luvas e que essas devem ser removidas após o cuidado com o paciente. A lavagem das mãos deve seguir as etapas descritas na figura 6 (OMS, 2009).



FIGURA 6 - Técnica de lavagem das mãos

Fonte: OMS, 2009, p. 164 (Foi realizada tradução do texto para fins didáticos)

A transmissão cruzada das infecções pelas mãos envolve os seguintes aspectos: os organismos estão presentes na pele do paciente ou nos objetos inanimados que o circundam; o organismo pode ser transferido pelas mãos dos profissionais e sobreviver temporariamente nelas, quando a higienização das mãos é inadequada ou omitida e as mãos contaminadas entram em contato direto com outros pacientes ou superfícies inanimadas (OMS, 2009).

Além do ato de lavar as mãos, a fricção destas com álcool a 70% podem reduzir a contagem bacteriana. A clorexidina e o polivinilpirrolidona iodo (PVP-I), são outros degermantes comumente utilizados, na redução microbiana das mãos dos profissionais (OMS, 2009).

O PVP-I possui ação germicida para bactérias gram positivas e negativas. Como degermante, geralmente é disponível nas concentrações de 7,5% a 10%. As concentrações mais baixas apresentam boa atividade antimicrobiana devido à maior liberação de iodo. Contudo, tendem a aumentar a irritação da pele (OMS, 2009).

Em comparação ao álcool 70%, o PVP-I pode apresentar efeito residual prevenindo a recontaminação das mãos. Entretanto, o tempo de ação residual não está bem estabelecido, podendo variar de 30 minutos a seis horas. As soluções de PVP-I quando preparadas e armazenadas inadequadamente podem se contaminar por bastonetes gram negativos (OMS, 2009).

A utilização de soluções de PVP-I como degermante para a higienização das mãos em UTI pode prevenir sua rápida recontaminação e, conseqüentemente, reduzir a transferência de microrganismos entre pacientes e ambiente.

De modo semelhante, para a higienização das mãos a associação de clorhexidina, uma biguanida, às formulações de álcool em baixas concentrações (0,5 – 1,0%) pode elevar o efeito residual deste, além de sua atividade não ser seriamente afetada na presença de matéria orgânica (OMS, 2009).

3.5. Aplicação da epidemiologia molecular na análise da similaridade entre bactérias resistentes isoladas de amostras ambientais e clínicas

Para a análise da similaridade entre os microrganismos presentes em superfícies inanimadas dos estabelecimentos de saúde e aqueles causadores das IRAS, destacam-se, desde as duas últimas décadas do século XX, os métodos moleculares em associação aos testes bioquímicos. Os métodos moleculares favorecem os estudos da disseminação de microrganismos no ambiente, inclusive para as bactérias resistentes (TENOVER *et al.*, 1995).

A comparação entre isolados clínicos e ambientais pela epidemiologia molecular constitui uma recente e importante abordagem para a elucidação de reservatórios e vias de disseminações ambientais, muitas vezes, ignoradas.

O teste molecular mais utilizado é a eletroforese em campo pulsante (PFGE), técnica de alto poder discriminatório, com ampla aplicação às diversas espécies, que permite a comparação de similaridade entre cepas. O PFGE trata-se de uma técnica já utilizada para estudos epidemiológicos, inclusive das IRAS, com critérios de interpretação e definições para a tipificação de cepas bacterianas proposto, em 1995, por Tenover *et al.* (KAZAKOVA *et al.*, DEPLANO *et al.*, 2005; 2006; ENOCH *et al.*, 2008).

De modo similar, outra técnica utilizada em epidemiologia molecular é a *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), rápida para a detecção do DNA polimórfico. Possui grande utilidade para estudos de diversidade genética entre isolados de *Staphylococcus*

aureus, sendo de fácil execução e também aplicável a qualquer organismo (REINOSO *et al.*, 2004; NEELA *et al.*, 2005).

Dentre os testes moleculares, aqueles baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) constituem um modo simples e rápido de caracterizar e diferenciar microrganismos. Para a análise de similaridade entre isolados bacterianos, destaca-se o *Repetitive Extragenic Palindromic Sequences*, baseado na PCR (Rep-PCR) (OSBORN; SMITH, 2005; NEELA *et al.*, 2005).

Os métodos moleculares para a identificação dos microrganismos baseados na PCR possuem um amplo e importante papel no estudo da ecologia microbiana ambiental e hospitalar e outras (OSBORN; SMITH, 2005).

Quando comparados ao PFGE, os métodos baseados na PCR necessitam de menor tempo para execução, seu custo é mais baixo e são comuns nos laboratórios em geral.

No rep-PCR, as regiões entre sequências repetitivas não codificadoras do genoma bacteriano são amplificadas. Esse método permite a avaliação da similaridade entre cepas, pois o tamanho da sequência é específico para cada organismo (OSBORN; SMITH, 2005; NEELA *et al.*, 2005).

O rep-PCR trata-se de uma forma rápida de tipificação, com boa aplicabilidade. Numa comparação do rep-PCR ao PFGE em análise de um surto por MRSA, concluiu-se que o custo e a fácil execução desta técnica a tornam uma opção atrativa nos laboratórios de microbiologia (BEDENDO; PGNATARI, 2002; ROSS *et al.*, 2005).

O rep-PCR é amplamente aplicável a uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias gram positivas e gram negativas, sendo importante ferramenta para estudo da ecologia microbiana (OSBORN; SMITH, 2005).

Devido à ampla aplicabilidade do rep-PCR a diversos microrganismos, incluindo aqueles relacionados às IRAS, e a sua rápida execução, torna-se uma técnica atrativa para estudos epidemiológicos, como identificação de reservatórios de patógenos e sua distribuição dos mesmos entre pacientes, ambiente hospitalar e estabelecimentos de saúde.

O teste, ainda, permite avaliar a diversidade de microrganismos em determinado estabelecimento de saúde.

Na técnica de rep-PCR, utilizam-se iniciadores que são complementares às sequências repetidas do DNA intergênico. A partir da amplificação ocorrida na reação em cadeia da polimerase, devido à presença dos iniciadores, são gerados fragmentos do DNA

intergênico de tamanho variável. Os fragmentos de DNA podem ser separados por eletroforese em gel (WINN JR *et al.*, 2008).

Entre os iniciadores complementares às regiões entre os genes do genoma, há três famílias de sequências repetitivas identificadas, sendo a sequência rep de 35-40 pares de bases; a *Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus* (ERIC) de 124-127 pares de bases; e o elemento Box, com 154 pares de bases (RADEMAKER, DE BRUIJN, 1998).

Os fragmentos de DNA gerados na PCR e separados por eletroforese são visualizados após corar e fotografar o gel. O perfil de amplificação (*fingerprint*) consiste do registro densitométrico do padrão de picos ou bandas. As regiões que apresentam bandas de DNA possuem maior densidade ótica. O perfil de bandas dos isolados bacterianos gerado pelo rep-PCR permite a diferenciação entre espécie, subespécie e cepa (BIONUMERICS - APPLIED MATHS, 2010)¹.

A análise do perfil de bandas dos isolados bacterianos pode ser realizada observando-se a ausência ou presença de banda. No entanto, para maior quantidade de isolados a análise por programas de computador garante melhor qualidade (RADEMAKER, DE BRUIJN, 1998).

O método *unweighted pair-group* (UPGMA) é frequentemente utilizado para a análise do perfil de bandas do rep-PCR. O UPGMA utiliza médias aritméticas com pesos iguais para cada amostra. As amostras semelhantes são agrupadas (*cluster*). Os agrupamentos são representados graficamente por um dendograma (RADEMAKER, DE BRUIJN, 1998).

Para a análise de similaridade dos perfis de banda, o coeficiente da correlação de Pearson pode ser utilizado para o agrupamento dos valores densitométricos desses, sendo considerado mais adequado (RADEMAKER, DE BRUIJN, 1998).

A associação de coeficientes de correlação para as análises de similaridade dos isolados bacterianos oferece maior aproximação e segurança do percentual de relação entre o DNA das amostras testadas.

No dendograma para cada agrupamento de espécies similares, é apresentado o percentual de similaridade entre as amostras, com o respectivo intervalo de confiança, conferindo um modo prático para a análise de relação clonal.

¹ BIONUMERICS – APPLIED MATHS. Versão 6.0. St. Martens-Latem. Apresenta a possibilidade de combinação de informações de diversas fontes fenotípicas e genotípicas em uma base de dados global, conduzindo à análises conclusivas. Disponível em: < <http://www.applied-maths.com/bionumerics/bionumerics.htm>>. Acesso em: 07 abr. 2010.

Para a interpretação do percentual de similaridade entre as amostras agrupada em dendogramas, utiliza-se a definição filogenética de espécie. Nessa definição para agrupar como uma espécie, considera-se cepas com aproximadamente 70% ou mais de similaridade em comparação do DNA (WAYNE *et al.*, 1987).

A análise de similaridade entre isolados bacterianos relacionados às IRAS em associação aos testes fenotípicos fornece informações mais precisas, que permite melhor equacionamento dos fatores de risco e, determinação das estratégias de intervenção e planejamento para o controle da disseminação de bactérias resistentes. Em ocasiões de surto, a identificação do clone relacionado às infecções e vias de disseminação pode permitir um controle mais rápido e eficaz.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo transversal, ou de prevalência, no qual se observa na população estudada a ocorrência do desfecho em um ponto específico do tempo. A prevalência é mensurada pelo levantamento das características de uma população, com ou sem a condição de interesse em dado momento (FLETCHER, FLETCHER, WAGNER, 1996).

Amostras das superfícies inanimadas, equipamentos e soluções da UTI foram obtidas em quatro momentos distintos para análise da microbiota da unidade.

4.2 Local do estudo

O trabalho foi realizado em uma UTI adulto vinculada a um complexo hospitalar universitário, geral e público, voltado para o ensino, extensão e pesquisa, localizado em Belo Horizonte, Minas Gerais. O hospital é referência no sistema municipal e estadual de saúde no cuidado de pacientes portadores de patologias de média e de alta complexidade. Integrado ao Sistema Único de Saúde (SUS), ao qual destina 95% do seu atendimento, reserva 5% a pacientes de convênio ou particulares. Cerca de 40 % do total dos pacientes atendidos é do interior do estado.

A unidade de estudo possui dezoito leitos e quatro enfermarias. Estas contam quatro leitos, mais dois outros reservados aos pacientes em isolamento. A unidade recebe paciente predominantemente cirúrgico (cardiovascular, neurologia, transplante, gastrintestinal, osteomuscular e outros) de outros setores do hospital, comunidade, pronto atendimento e de outros hospitais. A equipe técnica multiprofissional é altamente especializada. Os equipamentos e a tecnologia são adequados ao nível de atendimento de pacientes de alto risco.

4.3. Amostragem

As amostras foram obtidas de superfícies inanimadas (torneira, pia, grade da cama e mesa de cabeceira), soluções (PVP-I 10%). Entre os equipamentos de uso exclusivo do

paciente, foram escolhidos aqueles de avaliação do estado físico (estetoscópio), de monitorização (monitor de função cardíaca) e de intervenção (ventilador mecânico).

Uma unidade do paciente na enfermaria e outra de isolamento, daqueles sabidamente portadores de bactéria resistente, foram sorteadas para a coleta das amostras em quatro ensaios realizados de forma distinta em diferentes momentos.

Por unidade do paciente compreende-se o espaço físico reservado ao paciente que mesmo nas enfermarias conjuntas conserve sua privacidade. Cada unidade do paciente da UTI em questão conta com um leito e os respectivos equipamentos (monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio e outros), superfícies (mesa de cabeceira) exclusivos por paciente. Nessa UTI, as unidades do paciente são separadas por uma barreira física: paredes no isolamento e divisórias de madeira na enfermaria (RDC 50).

Após o sorteio dos locais, as amostras foram colhidas dos botões de comando do monitor cardíaco, da bifurcação da traqueia do tubo corrugado no ventilador mecânico, da diafragma do estetoscópio, da grade lateral da cama, da borda interna da torneira, do tampo da mesa de cabeceira, da margem superior da pia e degermante.

Os locais das superfícies e os equipamentos para a amostragem foram selecionados em razão da frequência de toques pelas mãos dos profissionais e contaminação, conforme observado na literatura. As amostras foram obtidas em quatro ocasiões distintas, com periodicidade quinzenal. Para a determinação da periodicidade, foi considerada a média (19,8 dias)² de permanência dos pacientes infectados no setor.

Para o número de quatro ensaios fundamentou-se na consideração de diversos estudos, considerando de 1 a 52 momentos diferentes de coleta, com período variando de um mês a um ano (BURES *et al.*, 2000; CORONA-NAKAMURA *et al.*, 2001; LEMMEN *et al.*, 2004; HARDY *et al.*, 2006; SEXTON *et al.*, 2006; DREES *et al.*, 2008; ROHR *et al.*, 2009).

Dessa forma, considerando tratar-se de um estudo em nível de mestrado, cujo tempo dedicado ao experimento de campo é reduzido, ao trabalho em questão foram dedicados seis meses, optou-se, com base na justificativa apresentada, pela realização de quatro ensaios em momentos distintos em um período de quatro meses, totalizando 124 amostras (Quadro 1), buscando responder aos objetivos do estudo.

Consideraram-se conforme definição do estudo, todas as superfícies, soluções e equipamentos próximos e de cuidados aos pacientes adultos na unidade do paciente.

² SILVA, Rafael de Souza. **Relatório CTI Adulto – 01 de agosto de 2005 a 30 de novembro de 2007**. Belo Horizonte, 15 p. Trabalho não publicado.

Foram consideradas elegíveis todas as unidades na UTI que abrigaram pacientes com permanência superior a 72 horas no período de julho a outubro de 2009, com ou sem infecção hospitalar, independentes de sua condição de portadores ou não de microrganismo resistente no momento da coleta de amostras e cuja limpeza prévia da unidade tenha sido realizada em tempo não inferior a duas horas pelo serviço de higiene hospitalar.

QUADRO 1

Coletas das amostras de superfícies, equipamentos e soluções em uma unidade de terapia intensiva – Belo Horizonte, 2010

Ensaio	Sorteios	Locais de amostra	Total de amostras
Primeiro 21/08/2009	Sorteio 1: quarto de isolamento 1	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	16
	Sorteio 2: enfermaria B	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	16
Segundo 08/09/2009	Sorteio 1: quarto de isolamento 2	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	16
	Sorteio 2: Enfermaria A	Monitor de função cardíaca, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	14
Terceiro 22/09/2009	Sorteio 1: quarto de isolamento 2	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	16
	Sorteio 2: Enfermaria C	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	16
Quarto 16/10/2009	Sorteio 1: quarto de isolamento 1	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	16
	Sorteio 2: Enfermaria A	Monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, grade da cama, torneira, degermante, pia e mesa.	14

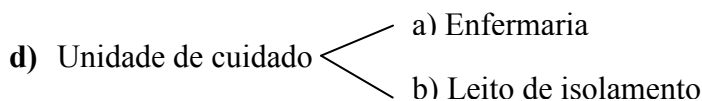
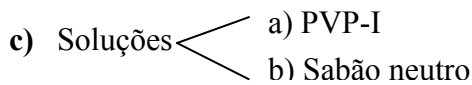
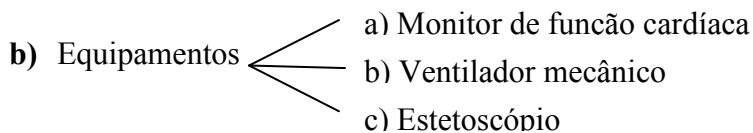
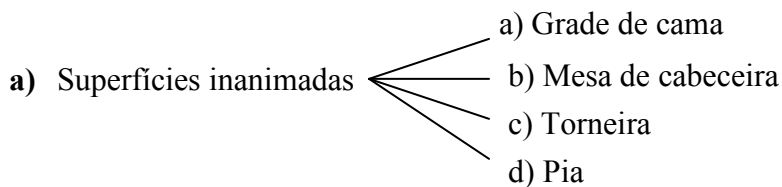
Em cada unidade do paciente, o conjunto de equipamentos, superfícies e solução analisado resultava em oito locais para amostragem em duplicata, resultando em dezesseis amostras. Os equipamentos, superfícies e solução predefinidos foram amostrados se presentes na unidade, independente de estar em uso ou não pelo paciente.

No segundo ensaio, o ventilador mecânico não estava disponível na unidade sorteada na enfermaria A. De modo similar, no quarto ensaio também na enfermaria A não havia estetoscópio disponível. Nos dois ensaios, a ausência de um equipamento reduziu um local para análise, totalizando 14 amostras.

4.4 Variáveis do estudo

1) **Variável dependente:** Isolamento de bactérias, de importância epidemiológica na instituição, em superfícies inanimadas. Variável categórica e dicotômica (sim ou não)

2) **Variáveis explicativas:**



4.5 Técnicas utilizadas para coleta das amostras

Na coleta de amostras, foram utilizadas a técnica de swabs em superfícies e equipamentos, e obtenção de alíquota de volume conhecido do degermante (PVP-I 10%) e sabão neutro disponíveis nas unidades.

a) **Técnica de swabs (Swab Haste Plástico - J. P) com volume conhecido para análise semiquantitativa**

Para a coleta da amostra em cada superfície inanimada ou equipamento, foi delimitada com pincel uma área de 1 cm² e rolado um swab estéril embebido em solução

salina sobre a área delimitada. O swab foi mergulhado em tubo (eppendorf, 2 ml) com 1 ml de solução salina tamponada esterilizada e agitado para favorecer a liberação de microrganismos.

b) Amostras de degermantes

Para cada solução de degermante, obteve-se uma alíquota de 0,1 ml por meio de uma pipeta de vidro de 1 ml estéril. A alíquota foi adicionada em um tubo com 0,9 ml de solução salina estéril, em duplicata, em tubo tipo eppendorf de 2ml. Todas as amostras foram mantidas em caixa térmica com gelo no decorrer do procedimento.

Para facilitar a identificação após os testes, todas as amostras foram codificadas por números. No código das amostras, foram considerados a data, a unidade do paciente (enfermaria ou isolamento) e o local de origem (equipamento, superfície ou degermante).

c) Amostras de hemocultura de pacientes da UTI adulto

No momento da coleta de amostras do ambiente da UTI, obtiveram-se do laboratório central amostras de hemoculturas da UTI adulto realizadas conforme protocolo da instituição e que seriam descartadas. Tais culturas eram previamente selecionadas e guardadas em geladeira por uma funcionária do setor. Uma semana antes da coleta de amostras do ambiente da UTI, o laboratório era contactado para que as culturas fossem selecionadas e guardadas no decorrer da semana. As hemoculturas recebidas foram transportadas em caixa térmica, com gelo, juntamente com as amostras do ambiente da UTI ao LEFM/UFGM.

4.6 Análise microbiológica

❖ Meios de cultura

As amostras em duplicata foram agitadas em vortéx e distribuídas em três meios de cultivo diferentes (BHI- Brain Heart Infusion – meio universal, MacConkey e Agar Sabouraud). Todos os meios foram incubados a 37°C por 48 horas. Para cada meio de cultivo, foi realizada contagem semiquantitativa do crescimento microbiano. A seguir, colônias com morfologia diferente foram repicadas, para isolamento do microrganismo.

❖ Testes bioquímicos e fisiológicos

Cada isolado bacteriano foi submetido a exame microscópico, após coloração de Gram, e testes bioquímicos e fisiológicos, para a identificação das espécies (Kits de identificação API da BioMérieux).

Para os isolados bacterianos Gram negativos foi utilizado o API 20 E. O API 20 E é um sistema de identificação das Enterobacteriaceae e outros bacilos Gram negativos não fastidiosos (BioMérieux, 2010).

Para os cocos Gram positivos e catalase negativos foi utilizado o API 20 STREP. O API 20 STREP permite diferenciar em grupo ou espécie a maioria dos estreptococos e enterococos (BioMérieux, 2010).

O API 20 STAPH foi utilizado para identificação dos cocos gram positivos e catalase positivos. Este sistema permite a identificação de estafilococos, micrococos e outros semelhantes (BioMérieux, 2010).

❖ . Testes de susceptibilidade antimicrobiana

A escolha dos antimicrobianos para teste baseou-se na frequência da utilização dos agentes em tratamento das infecções em rotina no setor de estudo. No período de agosto de 2005 a setembro de 2007, observou-se que a vancomicina, imipenem, ciprofloxacina e ceftriaxona constituíram os antimicrobianos mais utilizados no tratamento de pacientes com pneumonia, sepse, infecções de sítio cirúrgico e trato urinário.³

Para as principais bactérias de importância epidemiológica, os antimicrobianos testados são classificados, de acordo com o CLSI (2009) em:

a) *Acinetobacter baumannii* – os antimicrobianos imipenem e ciprofloxacina referem-se ao grupo A, que compreende agentes com indicação de testes preliminares. Os resultados de susceptibilidade devem ser reportados nos resultados de rotina para a espécie em questão. O teste com ceftriaxona para *Acinetobacter baumannii* está indicado no grupo B, no qual os agentes selecionados podem justificar teste primário quando há resistência a agentes

³ SILVA, Rafael de Souza. **Relatório CTI Adulto – 01 de agosto de 2005 a 30 de novembro de 2007**. Belo Horizonte, 15 p. Trabalho não publicado.

da mesma classe pertencentes ao grupo A, mas os resultados são reportados seletivamente, e não em rotina.

b) *Pseudomonas aeruginosa* – a ciprofloxacina e o imipenem são indicados no grupo B.

c) *Staphylococcus* spp. – a vancomicina é indicada no grupo B e ciprofloxacina no grupo C, no qual os agentes antimicrobianos relacionados são alternativos ou suplementares para testes e utilização no tratamento das infecções e os resultados são reportados seletivamente.

d) *Enterococcus* spp. – a vancomicina relacionada ao grupo B e a ciprofloxacina no grupo U. No grupo U são encontrados agentes antimicrobianos suplementares, listados para tratamento das infecções urinárias.

Cabe destacar que outros agentes não configurados entre os antimicrobianos indicados para testes de susceptibilidade de rotina em laboratório podem ser testados fornecendo dados taxonômicos e informações epidemiológicas, sem incluir em relatos associados ao tratamento do paciente (CLSI, 2009).

Após a identificação das espécies, os isolados foram submetidos a um antibiograma pelo método de Bauer-Kirby (usando discos contendo os antimicrobianos mais utilizados no CTI - Vancomicina, imipenem, ciprofloxacina e ceftriaxona). Os resultados do antibiograma foram interpretados conforme padronizado pelo CLSI 2009.

No caso de isolados de *Staphylococcus aureus* para identificar aqueles com possibilidade de MIC entre 4 e 16 µg/ml, deve ser realizada a técnica de diluição da vancomicina em caldo ou ágar para a determinação do MIC, não sendo possível sua aferição por disco de difusão. Portanto, para isolados de *Staphylococcus aureus* foi realizado o MIC nas concentrações 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16,0; 32,0 e 64 µg/ml (CLSI, 2009).

De modo semelhante, a confirmação de VRE deve ser realizada por meio dos testes de diluição em caldo ou em ágar da vancomicina, com definição do MIC. Dessa forma, foi determinado o MIC também para um isolado de *Enterococcus faecalis* nas concentrações 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16,0; 32,0 e 64 µg/ml (CLSI, 2009).

O MIC para vancomicina foi realizado pelo método de diluição em ágar Muller Hinton, conforme descrito pelo CLSI 2009, método já utilizado no LEFM/UFGM.

Para a realização do método de diluição em ágar e disco de difusão, foi usado como controle negativo *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 29213 (susceptível à vancomicina), conforme padrão recomendado pelo CLSI 2009.

Para *Staphylococcus aureus* foi considerado sensível se MIC \leq 2 $\mu\text{g/ml}$, intermediário para MIC de 4 a 8 $\mu\text{g/ml}$ e resistente \geq 16 $\mu\text{g/ml}$. Para *E. faecalis* foi considerado sensível se MIC \leq 4 $\mu\text{g/ml}$, intermediário entre 8 e 16 $\mu\text{g/ml}$ e resistente \geq 32 $\mu\text{g/ml}$.

❖ Criopreservação dos isolados bacterianos

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

❖ Técnica de rep-PCR

Na análise de similaridade entre os isolados bacterianos do ambiente do CTI e das hemoculturas do setor, foi realizado o teste molecular de rep-PCR. As amostras foram escolhidas de acordo com o perfil de susceptibilidade, sendo necessária a apresentação de resistência a pelo menos um dos antibióticos testados. Foram obtidas 11 amostras de hemocultura de pacientes e 12 isolados ambientais das superfícies e soluções, totalizando 23 amostras.

a) Extração de DNA total

Os isolados bacterianos mantidos em caldo BHI a -20°C foram descongelados em temperatura ambiente e uma alíquota de 200 μl . Dessa amostra foi transferida para 5 ml caldo BHI em tubos (falcon) novos de 15 ml. Após 24 horas de crescimento do isolados, eles foram transferidos para o ágar BHI. Depois de 24 horas de crescimento no Agar BHI, foram escolhidas duas colônias de cada isolado bacteriano e transferidas para 200 μl de solução tampão de lise (10 mM de Tris-HCl pH 8,0; 1 mM de EDTA, 1% de triton x- 100).

A solução com as colônias foi agitada no vortex por um minuto e deixada em água fervendo durante cinco minutos. A seguir, as colônias em solução de lise foram centrifugadas a 12.000 rpm durante cinco minutos. O sobrenadante recuperado. Adicionaram-se 200 μl de clorofórmio, centrifugando a 12.000 rpm por mais cinco minutos. O sobrenadante foi lavado por três vezes, precipitando o DNA com clorofórmio.

b) Teste rep-PCR

Na visualização do gel da extração, para a maioria das amostras não houve detecção do DNA. Assim, foi repetida a extração do DNA. Para as PCR foram testadas, as seguintes concentrações de DNA: diluições de 2, 5, 10 e 20 vezes das amostras. Testaram-se também todas as amostras com uma concentração padronizada de 25 e 50 nanogramas de DNA/ μ l. Todas as concentrações foram testadas para verificar qual a melhor quantificação do DNA dessas amostras para PCR.

Os iniciadores utilizados foram o (GTG) 5 e o Box (0,3 μ M), para melhor abrangência dos isolados bacterianos gram negativos e gram positivos. O Mix foi preparado com solução tampão (10x), MgCl (25 μ M), dnTP5 (200 μ M), taquipolimerase 1 v, gelatina (0,001%) juntamente com o iniciador, e completou-se o volume com água miliQ estéril. As amostras, com um volume total de 20 μ l (Mix e DNA) por tubo, foram colocadas no termociclador (ThermoHybid) com o seguinte programa: 94° C por 5 minutos, (94° C – 1 min, 52° C – 3 min, 72° C – 3 min – 30) por 30 vezes e 72° C por 10 min. Para PCR, foi utilizado um volume total de 20 μ l; 17 μ l de primer e 3 μ l do DNA de cada amostra.

Para visualização da extração do DNA e dos resultados da PCR, as amostras foram corridas em gel de agarose (Invitrogen) a 2,0% por duas horas a 70 voltz, corado por brometo de etídio e fotografado em luz ultravioleta. Como marcador molecular, utilizou-se o 1 Kb Plus DNA Ladder, ready-to-use, 75-20.00 bp (Fermentas).

Na análise de similaridade do perfil de bandas pelo o método *Unweighted Pair-Group* no programa BioNumerics version 6.0, foi criado um dendograma.

4.7 Aspectos éticos

Por se tratar de uma pesquisa em que o objeto de estudo envolveu material biológico humano, foi submetida ao Comitê de Ética (COEP), tendo sido aprovada pelo Parecer ETIC 113/09, observando-se a Resolução 196/96 para pesquisa em seres humanos (anexo 1). E, ainda, por se tratar de um estudo realizado no âmbito do Hospital da Clínicas da UFMG (HC/UFMG), também foi encaminhado à Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão (DEPE) e à Comissão de Infecção Hospitalar (CCIH), setor responsável pela vigilância das infecções hospitalares, tendo recebido de ambos aprovação.

4.8 Tratamento dos dados

A análise dos dados foi realizada no programa estatístico SPSS for Windows versão 13.0. A análise da variância das médias de contaminação, utilizando o logaritmo decimal do total de bactérias por superfícies, equipamentos e degermante, foi realizada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Os perfis gerados pelo rep-PCR foram analisados usando o programa BioNumerics version 6.0 (Applied Maths, St. Martens-Latem, Belgium). A similaridade entre os pares dos perfis do BOX-PCR e (GTG)₅ foi calculada usando o coeficiente de correlação do Pearson. Esta abordagem compara as curvas densitométricas totais dos perfis. Os valores de similaridade nos agrupamentos foram analisados pelo algoritmo *Unweighted Pair-Group*.

5. RESULTADOS

Todas as amostras dos equipamentos, superfícies e soluções disponíveis na enfermaria e na unidade de isolamento foram obtidas no período da manhã, entre 8h e 9h30, antes do banho de leito do paciente e da higienização do ambiente. Nesse horário, o intervalo da última limpeza realizada foi superior a duas horas, conforme critério de inclusão do estudo, para a unidade sorteada.

Foram obtidas 124 amostras sem diluições. Dessas 71 (57,25%) foram positivas; ou seja, apresentaram crescimento bacteriano. Das 71 amostras positivas, foram obtidos 84 (64,51%) isolados bacterianos.

Desses isolados, 13 (15,47%) apresentaram microrganismos resistentes a um ou mais antimicrobiano testado. Dos isolados resistentes aos antimicrobianos testados, 7 (53,84%) foram recuperados do isolamento e 6 (46,15%), da enfermaria (quadro 2).

No quarto de isolamento e na enfermaria, para todas as superfícies e equipamentos analisados, registrou-se contaminação por bactérias. Apenas para o degermante mantido em almotolias plásticas, sem contato direto com o ar – ou seja, fechado com tampa após o uso – não foi detectada a presença de bactéria.

Na última coleta de amostras, em lugar do degermante, foi encontrado sabão líquido em copo destampado sobre a pia na unidade de isolamento, solução esta em que foi verificado o crescimento de incontáveis colônias de *Pseudomonas fluorescens/putida*.

Quanto à presença de fungos, não foram observadas leveduras; apenas fungos filamentosos (12 isolados num total de 124 amostras – 9,37%), originados de amostras do ventilador mecânico, da grade da cama, da mesa de cabeceira e da pia da enfermaria e dos quartos de isolamento.

No decorrer das coletas de amostras foram encontrados todos os equipamentos e superfícies selecionados previamente para o quarto de isolamento. Na enfermaria, no segundo ensaio, o paciente não estava em uso de ventilação mecânica e no último não havia estetoscópio disponível na unidade, com possibilidade de ter sido transferido para outra unidade da enfermaria. Assim, não houve coleta de amostra destes equipamentos nestas duas ocasiões específicas. Nos ensaios com todos os equipamentos e superfícies disponíveis, foram obtidas 32 amostras de uma unidade do paciente na enfermaria (16) e outra no quarto de isolamento (16). A ausência de um equipamento implicou a redução de duas amostras por ensaio (14).

QUADRO 2

Crescimento bacteriano das amostras obtidas de superfícies e equipamentos do quarto de isolamento e enfermaria de uma unidade de terapia intensiva – Belo Horizonte, 2010

Ensaio	Unidade do Paciente	Amostras	Amostras positivas	Isolados
1°	Isolamento	16	8	15
	Enfermaria	16	5	8
2°	Isolamento	16	8	9
	Enfermaria	14	7	8
3°	Isolamento	16	13	13
	Enfermaria	16	11	12
4°	Isolamento	16	9	9
	Enfermaria	14	10	10
Total	-	124	71	84

Como previsto, em relação às unidades de isolamento, no momento das coletas, estas estiveram ocupadas por pacientes sabidamente portadores de bactérias resistentes, exceto na última coleta, em que a unidade de isolamento sorteada estava ocupada por paciente em precaução de contato devido à imunossupressão. Coerentemente, não houve isolamento de bactérias resistentes de equipamentos e superfícies da unidade de isolamento no último ensaio (tabela 3).

A seguir, descreve-se a condição de portador de microrganismos multirresistentes detectada em pacientes a cada ensaio realizado.

1° ensaio – precaução de contato por *Acinetobacter baumannii* resistente ao imipenem e *Serratia marcescens*.

2° ensaio – precaução de contato por *Acinetobacter baumannii* multirresistente.

3° ensaio – precaução de contato por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Acinetobacter baumannii* resistente ao imipenem.

4° ensaio – precaução de contato por imunossupressão.

TABELA 3

Espécies de importância epidemiológica identificadas das amostras de superfícies e equipamentos do quarto de isolamento e enfermaria de uma unidade de terapia intensiva – Belo Horizonte, 2010

Ensaio	Unidade do Paciente	Bactérias de importância epidemiológica encontradas e percentual de identificação para a espécie pelo Kit API
1º	Isolamento	<i>Enterococcus faecalis</i> (99,3%) – Resistente à vancomicina, <i>Acinetobacter baumannii</i> (94,8%) – Multirresistente, <i>Staphylococcus haemolyticus</i> (53,3%) – Resistente à ciprofloxacina.
	Enfermaria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (77,5%) – Resistente ao imipenem e ciprofloxacina.
2º	Isolamento	<i>Acinetobacter baumannii</i> (98,7%) – Multirresistente.
	Enfermaria	<i>Leuconostoc spp.</i> (56,5%) – Resistente à ciprofloxacina.
3º	Isolamento	<i>Staphylococcus aureus</i> (98,1%) e <i>Staphylococcus epidermidis</i> (93,1%) – Resistente à ciprofloxacina.
	Enfermaria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (77,5%) – Resistente ao imipenem.
4º	Isolamento	Não houve isolamento de bactérias resistentes.
	Enfermaria	Não houve isolamento de bactérias resistentes.
Total	-	-

Na contagem em placas das unidades formadoras de colônias (UFC/ml) para a quantificação de bactérias, consideram-se aquelas com o crescimento entre 30 e 300 colônias. Entretanto, das amostras de superfícies e equipamentos com apresentação de crescimento bacteriano foram consideradas contagens a partir da presença de uma colônia (tabelas 4 e 5).

Esta consideração baseou-se no fato de que para superfícies com menor quantidade de matéria orgânica espera-se uma carga microbiana mais baixa, além do interesse de identificar a presença de bactérias de importância epidemiológica viáveis em superfícies, equipamentos e soluções da unidade de estudo independente da quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC). Possivelmente, unidades viáveis de um patógeno, mesmo que em menor quantidade para pacientes vulneráveis e expostos aos microrganismos, podem resultar em infecção (DUCKRO *et al.*, 2005; DANCER, 2008).

TABELA 4

Média das unidades formadoras de colônias/ml das amostras de **equipamentos** em uma Unidade de Terapia Intensiva adulto - Belo Horizonte, 2010

<i>Equipamentos</i>	<i>1º ensaio</i>	<i>2º ensaio</i>	<i>3º ensaio</i>	<i>4º ensaio</i>	<i>Resultado</i>
Monitor cardíaco	5	25	52,5	10	92,5 (9,25 x10 UFC/ml)
Ventilador mecânico	100	22,5	115	75,75	313,25 (3,13 x10 ² UFC/ml)
Estetoscópio	185	485	55	15	740 (7,4 x10 ² UFC/ml)

Das superfícies, a maior média de contaminação foi verificada em bordas internas das torneiras (2,09 x10³ UFC/ml), sendo considerável quando comparada a contagens bacterianas de amostras clínicas. Em pacientes adultos com bacteremias, presença transitória de microrganismos na corrente sanguínea, geralmente podem ser encontradas 1 a 10 bactérias/ml em leitura das placas de hemoculturas. Em culturas das superfícies externas de cateteres venosos centrais, são consideradas significativas contagens superiores ou iguais a 10² por segmento analisado (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2004).

A elevada carga microbiana em torneiras, quando comparada a outras superfícies, equipamentos e amostras clínicas, pode implicar uma fonte de microrganismos oportunistas, a exemplo de *Pseudomonas aeruginosa*, comumente isolada nas bordas internas da torneira no decorrer dos ensaios.

TABELA 5

Média das unidades formadoras de colônias/ml das amostras de **superfícies inanimadas** em uma Unidade de Terapia Intensiva adulto – Belo Horizonte, 2010

<i>Superfícies</i>	<i>1º ensaio</i>	<i>2º ensaio</i>	<i>3º ensaio</i>	<i>4º ensaio</i>	<i>Resultado</i>
Grades de cama	5	265	15	20	305 (3,05 x10 ² UFC/ml)
Torneira	823,3	0	195	1.080	2098,3 (2,09 x10 ³ UFC/ml)
Mesa de cabeceira	15	37,5	7,5	20	80 (8,0 x 10 UFC/ml)
Pia	0	265	72,5	5	342,5 (3,42 x10 ² UFC/ml)

As médias de UFC/ml verificadas das amostras do monitor de função cardíaca, ventilador mecânico, estetoscópio, grade de cama, torneira, mesa e pia foram diferentes (P<0,004) pelo teste de Kruskal-Wallis.

Dentre as superfícies inanimadas, as maiores médias de UFC/ml foram observadas para as torneiras e pias. Quanto aos equipamentos, as maiores médias de UFC foram detectadas do estetoscópio e ventilador mecânico.

5.1. Perfil das espécies bacterianas isoladas das superfícies inanimadas, equipamentos versus isolados de hemoculturas de pacientes da Unidade de terapia Intensiva quanto à susceptibilidade antimicrobiana

Dos cinco microrganismos de maior prevalência na instituição estudada e de maior importância epidemiológica, foram recuperados da unidade do paciente em isolamento: *Acinetobacter baumannii* resistente ao imipenem, ciprofloxacina e ceftriaxona, *Staphylococcus aureus*, resistente ciprofloxacina e *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina e ciprofloxacina.

Na enfermaria registraram-se a presença de *Pseudomonas aeruginosa*, resistente ao imipenem; e ciprofloxacina, em borda interna de torneiras e margem superior da pia.

Quanto às espécies *Staphylococcus epidermidis*, *Leuconostoc spp*, *Myroides/Chryseobacterium indologens*, apesar de não se configurarem entre aquelas de maior importância epidemiológica na instituição de estudo, estão aqui destacadas pelo seu crescimento em presença de ciprofloxacina.

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos foi verificado conforme os halos de inibição para os discos de difusão do imipenem 10 µg, ceftriaxona 30 µg, ciprofloxacina 5 µg e vancomicina 30 µg, interpretados nas categorias: sensível, intermediário e resistente, de acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI 2009. O perfil de susceptibilidade dos isolados de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* à vancomicina foi verificado a partir da comparação dos resultados do MIC de cada espécie com os valores de referência para as categorias: sensível, intermediário e resistente, de acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI 2009.

Para todos antibióticos testados, registraram-se isolados bacterianos resistentes. O maior percentual de resistência foi verificado para ciprofloxacina, no quarto de isolamento com *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus haemolyticus* (Quadros 3 e 4).

QUADRO 3

Distribuição dos isolados bacterianos resistentes recuperados de superfícies e equipamentos da unidade de isolamento de uma unidade de terapia intensiva – Belo Horizonte, 2010

Superfícies e equipamentos	1ºensaio	2ºensaio	3ºensaio	4ºensaio
Ventilador mecânico	-	<i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente	-	-
Estetoscópio	<i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente, <i>Enterococcus faecalis</i> resistente à vancomicina, <i>Staphylococcus haemolyticus</i> resistente à ciprofloxacina	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à ciprofloxacina	-
Cama	-	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i> resistente à ciprofloxacina	-

Na unidade de isolamento, o diafragma do estetoscópio apresentou contaminação por uma maior diversidade de bactérias resistentes. *Acinetobacter baumannii* multirresistente, isto é, resistente ao imipenem, ciprofloxacina e ceftriaxona, destacou-se no diafragma do estetoscópio e traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico.

Nas enfermarias, no decorrer dos ensaios, foram recuperados das margens superiores da pia e das bordas internas de torneiras: *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem e ciprofloxacina (Quadro 4).

QUADRO 4

Distribuição dos isolados bacterianos resistentes recuperados de superfícies e equipamentos da enfermaria de uma unidade de terapia intensiva – Belo Horizonte, 2010

Superfícies e equipamentos	1º ensaio	2º ensaio	3º ensaio	4º ensaio
Monitor cardíaco	-	<i>Leuconostoc</i> spp. resistente à ciprofloxacina	-	-
Torneira	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente ao imipenem e ciprofloxacina	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente ao imipenem	-
Pia	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente ao imipenem	-

A considerável contaminação das torneiras foi verificada em unidades nas quais o paciente não apresentava colonização e/ou infecção por *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem, principal espécie detectada em torneiras e pias. Nesse sentido, a contaminação das torneiras pode ter ocorrido por uma fonte externa ao paciente, provavelmente pela água.

Para a determinação do MIC dos isolados de *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, foi realizada a leitura do crescimento bacteriano em placas com meio de cultura associado às concentrações testadas de vancomicina, sendo observados os resultados:

Placa controle (meio de cultura sem vancomicina) – crescimento da cepa de controle (*Staphylococcus aureus* – ATCC 29213) e dos isolados de *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*.

Placa com concentração de 1,0 µg/ml de vancomicina – crescimento reduzido da cepa de controle e do isolado de *Staphylococcus aureus*. No caso de *Enterococcus faecalis*, seu crescimento na concentração de 1,0 µg/ml foi idêntico ao da placa controle sem vancomicina.

Placas com concentração de 2,0 a 64 µg/ml de vancomicina – crescimento apenas do isolado de *Enterococcus faecalis*. Vale destacar que o crescimento de *Enterococcus faecalis* na concentração de 64 µg/ml ainda foi semelhante ao da placa controle.

A concentração inibitória mínima de vancomicina necessária para inibir o crescimento do isolado de *Staphylococcus aureus* foi menor que 2 µg/ml. Na concentração de 1 µg/ml de vancomicina se observou um menor crescimento de *Staphylococcus aureus* e ausente com 2 µg/ml do antimicrobiano.

O isolado de *Staphylococcus aureus* foi considerado sensível ao antibiótico em comparação ao ponto de corte referido pelo CLSI, (2009) no qual valores iguais ou menores que 2 µg/ml indicam susceptibilidade.

Entretanto, o crescimento de *Enterococcus faecalis* não foi inibido na maior concentração testada de vancomicina (64 µg/ml), sendo que um MIC igual ou acima de 32 µg/ml para isolados dessa espécie refere-se à categoria resistente.

Quanto às hemoculturas de pacientes da UTI foram obtidas 24 placas, destas foram encontrados 18 isolados. Dos isolados, oito foram gram negativos (6 bastonetes e 2 cocobacilos) e dez trataram-se de *Staphylococcus epidermidis*.

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos foi confirmado pela técnica de disco de difusão. Desses isolados, sete foram classificados na categoria intermediária quanto ao padrão de resposta à ceftriaxona e/ou ciprofloxacina. Na categoria de resistente em relação à ciprofloxacina foram identificados quatro isolados. Em relação à vancomicina e imipenem não foi detectado isolado com perfil de resistência (tabela 6).

TABELA 6

Percentual de bactérias resistentes isoladas de hemoculturas de uma Unidade de Terapia Intensiva adulto – Belo Horizonte, 2010

Espécies bacterianas	Percentual de isolados resistentes	Percentual de resistência aos antimicrobianos			
		CRO	CIP	IPM	VAN
Bastonetes gram negativos	2	2	2	0	*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	-	2	*	0
Total	8 (100%)	2 (25%)	4 (50%)	0 (0%)	0 (0%)

CRO: ceftriaxona 30 µg, CIP: ciprofloxacina 5 µg, IPM: imipenem 10 µg, VAN: vancomicina 30 µg. * = antibiótico não testado para o isolado bacteriano.

Entre os isolados de hemocultura o *Staphylococcus epidermidis* foi mais freqüente (55,5%). O maior percentual de resistência foi observado para ciprofloxacina (50%).

5.2 Distribuição de bactérias resistentes isoladas de superfícies inanimadas e equipamentos na enfermaria e quarto de isolamento

No quarto de isolamento, a maior diversidade de isolados resistentes foi detectada no diafragma do estetoscópio (*Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina, *Acinetobacter baumannii* multirresistente e *Staphylococcus aureus* resistente à ciprofloxacina). No caso de *Acinetobacter baumannii* multirresistente, ainda foi encontrado na traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico. Na grade da cama e estetoscópio, foi detectado *Staphylococcus epidermidis* resistente à ciprofloxacina (figura 7).



FIGURA 7 – Distribuição de bactérias resistentes nas superfícies e equipamentos do quarto de isolamento da UTI adulto – Belo Horizonte, 2010

Da enfermaria, destacaram-se *Pseudomonas aeruginosa* resistente à ciprofloxacina e imipenem na borda interna de torneiras e nas margens superiores das pias (figura 6).

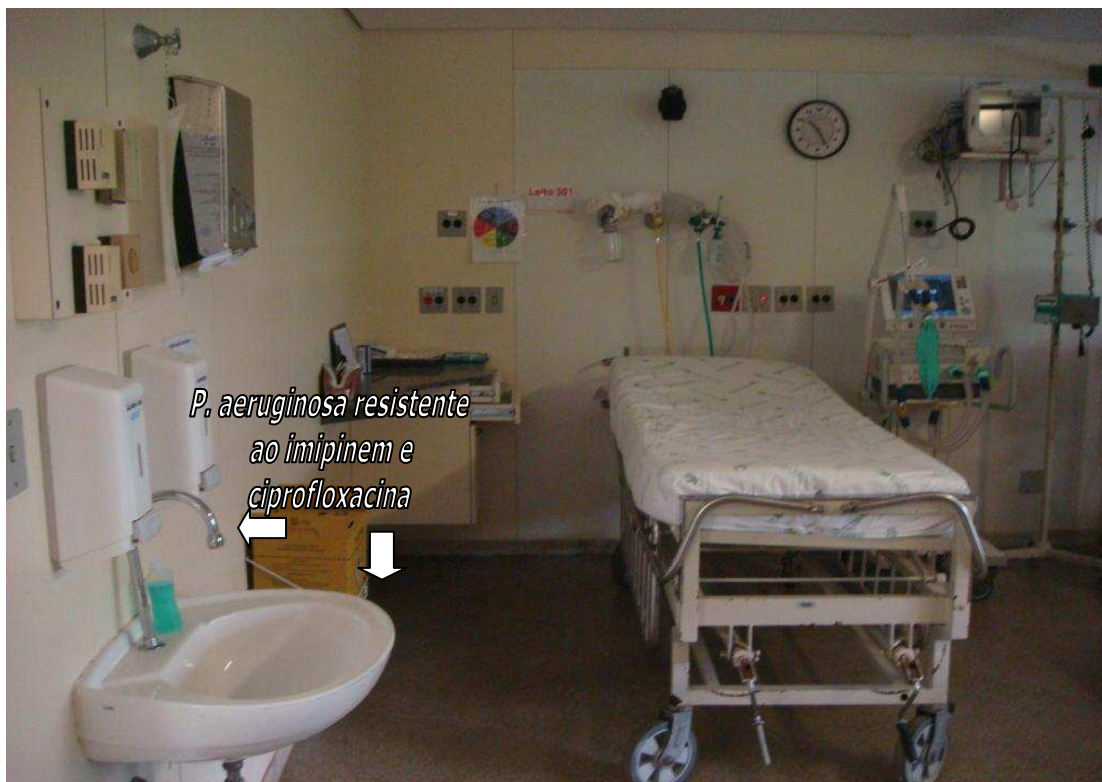


FIGURA 8: Distribuição de bactérias resistentes nas superfícies e equipamentos dos leitos da enfermaria da UTI adulto de um hospital universitário - Belo Horizonte, 2010

Parece não haver semelhança entre os isolados bacterianos resistentes recuperados dos quartos de isolamento e da enfermaria. No caso de *Pseudomonas aeruginosa*, foi recuperada apenas das margens superiores de pias e das bordas internas de torneiras na enfermaria.

As espécies *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, foram encontradas somente nos quartos de isolamento, em diafragma dos estetoscópios e traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico. Cabe destacar que *Staphylococcus aureus* resistente à ciprofloxacina e *Acinetobacter baumannii* multirresistente foram recuperados de estetoscópios da unidade do paciente colonizado e/ou infectado por tais espécies. *Acinetobacter baumannii*, ainda, foi isolado da traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico em uso por paciente em precaução de contato por este mesmo microrganismo.

5.3 Análise da similaridade dos isolados bacterianos resistentes obtidos das superfícies inanimadas, equipamentos e hemoculturas de rotina da Unidade de Terapia Intensiva

Para a extração do DNA total, foram selecionados treze isolados bacterianos com perfil de resistência a ciprofloxacina, ceftriaxona, imipenem ou vancomicina, recuperados das superfícies e equipamentos da unidade de isolamento (7) e da enfermaria (6). Dos 18 isolados obtidos das hemoculturas de pacientes foram selecionados 11 isolados, sendo 4 resistentes à ceftriaxona e/ou ciprofloxacina e 7 classificados como intermediários quanto ao padrão de resposta à ceftriaxona e ciprofloxacina.

A extração do DNA total foi realizada para os 13 isolados bacterianos do ambiente com perfil de resistência aos antimicrobianos testados, juntamente com aqueles de hemocultura (11) somando um total de 24 amostras. Após a extração do DNA total, apenas para 1 isolado não houve detecção de DNA (*Pseudomonas aeruginosa* resistente à ciprofloxacina e imipenem), restando para análise 23 isolados.

De todas as concentrações testadas de DNA (diluições de 2, 5, 10 e 20 vezes das amostras, 25 e 50 nanogramas), houve amplificação pelo rep-PCR apenas na concentração de 50 nanogramas de DNA/ μl para os dois iniciadores utilizados (GTG)5 e Box. Com o (GTG)5 foi registrado a amplificação de maior quantidade de amostras (Figuras 9 e 10).

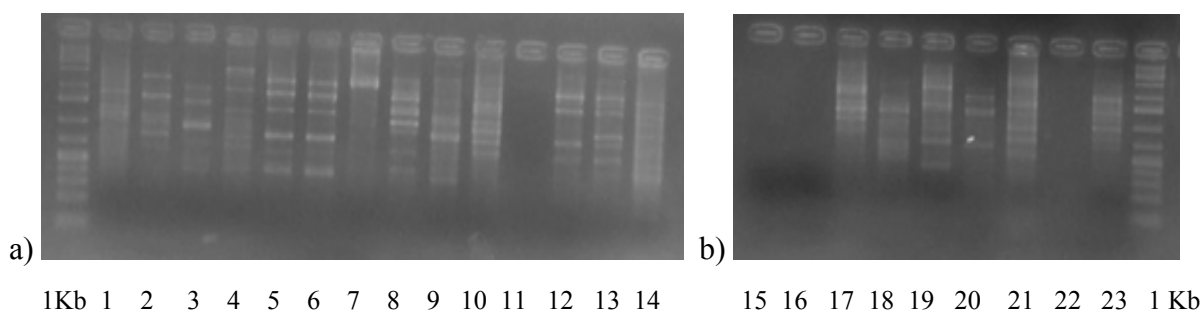


FIGURA 9 - Perfil de bandas das amostras amplificadas pelo rep-PCR com o iniciador (GTG) 5. a) Amostras de 1 a 14. b) Amostras de 15 a 23. **1 Kb**: marcador molecular; **1,4,9**: *Pseudomonas aeruginosa*; **2**: *Enterococcus faecalis*; **3,5,7**: *Staphylococcus epidermidis* isolados do ambiente; **5**: *Leuconostoc. Spp*; **8**: *Staphylococcus aureus*; **12,13,14,17,22**: *Staphylococcus epidermidis* isolados de hemocultura; **11, 15, 16, 18**: BGN isolados de hemocultura; **20**: *Staphylococcus haemolyticus*, **21**: *Myroides/Chryseobacterium indologens* e **23**: *Acinetobacter baumannii*.

A amostra 11 (bastonete gram negativo isolado de hemocultura) foi amplificada apenas com o Box-PCR. Entretanto, as amostras 15 e 16, também de bastonetes gram negativos isolados de hemocultura, não foram amplificadas com o GTG(5) e o BOX-PCR.

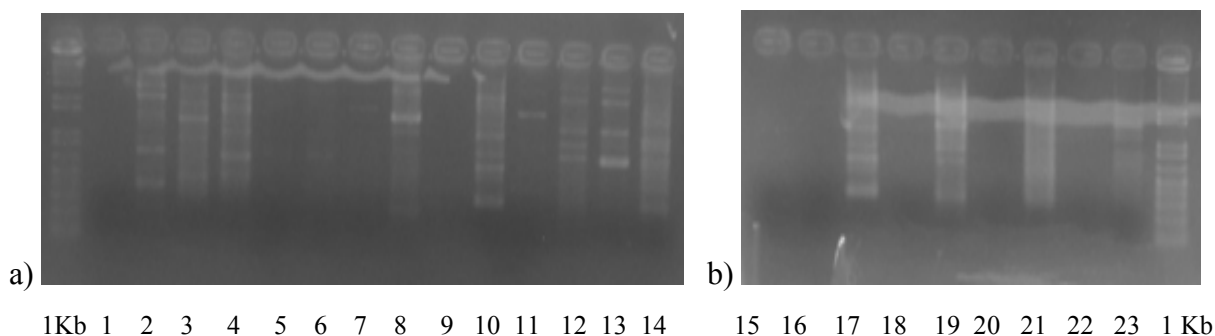


FIGURA 10 - Perfil de bandas das amostras amplificadas pelo rep-PCR com o iniciador Box. a) Amostras de 1 a 14, b) amostras de 15 a 23. **1 Kb**: marcador molecular; **1,4,9**: *Pseudomonas aeruginosa*; **2**: *Enterococcus faecalis*; **3,5,7**: *Staphylococcus epidermidis* isolados do ambiente; **5**: *Leuconostoc. Spp*; **8**: *Staphylococcus aureus*; **12,13,14,17,22**: *Staphylococcus epidermidis* isolados de hemocultura; **11, 15, 16, 18**: BGN isolados de hemocultura; **20**: *Staphylococcus haemolyticus*, **21**: *Myroides/Chryseobacterium indologens* e **23**: *Acinetobacter baumannii*.

As 23 amostras utilizadas na elaboração do dendograma pelo método Pearson-*Unweighted Pair-Group*, para o agrupamento dos isolados bacterianos similares, foram divididas em dois grupos: espécies Gram positivas; e espécies Gram negativas. A divisão dos grupos quanto ao resultado do Gram permitiu agrupamentos maiores, favorecendo a comparação entre espécies e gêneros.

Em relação ao perfil das bandas amplificadas com BOX-PCR no grupo de Gram negativas, foi observado um percentual de similaridade de 80% entre os isolados de *A. baumannii* (traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico) e bastonete Gram negativo (hemocultura de paciente) (Figura 11).

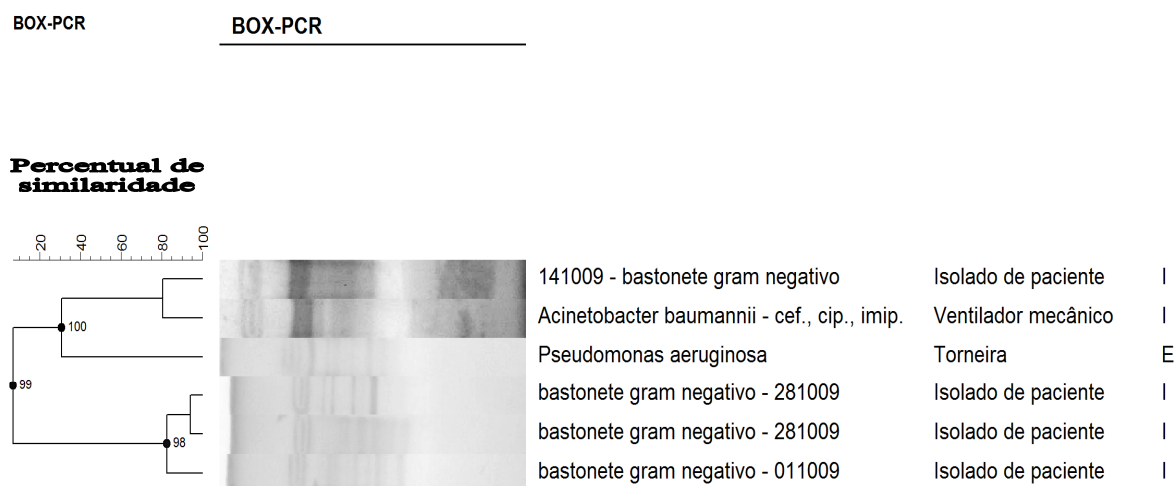


FIGURA 11 – Dendrograma com agrupamento das bactérias Gram negativas de acordo com os perfis de bandas gerados pelo BOX- PCR – Belo Horizonte, 2010

Quanto às bactérias Gram positivas, registrou-se uma similaridade de 60% entre os perfis de bandas resultantes do BOX-PCR para os isolados de *Staphylococcus epidermidis* recuperados da grade lateral da cama e diafragma do estetoscópio do isolamento e hemocultura de pacientes (IC: 85%).

O percentual mais elevado de similaridade foi verificado entre as amostras de *Leuconostoc* Spp. recuperado dos botões de comando do monitor de função cardíaca da enfermaria e de *Staphylococcus epidermidis* encontrado no diafragma do estetoscópio da unidade do isolamento. Foi encontrado um percentual de 95% de similaridade para os dois isolados (Figura 12).

Um elevado percentual de similaridade, ainda, foi observado para o isolado de *Enterococcus faecalis* (VRE) do diafragma do estetoscópio no quarto de isolamento, com uma amostra de *Staphylococcus epidermidis* do tampo da mesa e botões de comando do monitor de função cardíaca na enfermaria com susceptibilidade reduzida à ciprofloxacina. Os dois isolados agruparam com 80% de similaridade.

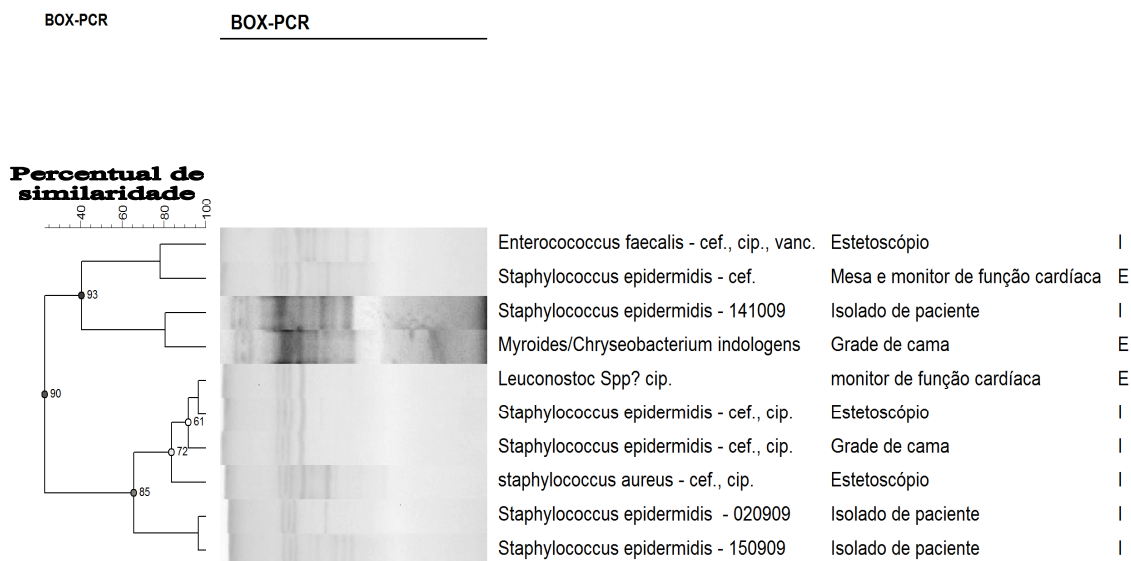


FIGURA 12 – Dendrograma com agrupamento das bactérias Gram positivas, de acordo com os perfis de bandas gerados pelo BOX- PCR – Belo horizonte, 2010

Os agrupamentos dos perfis de bandas dos isolados bacterianos gerados pelo rep-PCR com o iniciador (GTG)5 foram semelhantes aos resultados com o BOX-PCR. O perfil de bandas do isolado de *Acinetobacter baumannii* detectado na traqueia do tubo corrugado no ventilador mecânico do isolamento foi similar, com um percentual de 80%, ao bastonete gram negativo obtido em hemocultura de paciente (Figura 13).

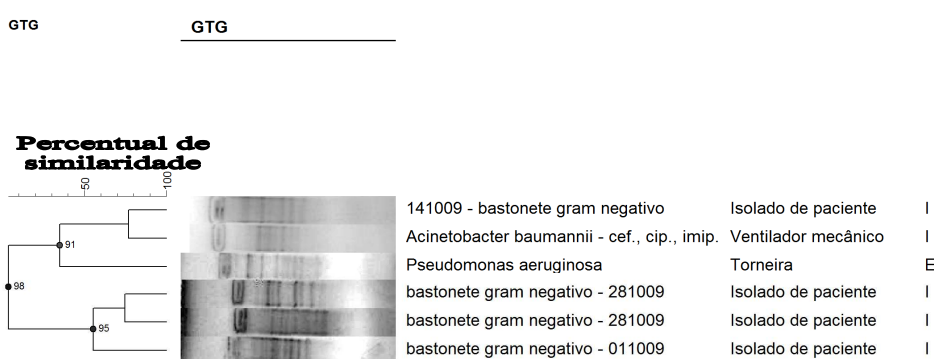


FIGURA 13 – Dendrograma com agrupamento das bactérias Gram negativas, de acordo com os perfis de bandas gerados pelo rep-PCR com o iniciador (GTG)5 – Belo Horizonte, 2010

De modo semelhante aos perfis de bandas resultantes do rep-PCR com o iniciador (GTG)5 foi destacado um percentual de 65% de similaridade entre os isolados de

Staphylococcus epidermidis recuperados do diafragma do estetoscópio, da grade lateral da cama do isolamento e da hemocultura de paciente (IC: 85%), além da similaridade de 80% entre os isolado de *Enterococcus faecalis* recuperado do estetoscópio do isolamento e *Staphylococcus epidermidis* na enfermaria.

O maior percentual de similaridade também foi observado entre as amostras de *Leuconostoc* Spp dos botões de comando do monitor de função cardíaca da enfermaria e de *Staphylococcus epidermidis* originada do diafragma do estetoscópio no quarto de isolamento. Os dois isolados agruparam com 95% de similaridade (Figura 14).

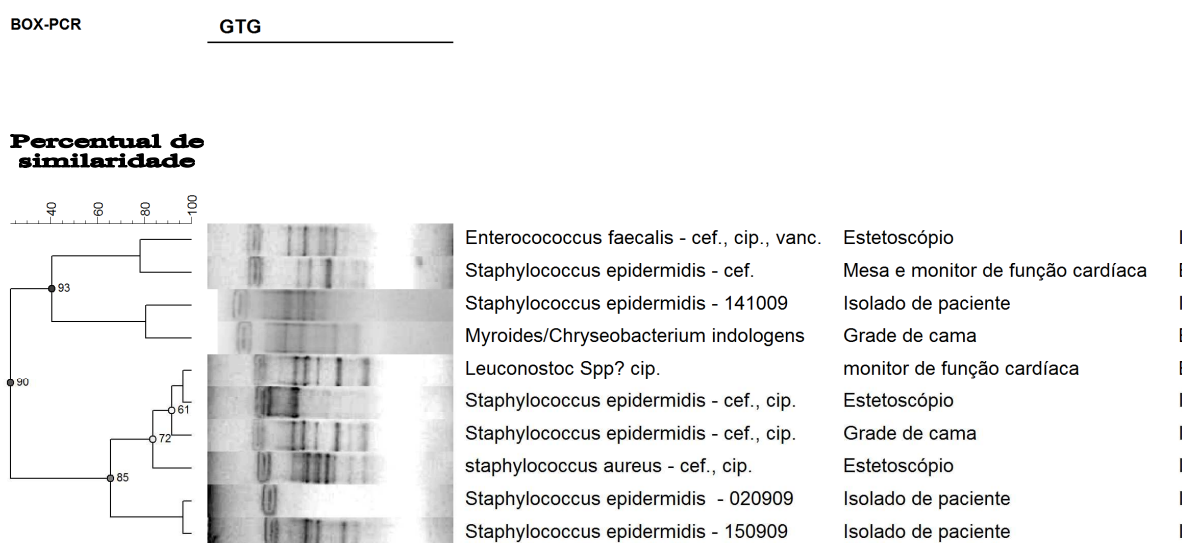


FIGURA 14 – Dendograma com agrupamento das bactérias Gram positivas, de acordo com os perfis de bandas gerados pelo rep-PCR com o iniciador (GTG)5 – Belo Horizonte, 2010

De acordo com o agrupamento dos isolados bacterianos no dendograma, não houve grande diversidade entre as amostras do ambiente da UTI e hemoculturas de pacientes do setor. Os percentuais de similaridade entre os isolados bacterianos foram consideráveis, variando de 60 a 95% entre isolados de *Staphylococcus epidermidis* obtidos de hemoculturas de pacientes, estetoscópio, das grades de cama e *Staphylococcus aureus* do estetoscópio da unidade de isolamento e *Leuconostoc* spp. do monitor de função cardíaca na enfermaria.

No agrupamento dos isolados Gram negativos destacou-se a similaridade de 80% entre *Acinetobacter baumannii* multirresistente encontrado na traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico com uma amostra de hemocultura de paciente.

6. DISCUSSÃO

Para as superfícies do ambiente hospitalar, aparentemente “limpas”, com pouco substrato, foi coerente uma menor contaminação dispensando a diluição das amostras. Contudo, observou-se a contaminação de todas as superfícies, sendo em alguns casos verificado incontáveis colônias (SEHULSTER *et al.*, 2004).

As placas com número de colônias inferior a 30 foram consideradas em razão do menor crescimento bacteriano em superfícies de hospitais, devido à reduzida quantidade de substrato presente neste tipo de ambiente.

A limpeza utilizada no ambiente hospitalar tem por objetivo reduzir a matéria orgânica e a carga microbiana em superfícies e equipamentos. Na UTI adulto, observou-se como norma e rotina a descontaminação diária das superfícies com álcool etílico a 70% na limpeza concorrente. Na limpeza terminal, após alta, transferência ou óbito do paciente, toda a unidade, inclusive pisos e paredes é limpa. Observa-se a utilização de hipoclorito de sódio (10.000 ppm) para superfícies não metálicas.

Para cada enfermaria e unidade de isolamento há uma pia com torneira acionada por pedal, uma almotolia com PVP-I (10%), papel toalha e dispensador com álcool gel. Observou-se, ainda, a disponibilidade de luvas em todas as unidades do paciente em enfermaria e no quarto de isolamento e capotes descartáveis para as unidades com pacientes em precaução de contato.

As diferentes médias de contaminação das superfícies e equipamentos podem estar relacionadas a: proximidade do equipamento ou superfície com o paciente, frequência de toque pelos profissionais e pessoas que transitam no setor, descontaminação realizada e tipo de material, dentre outros fatores.

A ausência de contaminação da solução antiséptica (PVP-I 10%) se justifica pelas condições adequadas de armazenamento, observando-se prazo de validade. Em contrapartida, o sabão acondicionado em copo descartável aberto e sem data de validade constituiu um ambiente favorável para o crescimento de *Pseudomonas putida*.

A espécie *Pseudomonas putida* no ambiente hospitalar é considerada como microrganismo oportunista pouco comum, mas que pode causar bacteremias e sepse em pacientes com imunossupressão (HORII, MURAMATSU, IINUMA, 2005).

De modo semelhante a detecção de *Pseudomonas aeruginosa*, também considerada oportunista, em bordas internas das torneiras foi coerente com seu tropismo por

locais úmidos. O microrganismo pode ser carregado pela própria água e colonizar torneiras e tubulações, formando biofilmes (PETGNAT *et al.*, 2006).

No ambiente hospitalar, a formação de biofilmes pelos microrganismos pode favorecer a permanência desses em superfícies e equipamentos, resultando em uma fonte contínua para dispersão de patógenos.

Nos biofilmes, os microrganismos aderidos às superfícies multiplicam-se, envolvidos numa matriz extracelular de polissacarídeos, sendo protegidos da ação de antimicrobianos e desinfetantes (SMITH, HUNTER, 2008)

Interessante observar que os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* foram recuperados apenas de torneiras da enfermaria, não sendo detectado nos quartos de isolamento. Diversos aspectos podem estar envolvidos, como possível troca de torneiras em pias dos quartos de isolamentos em ocasião mais recente que na enfermaria.

A presença de *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem em bordas internas de torneiras e margens superiores das pias da enfermaria pode estar relacionada à contaminação da água, podendo o microrganismo ser carregado em respingos que se depositam sobre as margens da pia. A troca de torneiras e o reforço da higienização das margens e bojos das pias provavelmente reduziriam a contaminação dessas superfícies (PETGNAT *et al.*, 2006).

A contaminação de torneiras e pias por *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem pode implicar risco de contaminação das mãos dos profissionais mesmo durante a higienização destas, sendo importante a fricção das mãos com álcool gel após lavar e secar as mãos.

A possibilidade de disseminação de *Pseudomonas aeruginosa* entre paciente e ambiente por meio das mãos foi observada em uma UTI do México. Na comparação de isolados da espécie de amostras de pacientes, superfícies ambientais e mãos dos profissionais, verificou-se a presença de clones comuns nos locais avaliados (CORONA-NAKAMURA *et al.*, 2001).

A presença de *Pseudomonas fluorescens/putida* em sabão acondicionado em recipiente aberto foi coerente com as características do microrganismo em questão, que sobrevive em variados ambientes, frequentemente encontrado em locais úmidos. Microrganismos como *Serratia marcescens* e *Pseudomonas spp.* podem ser encontrados em soluções de detergentes e desinfetantes, principalmente quando acondicionadas por longos períodos em recipientes sujos ou preparados incorretamente (SEHULSTER *et al.*, 2004).

O sabão líquido contaminado por *Pseudomonas putida*, conforme observado no quarto de isolamento na última coleta de amostras, pode ter sido utilizado para a higienização das mãos devido à ausência da almotolia com degermante, implicando risco de contaminação delas pela espécie bacteriana detectada.

Soluções de detergentes, desinfetantes e torneiras contaminadas por bactérias Gram negativas em UTI podem constituir foco de disseminação de microrganismos, contribuindo para as infecções entre pacientes imunossuprimidos (SEHULSTER *et al.*, 2004).

A detecção de bactérias resistentes em superfícies e equipamentos, possivelmente está relacionada à possibilidade de recontaminação depois de algumas horas da higienização do ambiente ou, mesmo, pela possibilidade de persistência de alguns microrganismos após a limpeza, além da alta frequência de manipulação e toque, por se tratarem de locais que exigem frequente reavaliação de parâmetros do paciente na sua condição clínica (HARDY *et al.*, 2007; DREES, 2008).

Sobre a contaminação de superfícies em contato com o paciente ou muito tocadas os resultados desse trabalho reforçam a hipótese de que essas se tornam contaminadas por bactérias resistentes. Observou-se a presença no ambiente da UTI de isolados com resistência à ciprofloxacina (fluorquinolona), ceftriaxona, (cefalosporina), imipenem (carbapenêmico) ou vancomicina (glicopeptídeo) em diafragma do estetoscópios, bordas internas das torneiras, ventilador mecânico, monitor de função cardíaca, grade de cama, pia e mesa de cabeceira.

O maior percentual de resistência observado para ciprofloxacina pode estar relacionado à sua ampla utilização o tratamento de infecções por bactérias tanto para Gram positivas como para Gram negativas. Destaca-se que o uso da ciprofloxacina para o tratamento das infecções por *Acinetobacter baumannii* está indicado no grupo A para testes preliminares, para aquelas por *Pseudomonas aeruginosa* no grupo B e para *Staphylococcus spp.* no grupo C, como alternativo (CLSI, 2009).

A detecção desses microrganismos de importância epidemiológica em equipamentos e superfícies, principalmente no quarto de isolamento, reforça a premissa de que o ambiente próximo ao paciente colonizado e/ou infectado por bactérias resistentes torna-se contaminado, conferindo potencial reservatório para a disseminação de patógenos (DREES, 2008).

Nas superfícies, equipamentos e hemoculturas analisados, foi verificada a presença de *Staphylococcus epidermidis* resistente à ciprofloxacina, apesar de a espécie não se configurar entre os cinco microrganismos de maior importância epidemiológica. Contudo, no

caso de *Staphylococcus epidermidis* um comensal presente na pele chama atenção por estar associado às infecções pela contaminação de dispositivos invasivos, como cateteres, devido a sua capacidade de adesão e multiplicação em polímeros, formando biofilmes (EIFF, PETERS, HEILMANN, 2002).

No estudo, 50% dos isolados de hemocultura foram *Staphylococcus epidermidis* com resistência à ciprofloxacina.

Destaca-se que os estafilococos coagulase negativos, a exemplo de *Staphylococcus epidermidis*, constituem a principal causa de infecções de corrente sanguínea. A origem de tais infecções geralmente relaciona-se ao momento da inserção de cateteres, da assepsia da pele, e da manipulação inadequada da conexão desses dispositivos (CDC, 2002, b).

Staphylococcus epidermidis pode-se apresentar como um microrganismo oportunista, causando infecções em pacientes imunossuprimidos e geralmente associadas aos dispositivos invasivos (KITAO, 2003).

Uma característica importante de *Staphylococcus epidermidis* é a produção de uma bacteriocina, lantibióticos, que pode favorecer a colonização da pele por esse microrganismo. Tal bacteriocina provavelmente inibe o crescimento de outros microrganismos (EIFF, PETERS, HEILMANN, 2002).

Outra característica de *Staphylococcus epidermidis* que pode favorecer a colonização de superfícies diversas pela espécie é a expressão de genes para a produção de biofilmes quando sob estresse ambiental. Em teste laboratorial, a exposição de isolados de *Staphylococcus epidermidis* a soluções de etanol e álcool benzílico induziu significativamente a expressão fenotípica de biofilmes por estes (MILISAVLJEVIC *et al.*, 2008).

Nesse contexto, considerando as características de *Staphylococcus epidermidis* – tais como microrganismo comensal da pele e mucosa humana e capacidade de permanência em superfícies por meio de biofilmes – ou seja, torna-se ainda mais preocupante a pressão seletiva causada pelo uso de antimicrobianos, que favorece a emergência de resistência destes no ambiente hospitalar.

Em relação a suas características de microrganismo comensal, *Staphylococcus epidermidis* desperta menor atenção que *Staphylococcus aureus*, espécie destacada pelos vários fatores de virulência, dentre eles a produção de toxinas (KITAO, 2003).

De modo similar os *Enterococcus* spp. são comuns no trato digestivo. Entretanto, sob a pressão seletiva podem apresentar resistência aos antimicrobianos, sendo preocupante a colonização por enterococos resistentes à vancomicina.

No caso dos enterococos resistentes à vancomicina, quando associados às infecções, representam um grande desafio, pois a possibilidade de tratamento se torna muito reduzida, associando adicional morbidade e mortalidade para os pacientes (DESHPANDE *et al.*, 2007).

Para o isolado de *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina recuperado do estetoscópio, do isolamento a concentração mínima de vancomicina necessária à inibição do crescimento foi duas vezes o valor de referência, o que o classifica como resistente. Tal isolado pode estar relacionado ao fenótipo mais comum, expresso por alguns microrganismos resistentes aos glicopeptídeos, vancomicina e teicoplanina, portadores do gene VanA. Isolados portadores do gene VanA possuem alto nível de resistência à vancomicina (MIC \geq 64 mcg/ml) e teicoplanina (MIC \geq 16 mcg/ml). Tal fenótipo pode ser expresso por *E. faecalis*. Neste estudo, o isolado de *E. faecalis* detectado em diafragma do estetoscópio na unidade de isolamento apresentou MIC \geq 64 mcg/ml. Entretanto, não foi testada a teicoplanina (ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

O fenótipo VanA é codificado por DNA plasmidial, sendo possível sua transferência entre espécies ou mesmo gêneros bacterianos (ROSSI, ANDREAZZI, 2005).

Cabe destacar que no momento da coleta das amostras não havia detecção de VRE em colonização ou infecção do paciente que ocupava a unidade. O paciente estava em precaução de contato por *Acinetobacter baumannii* multirresistente e *Serratia marcescens*. Provavelmente, houve permanência do patógeno no diafragma do estetoscópio após contato com uma fonte não identificada ou, até mesmo, contato com pacientes anteriores, uso fora do quarto de isolamento e, sobretudo, falha na limpeza e assepsia antes do próximo uso. Tal aspecto ressalta a extrema importância de desinfecção do estetoscópio antes e após os procedimentos, especialmente nas situações de isolamento por contato.

Cabe destacar que há relatos da permanência de enterococos resistentes à vancomicina por até 58 dias em bancadas, aumentando a possibilidade de transferência entre pacientes, ambiente e profissionais caso não seja realizada uma descontaminação eficaz. A utilização dos desinfetantes nas concentrações indicadas, em conformidade com o tipo de material, garante uma melhor desinfecção (DREES, 2008).

Em relação aos desafios do tratamento das infecções por enterococos resistentes à vancomicina, devido à reduzida opção de tratamento, sua detecção no ambiente e, especialmente, em estetoscópio aponta para a necessidade de maior atenção à higienização desses locais.

Embora neste estudo a limpeza e desinfecção de superfícies não foram foco de avaliação, cabe considerar que a análise da efetividade da limpeza por meio de métodos microbiológicos, o treinamento da equipe responsável pela higienização do ambiente com apresentação e a discussão dos dados relativos à contaminação da unidade do paciente podem favorecer um melhor controle da disseminação de bactérias resistentes entre pacientes e ambiente.

De modo semelhante, ainda em diafragma do estetoscópio do quarto de isolamento, detectou-se *Staphylococcus aureus* resistente à ciprofloxacina, sendo este um dos microrganismos de importância epidemiológica. O microrganismo foi observado em colonização de paciente na unidade de isolamento no momento de coleta das amostras. O uso da ciprofloxacina para tratamento das infecções por estafilococos está indicado no grupo C, como agente antimicrobiano alternativo.

Em coleta de amostras do diafragma dos estetoscópios de determinados profissionais atuantes em UTI, constatou-se que naqueles estetoscópios cujo profissional relatou realizar a desinfecção com álcool não houve detecção de crescimento bacteriano. Infere-se que o fato de o estetoscópio pertencer ao próprio profissional levou a um maior compromisso deste com a desinfecção do instrumento de trabalho. Em contrapartida, o resultado de cultura dos diafragmas de estetoscópios pertencentes à instituição revelou uma diversidade de recuperação de microrganismos (ORSI, 2009).

A desinfecção adequada de equipamentos pode contribuir para a redução da contaminação cruzada e da disseminação entre ambiente e pacientes de bactérias resistentes.

A transferência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e enterococos resistentes à vancomicina de superfícies e equipamentos em serviços de saúde é considerada como uma provável via disseminadora. A contaminação de superfícies por VRE geralmente é mais elevada em áreas clínicas de pacientes colonizados em múltiplos locais do corpo, com diarreia e falhas na técnica do uso de luvas pelos profissionais ou higienização do paciente e das mãos dos familiares e visitantes (SEHULSTER *et al.*, 2004).

Numa análise microbiológica da disseminação de enterococos resistentes à vancomicina entre locais do ambiente, pele íntegra do paciente e sequência de toques pelas mãos dos profissionais de saúde de uma UTI, registrou-se uma taxa de transferência de 10,6% do microrganismo entre pacientes e superfícies. Os pacientes colonizados e locais tocados pelas mãos dos profissionais foram monitorizados por culturas microbiológicas para a detecção de enterococos resistentes à vancomicina. Assim, foi possível determinar os locais

de origem de enterococos resistentes à vancomicina, aqueles posteriormente contaminados e a taxa de transferência de um local contaminado pelo patógeno para outro com culturas anteriores negativas (DUCKRO *et al.*, 2005).

Em registro da prevalência de enterococos resistentes à vancomicina em diversos grupos populacionais em Berlim, incluindo hospital e comunidade, foi encontrado um mesmo clone em diferentes grupos populacionais. Nos EUA e em países da Europa, observa-se a prevalência de cocos Gram positivos, com destaque para *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e enterococos resistentes à vancomicina, em superfícies e equipamentos do ambiente hospitalar, incluindo camas, torneiras, mesa de cabeceira, teclados de computador e maçanetas dentre outros (WENDT *et al.*, 1999; BURES *et al.*, 2000; LEMEN *et al.*, 2004; DREES *et al.*, 2008).

Visto que *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e enterococos resistentes à vancomicina constituem os microrganismos de maior vigilância relacionados às infecções nesses países, é coerente sua detecção na microbiota do ambiente destas instituições (WENDT *et al.*, 1999; BURES *et al.*, 2000; LEMEN *et al.*, 2004; DREES *et al.*, 2008).

Em estudos sobre a participação ambiental na disseminação de patógenos, verificou-se a contaminação de superfícies próximas ao paciente ou muito tocadas pelos profissionais de saúde e objetos (fômites). Em superfícies da cama, destacam-se *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile*, *Acinetobacter baumannii*, enterococos resistentes à vancomicina e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina, sendo o último mais frequente, além de serem isolados em maçanetas, cadeiras, assentos sanitários, mesa, teclados de computador e diafragma do estetoscópio. Nas torneiras, destaca-se *Pseudomonas aeruginosa*, comum em locais úmidos (EL SHAFIE *et al.*, 2004; PETGNAT *et al.*, 2006; DUBBERKE *et al.*, 2007; ROGUES *et al.*, 2007; HAYDEN *et al.*, 2008; Department of Infectious Diseases, National Institute of Health, Rome, Italy, 2009).

Na análise da disseminação de enterococos resistentes à vancomicina em uma UTI de Boston, verificou-se que o risco de aquisição do microrganismo foi de 3,4 vezes (IC: 95%, 1,2-9,6) para os pacientes em quartos nos quais foram observados resultados de culturas microbiológicas positivas do ambiente (DREES, 2008).

A permanência de enterococos resistentes à vancomicina em equipamentos e superfícies na unidade do paciente pode implicar um foco contínuo para a disseminação aos próximos pacientes, elevando as taxas de infecção pelo microrganismo e, conseqüentemente morbidade, mortalidade e custos naquele setor.

Portanto, considerando as dificuldades de tratamento das infecções por enterococos resistentes à vancomicina, torna-se visível a importância de prevenir sua disseminação seja no ambiente hospitalar ou comunidade.

A contaminação de superfícies e equipamentos do ambiente hospitalar pode ocorrer por uma diversidade de microrganismos resistentes. A resistência aos antimicrobianos pelas diversas espécies bacterianas se relaciona à adaptação dos organismos às alterações e a estresses ambientais. Tal adaptação pode ocorrer pela mutação cromossomal e seleção dos organismos, referindo-se à evolução vertical, ou transferência de material genético, para resistência entre isolados da mesma espécie ou, mesmo, diferentes espécies e gêneros, ou seja, evolução horizontal (TENOVER, 2006).

Portanto, considerando a resistência bacteriana uma adaptação evolutiva que certamente ocorre nas oportunidades de contato do microrganismo com um antimicrobiano torna-se imprescindível o uso racional dos antimicrobianos, além do controle das fontes e vias de dispersão desses microrganismos no ambiente hospitalar.

Assim, cabe ressaltar a importância das medidas de controle da disseminação de microrganismos resistentes. O uso criterioso dos antimicrobianos, com a escolha da dosagem e duração do tratamento adequados, pode reduzir a pressão seletiva causada em populações de microrganismos (TENOVER, 2006).

Na escolha criteriosa de um antimicrobiano para uso clínico – ou seja, a implementação da vigilância, auditoria à prescrição de antibióticos – além do MIC, outros três aspectos são considerados: a meia-vida do antibiótico – ou seja, o tempo de decréscimo de sua concentração, a biodisponibilidade; seu nível máximo no local da infecção; e a comparação do isolado com outros da mesma espécie e dados clínicos disponíveis da resposta *in vivo* de isolados semelhantes identificados no mesmo tipo de situação (WINN JR *et al.*, 2008).

Quanto às medidas de controle ambiental, o reforço na limpeza e desinfecção de superfícies e equipamentos, a utilização adequada das precauções de contato e o número suficiente de funcionários podem favorecer a redução da disseminação de microrganismos resistentes. Quando não observados tais aspectos, ocorre o favorecimento da disseminação destes patógenos entre pacientes, enfermarias e, mesmo outros setores ou hospitais, podendo ocasionar surtos (TENOVER, 2006).

A identificação de possíveis reservatórios de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, enterococos resistentes à vancomicina, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dentre outros, pode favorecer a prevenção da disseminação da resistência

bacteriana, ao demarcar os pontos de maior atenção para limpeza e descontaminação, assim como reforçar a necessidade de higienização das mãos após a realização de cuidados ao paciente e o contato com superfícies provavelmente contaminadas.

A contaminação de superfícies e equipamentos dos quartos de isolamento e enfermaria por *Staphylococcus epidermidis* se baseia na frequência em que são tocados, sendo que o microrganismo constitui parte da microbiota da pele e da mucosa humana. Nos resultados do rep-PCR, verificou-se um percentual de similaridade de 60-65% entre isolados de *Staphylococcus epidermidis* resistentes à ciprofloxacina do ambiente da UTI e hemocultura de pacientes.

De acordo com o percentual de similaridade, constatou-se pequena diversidade entre isolados de *Staphylococcus epidermidis* detectados em superfícies, equipamentos e hemocultura, reforçando a possibilidade da contaminação cruzada e a importância do ambiente na disseminação de bactérias resistentes.

O percentual de similaridade aproximado de 70%, valor proposto para a indicação de relação clonal por Wayne *et al.*, (1987), aponta uma pequena diversidade entre os isolados bacterianos do ambiente da UTI e pacientes. Tal resultado é coerente com a premissa de que a microbiota é específica para um estabelecimento de saúde de acordo com suas condições ambientais e perfil epidemiológico dos microrganismos relacionados às infecções.

Para a identificação das prováveis fontes disseminadoras de microrganismos de importância epidemiológica no ambiente hospitalar, ainda ressalta a necessidade do controle de fatores como umidade, temperatura, frequência de toque pelas mãos dos profissionais, limpeza realizada, tempo de permanência e viabilidade destes na possível fonte (NELSON *et al.*, 2006).

Um percentual de similaridade elevado (80%) em relação ao (GTG)5 e ao BOX-PCR foi observado entre o isolado de *Acinetobacter baumannii* resistente ao imipenem recuperado do ventilador mecânico do quarto de isolamento e um bastonete Gram negativo isolado da hemocultura, sem identificação bioquímica da espécie.

Cabe destacar que no ambiente hospitalar as infecções por *Acinetobacter baumannii* relacionam-se principalmente a pacientes críticos em UTI em uso de ventilação mecânica ou com feridas e queimados (TOWNER, 2009).

O maior percentual de similaridade (95%) foi verificado entre as amostras de “*Leuconostoc Spp*” (monitor de função cardíaca na enfermaria) e de *Staphylococcus epidermidis* (em diafragma do estetoscópio na unidade de isolamento) resistentes à

ceftriaxona e/ou ciprofloxacina. Entretanto, para confirmar se constituem um único clone, são necessários testes como a técnica de sequenciamento de genes do rRNA ribossômico 16 S, uma vez que os resultados podem variar entre os testes.

Os genes do RNA ribossômico da unidade de Swedberg 16, menor subunidade do ribossomo, são encontrados em todas as bactérias com pequena taxa de mutação. As regiões altamente variadas do rRNA 16 S são específicas para uma espécie bacteriana, sendo aplicável para a análise de similaridade entre espécies (XU *et al.*, 2004).

De acordo com o elevado percentual de similaridade entre as amostras de “*Leuconostoc spp.*” (monitor de função cardíaca na enfermaria) e de *Staphylococcus epidermidis* (estetoscópio do isolamento) resistentes à ciprofloxacina se confirmada a possibilidade de se referir a uma única espécie em testes como o rRNA ribossômico 16s, reforça a provável transferência cruzada de microrganismos entre enfermaria e isolamento. A possível transferência pode ter ocorrido via mãos dos profissionais de saúde, considerando a contaminação do monitor de função cardíaca, local frequentemente tocado durante o cuidado ao paciente.

Aqui, a importância dos testes moleculares em associação com os bioquímicos se destaca pela melhor discriminação entre isolados das diversas espécies de microrganismos favorecendo uma escolha adequada, seja de um antimicrobiano ou de medidas de controle da disseminação ambiental de um patógeno, apesar de estas técnicas ainda não serem comuns nos laboratórios hospitalares, pois demandam maiores custos e tempo, dentre outros aspectos.

Diante da possibilidade da contribuição ambiental em relação à disseminação de bactérias resistentes, cabe ressaltar a importância da avaliação dos procedimentos de limpeza e desinfecção de rotina das superfícies e dos equipamentos quanto à sua eficácia, além da possibilidade de associação de novos métodos, a exemplo da radiação ultravioleta, ainda em estudo, na limpeza terminal.

A utilização adequada de métodos de limpeza e desinfecção pode favorecer uma melhor descontaminação de superfícies com persistência de microrganismos, tais como enterococos resistentes à vancomicina e espécies que produzem biofilmes. Assim, pode-se reduzir a quantidade de microrganismos viáveis em superfícies, conseqüentemente, diminuindo a disseminação ambiental de patógenos.

Destaca-se que isolados de *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina e enterococos resistentes à vancomicina podem ser sensíveis aos diversos desinfetantes

disponíveis, tais como álcool e hipoclorito de sódio, nas concentrações indicadas para a desinfecção das superfícies (SEHULSTER *et al.*, 2004).

Além do reforço da limpeza e desinfecção de superfícies e equipamentos do ambiente hospitalar, torna-se interessante também elaborar modos de avaliação da eficácia da descontaminação utilizada nesse ambiente, a fim de garantir maior segurança na realização do cuidado para os pacientes e profissionais de saúde.

Geralmente, a verificação da eficácia da limpeza é realizada pela inspeção visual. No entanto, superfícies aparentemente limpas podem se contaminar por microrganismos de importância epidemiológica, a exemplo das bactérias resistentes.

Algumas possíveis técnicas para avaliar a eficácia da limpeza do ambiente hospitalar têm sido testadas em estudos recentes (GOODMAN *et al.*, 2008; SHERLOCK *et al.*, 2009).

Na avaliação da eficácia da limpeza terminal após a alta do paciente em uma UTI de Boston, foram identificadas as superfícies mais frequentemente tocadas e marcadas por uma substância sensível à luz negra, não tóxica, invisível e removível apenas com pano úmido friccionado com moderada pressão. Ao final de seis meses, registrou-se que a avaliação da eficácia da limpeza associada ao reforço do uso de desinfetantes reduziu a probabilidade de culturas positivas para MRSA e VRE em amostras das superfícies marcadas para avaliação (GOODMAN *et al.*, 2008).

Um método rápido de verificação da limpeza baseia-se na bioluminescência produzida da oxidação da luciferina pela enzima luciferase, consumindo ATP (trifosfato de adenosina) dos microrganismos e substâncias orgânicas. O teste ATP-bioluminescência pode ser útil na detecção da carga microbiana e resíduos orgânicos presentes em superfícies do ambiente hospitalar (SHERLOCK *et al.*, 2009).

A detecção rápida por meio do ATP da carga microbiana e resíduos orgânicos pode favorecer uma avaliação adequada e aplicável da limpeza de rotina nos estabelecimentos de saúde. Assim, pode contribuir para verificar as condições de limpeza de superfícies e equipamentos aparentemente limpos, além de destacar os locais com necessidade de maior reforço na higienização.

Tais métodos, se associados à inspeção visual, podem favorecer a avaliação da eficácia da limpeza. Nesse contexto, análises da eficácia desses métodos em associação à inspeção visual, dos custos e dos benefícios são interessantes de serem avaliadas para utilização no ambiente hospitalar.

Dentre as medidas de controle da disseminação da resistência bacteriana, a educação permanente dos profissionais e a orientação dos pacientes, familiares e visitantes quanto às medidas de controle das IRAS, com ênfase na higienização das mãos, constituem importante aspecto para abordagem nos estabelecimentos de saúde.

O investimento na educação e no treinamento dos profissionais em relação às precauções padronizadas, via de disseminação dos microrganismos e modo de prevenção, constitui importante medida para abordagem (SIEGEL *et al.*, 2007).

A educação permanente, com avaliações periódicas e retorno aos profissionais dos resultados adequados em relação ao controle das infecções, pode levar a uma maior adesão, e participação, de toda a equipe à prática de um cuidado seguro (SIEGEL *et al.*, 2007).

O envolvimento do paciente e familiares nas medidas de precauções, com ênfase na higienização das mãos, também constitui um alvo que pode favorecer o controle da disseminação de microrganismos resistentes (SIEGEL *et al.*, 2007).

Entretanto, de acordo com o delineamento e o tipo de estudo realizado, não houve a pretensão de analisar aspectos como eficácia da limpeza, tempo de permanência dos microrganismos em superfícies, tipos de superfície, variações de temperatura e umidade, medidas preventivas da disseminação de patógenos e risco de aquisição de bactérias resistentes pelo pacientes. Tais aspectos são de grande relevância para estudos futuros.

Estudos comparativos dos microrganismos isolados em amostras clínicas, ambientais e das mãos dos profissionais de saúde, dentre outras possíveis fontes e vias de disseminação, podem permitir a avaliação do ciclo de determinado patógeno em estabelecimentos de saúde.

A análise microbiológica antes e após a limpeza das superfícies e dos equipamentos pode permitir uma melhor avaliação da eficácia da limpeza e identificar os locais com maior carga microbiana, para melhor adequação dos métodos utilizados. Cabe também reforçar a necessidade da limpeza mesmo para superfícies aparentemente limpas, além de treinamentos sobre a limpeza de equipamentos, conforme instrução do fabricante, e métodos usados no setor e, ainda, uma avaliação periódica da conformidade das práticas diárias de higienização realizadas pelos profissionais com as preconizadas e treinadas.

Nesse contexto, as estimativas do risco de colonização ou infecção de pacientes em ambiente possivelmente contaminado por bactérias resistentes são relevantes para verificar o potencial de reservatório do ambiente hospitalar. Para tais estimativas, a associação

dos testes bioquímicos aos moleculares possibilita a identificação e comparação mais precisa dos isolados bacterianos presentes no ambiente e paciente.

Outro aspecto interessante para avaliação trata-se do possível impacto na redução da contaminação das superfícies e dos equipamentos se reforçadas por medidas como a higienização das mãos pelos profissionais e pessoas que circulam em um determinado setor.

7. CONCLUSÃO

Neste estudo foram obtidas 124 amostras das superfícies inanimadas (bordas internas das torneiras, grade lateral da cama, margens superiores da pia e tampo da mesa de cabeceira) e os equipamentos (diafragma do estetoscópio, traqueia do tubo corrugado do ventilador mecânico e botões de comando do monitor de função cardíaca) da UTI adulto. Em relação às hemoculturas foram obtidas 24 amostras.

No ambiente da UTI as espécies de importância epidemiológica isoladas foram *Acinetobacter baumannii* multirresistente, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* resistentes à ciprofloxacina, *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina e *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem e ciprofloxacina.

As espécies bacterianas isoladas das amostras de hemocultura foram *Staphylococcus epidermidis* e bastonetes Gram negativos resistentes à ciprofloxacina.

Não houve grande diversidade entre isolados bacterianos resistentes recuperados do ambiente e hemoculturas de pacientes, sendo observados percentuais de similaridade entre 60% e 95% quando comparadas amostras de superfícies, equipamentos e paciente da UTI adulto. Tal similaridade entre isolados bacterianos de hemoculturas de pacientes e amostras ambientais de superfícies e equipamentos reforça a premissa de transferência horizontal de patógenos.

Entre os isolados de *Staphylococcus epidermidis* detectados na grade lateral da cama, campânula do estetoscópio da unidade de isolamento e hemoculturas de pacientes da UTI adulto, o percentual de similaridade foi de aproximadamente 60%. De modo similar, para *Acinetobacter baumannii* multirresistente, detectado no ventilador mecânico, registrou-se uma similaridade de 80% em relação a uma amostra de hemocultura de paciente. Conclui-se que as superfícies inanimadas frequentemente tocadas e equipamentos próximos ao paciente na UTI contaminam-se por bactérias resistentes, sugerindo relação clonal com isolados bacterianos de hemocultura de pacientes.

A contaminação de superfícies e equipamentos por bactérias resistentes, a exemplo de *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina e *Acinetobacter baumannii* multirresistente, foi mais comum na unidade de isolamento, enquanto na enfermaria foi coerente a presença de microrganismos oportunistas adaptados às características ambientais, como locais úmidos, conforme se verificou a presença de *Pseudomonas aeruginosa* resistente

ao imipenem em bordas internas de torneiras e margens superiores da pia, provavelmente veiculada pela água.

A contaminação do diafragma do estetoscópio por *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente à ciprofloxacina e *Acinetobacter baumannii* multirresistente na unidade de isolamento reforça a necessidade de atenção na desinfecção do equipamento, que pode constituir um meio de disseminação de diferentes patógenos.

Apesar de, muitas vezes, aparecer como contaminante de amostras clínicas e de ser considerado pouco virulento, a presença de *Staphylococcus epidermidis* resistente à ciprofloxacina, um antimicrobiano alternativo, detectado em diafragma do estetoscópio, grade lateral da cama do isolamento e hemoculturas de pacientes da UTI com importante percentual de similaridade, merece atenção pela sua característica e implicação em infecções oportunistas.

Assim, observa-se a necessidade do reforço de medidas de controle, redução e prevenção da disseminação de microrganismos resistentes, além de maior atenção à descontaminação de superfícies e equipamentos em UTI e avaliação da sua eficácia, aspectos não analisados no estudo, mas de grande relevância nesse contexto.

REFERÊNCIAS

ADACHI, J. A.; PEREGO, C.; GRAVISS, L.; DVORAK, T.; HACHEM, R.; CHEMALY, R. F., et al. The role of interventional molecular epidemiology in controlling clusters of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill cancer patients. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.37, p.442-6, 2009.

AZAMBUJA, E. P.; PIRES, P. D.; VAZ, M. R. C. prevenção e controle da infecção hospitalar: as interfaces com o processo de formação do trabalhador. **Revista Texto & Contexto Enfermagem.**, Florianópolis, v.13, p.79-86, 2004.

BEDENDO, B.; PIGNATARI, A. C. C. Tipagem de *Enterococcus faecalis* por pulsed-field gradient gel electrophoresis e reação em cadeia da polimerase. **Rev. Ciência, Cuidado e Saúde**, Maringá, v.1, n.1, p.117-122, 2002.

BIONUMERICIS – APPLIED MATHS. Versão 6.0. St. Martens-Latem. Apresenta a possibilidade de combinação de informações de diversas fontes fenotípicas e genotípicas em uma base de dados global, conduzindo a análises conclusivas. Disponível em: <<http://www.applied-maths.com/bionumerics/bionumerics.htm>>. Acesso em: 07 abr. 2010.

BIOMERIAUX – Apiweb. COLT Télécommunications France. Apresenta a possibilidade de identificação dos perfis bioquímicos de bactérias, e permite interpretar os resultados obtidos nos testes. Disponível em: <https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>. Acesso em: 08 ago. 2009.

BORGMANN, S.; WOLZ, C.; GROBNER, S.; AUTENRIETH, I. B.; HEEG, P.; GOERKE, C.; et al. Metallo-b-lactamase expressing multi-resistant *Acinetobacter baumannii* transmitted in the operation area. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.57, p.308-315, abr. 2004.

BOYCE, J. M. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 65, p.50-54, jun. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde. 2. ed. Brasília, 1994. 50 p. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/processamento_artigos.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. 1 ed. Brasília, 2004. 381p. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf>. Acesso em: 19 maio 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA. Resolução – RDC n. 2.616, de 12 de maio de 1998. Regulamenta as ações de controle de infecção hospitalar no país. **Diário oficial da União**, Brasília, 13 maio 1998. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/2616_98.htm>. Acesso em: 12 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária / ANVISA. Resolução - RDC n. 50, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 fev. 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/50_02rdc.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2010.

BURES, S.; FISHBAIN, J. T.; UYEHARA, C. F. T.; PARKER, J. M.; BERG, B. W. Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in intensive care unit. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.28, p.465-70, 2000.

CARRARO, T. E. Os postulados de Nightingale e Semmelweis: poder/vital e prevenção/controlado como estratégias para evitabilidade das infecções. **Rev. Latino-am Enfermagem.**, Ribeirão Preto, v.12, n.4, p.650-7, jul-ago. 2004.

Centers for Diseases Control (CDC). *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-United States, 2002. **MMWR.**, v.51, p.565-567, 2002 a.

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

Centers for Diseases Control (CDC) and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for environmental infection control in health-care facilities. Atlanta, GA, 2003. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Enviro_guide_03.pdf>. Acesso em 12 jul. 2009.

CHRISTOFI, N.; MISAKYAN, M. A.; MATAFONA, G. G.; BARKHUDAROV, E. M.; BATOEVI, V. B.; KOSSYI, I. A *et al.* UV treatment of microorganisms on artificially-contaminated surfaces using excimer and microwave UV lamps. **Chemosphere.**, Oxford, v.73, p.717-22, 2008.

CHITNIS, V.; CHITNIS, S.; PATIL, S.; CHITNIS, D. Practical limitations of disinfection of body fluid spills with 10.000 ppm sodium hypochlorite (NaOCl). **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.32, p.306-8, 2004.

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; 2009.

CORONA-NAKAMURA, A. L.; MIRANDA-NOVALES, M. G.; LEÑOS-MIRANDA, B. Epidemiologic study of *Pseudomonas aeruginosa* in critical patients and reservoirs. **Arch. Med. Res.**, México, 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 meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition: the case for hospital cleaning. **Lancet Infect. Dis.**, Nova York, v.8, p.101-13, 2008.

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.**, New Jersey, v. 28, n. 3, p. 341-345, mar. 2007.

Department of Infectious Diseases, National Institute of Health, Rome, Italy. Contamination of stethoscopes with MRSA and current disinfection practices. Letter to editor. **J. Hosp. Infect.**, Londres, 276-7, 2009.

DEPLANO, A.; DENIS, O.; POIREL, L.; HOCQUET, D.; NONHOFF, C.; BYL, B., et al. Molecular characterization of an epidemic clone of panantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **J. Clin. Microbiol.**, Whashington, v.43, n.3, p.1198-204, 2005.

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.**, New York, v.58, p.163-170, 2007.

Division of healthcare Quality Promotion, National Center for Infectious Diseases, Center for Disease Control and Prevention, Public health Service, US Department of Health and Human services. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from january 1992 through june 2004, issued october 2004. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, special article., p.470-85, out.2004.

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.678-685, mar. 2008.

DUBBERKE, E. R.; RESKE, K.A.; NOBLE-WANG, J.; THOMPSON, A.; KILLGORE, G.; MAYFIELD, J., et al. Prevalence of *Clostridium difficile* environmental contamination and strain variability in multiple healthy care facilities. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.35, p.315-8, 2007.

DUCKRO, A. M.; BLOM, D.W.; LYLE, E. A.; WEISNTEIN, R. A.; HAYDEN, M. K. Transfer of vancomycin-resistant *Enterococci* via healthy care worker hands. **Arch. Inter. Med.**, Chicago, v.165, p.302-7, fev.2005.

EIFF, C. V.; PETERS, G.; HEILMANN, C. Pathogenesis of infections due to coagulase negative *Staphylococci*. **Lancet Infect. Dis.**, Nova York, v.2, p.677-85, 2002.

EL SHAFIE, S. S.; ALISHAQ, M.; GARCIA, M. L. Investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in trauma intensive care unit. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.56, p.101-5, 2004.

ENOCH, D. A.; SUMMERS, C.; BROWN N. M.; MOORE, L.; GILLHAM, M. I.; BURNSTEIN, R. M. et al. Investigation and management of an outbreak of multidrug-

- carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Cambridge, UK. **J. Hosp. Infect.**, Londres, p.1-10, maio. 2008.
- FALK, P. S.; WINNIKE, J.; WOODMANSEE, C.; DESAI, M.; MAYHALL, C. G. Outbreak of vancomycin-resistant Enterococci in a burn unit. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, v. 21, n.9, p.575-582, set. 2000.
- FARR, M. B. What to think if the results of the National Institutes of Health randomized trial of methicillin-resistant staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococcus control measures are negative (and other advice to young epidemiologists): A review and an au revoir. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, v.27, n.10, p.1096-1106, out.2006.
- FERNANDES, A.T. Semmelweis: uma história para reflexão. Disponível em: <http://www.ccih.med.br/semmelweis.html>. Acessado em: 13/12/09 *apud* THORWALD, J. O século dos cirurgiões. Hemus Livraria Editora. p.236-8, s/d.
- 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.; WAGNER, E. H. Trad. SCHMIDT, M. I. Epidemiologia clínica: elementos essenciais. 3 Ed. Porto Alegre: Artes Médicas. 1996. 281p.
- FONTANA, R. T. As infecções hospitalares e a evolução histórica das infecções. **Rev. Bras. Enferm.**, Brasília, v.59, n.5, p.703-6, set/out. 2006.
- GALES, A. C.; TORRES, P. L.; VILARINHO, D. S. O.; MELO, R. S.; SILVA, C. F. L.; CEREDA, R. F. Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v.8, n.4, p.267,271, ago.2004.
- 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.**, New Jersey, v. 27, n.11, p. 1233-1241, nov. 2006.
- GIAMARELLOU, H.; ANTONIADOU, A.; KANELLAKOPOULOU, K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? **Int. J. Antimicrob. Agents.**, Amsterdam, v.32, n.2, p.106-119, 2008.
- GOODMAN, E. R.; PLATT, R.; BASS, R.; ONDERDONK, A. B.; YOKOE, D. S.; HUANG, S.S. Impact of environmental cleaning intervention on the presence of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant Enterococci on surfaces in intensive care unit rooms. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, p.593-99, 2008.
- HALL, B. G. Predicting the evolution of antibiotic resistance genes. **Nat. Rev. Microbiol.**, Londres, v.2, p.430-5, 2004.
- 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.

HAYDEN, M. K.; BLOM D. W.; LYLE E. A.; MOORE C. G.; WEISTEN, R. A. Risk of hand or glove contamination after contact with vancomycin-resistant *Enterococcus* or the colonized patients' environment. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, v.29, n.2, p.149-54, fev.2008.

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.**, New Jersey, v.27, n.2, p. 127-132, fev. 2006.

HARDY, K. J.; GOSSAIN, S.; HENDERSON, N.; DRUGAN, C.; OPPENHEIM, B. A.; GAO, F.; HAWKEY, P. M. Rapid recontamination with MRSA of the environment of an intensive care unit after decontamination with hydrogen peroxide vapour. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.66, p.360-8, 2007.

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.

HENGELHART, S.; KRIZEK, L.; GLASMACHER, A.; FISCHNALLER, E.; MARKLEIN, G.; EXNER M. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a haematology -oncology unit associated with contaminated surface cleaning equipment. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.52, p.93-98, n.2, out. 2002.

HORAN, T. C.; ANDRUS, M.; DUDECK, M. A. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infection of acute care setting. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.36, p.309-332, mar.2008.

HORII, T.; MURAMATSU, H.; IINUMA, Y. Mechanisms of resistance to fluoroquinolones and carbapenems in *Pseudomonas putida*. **J. Antimicrob. Chemother.**, Londres, v.56, p.643-7, 2005.

HUANG, S. S.; DATTA, R.; PLATT, R. Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. **Arch. Inter. Med.**, Chicago, v.166, p.1945-1951, out.2006.

KAZAKOVA, S. V.; WARE, K.; BAUGHMAN, B.; BILUKA, O.; PARADIS A.; SEARS, S., et al. A hospital outbreak of diarrhea due to an emerging epidemic strain of *Clostridium difficile*. **Arch. Inter. Med.**, Chicago, v.166, p.2518-24, 2006.

KATZUNG, B. G. Farmacologia básica e clínica. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 991p.

KAYABAS, U.; BAYRAKTAR, M.; OTLU, B.; UGRAS M.; ERSOY, Y.; BAYINDIR, Y., et al. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* because of inadequate disinfection procedures

in a urology unite: A pulsed-field gel electrophoresis – based epidemiologic study. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.36, p.33-8, 2008.

WIN JR, C. W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; KONEMAN, E.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; et al. koneman, diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.p.1565.

KITAO, T. Survey of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from the fingers of nursing students. **J. Infect. Chemother.**, Tokyo,v.9, p.30-4, 2003.

LEMMEN, S. W.; HÄFNER, H.; ZOLLDANN, D.; STANZEL, S.; LÜTTICHEN, R. Distribution of multi-resistant gram-negative versus gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 56, p. 191 -197, n. 3, mar. 2004.

MARTINEZ, J. A.; RUTHAZER, R.; HANSJOSTEN, K.; BAREFOOT, L.; SNYDMAN D, R. Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant *Enterococci* in patients treated in a medical intensive care unit. **Arch. Inter. Med.**, Chicago, v.163, p.1905-1912, set.2003.

MENDES, C.; OPLUSTIL, C.; SAKAGAMI, E.; TURNER, P.; KIFFER, C.; THE MYSTIC BRAZIL GROUP. Antimicrobial Susceptibility in Intensive Care Units: MYSTIC program Brazil 2002. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v.9, n.1, p.44-51, 2005.

MEYER, E.; SCHWAB, F.; GASTMEIER, P.; JONAS, D.; RUEDEN, H.; DASCHNER, F. D. Methicillin – resistant *staphylococcus aureus* in German intensive care units during 2000-2003: data from project SARI (Surveillance of Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance in Intensive Care Units). **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey,v. 27, n. 2, p. 146-154, fev. 2006.

MILIVLJEVIC, V.; TRAN, L. P.; BATMALLE, C.; BOOTSMA, H. J. Benzyl alcohol and ethanol can enhance the pathogenic potential of clinical *Staphylococcus epidermidis* strains. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.36, p.552-8, 2008.

NEELA, V.; MARIANA, N.S.; RADU, S.; ZAMBERIL, S.; RAHA, A.R.; ROSLI, R. Use of RAPD to investigate the epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Malaysian hospitals. **World J. Microbiol Biotechnol.**, Netherlands, v.21, p.245–51, 2005.

NELSON, J.; BIVENS, A.; SHINN, A.; WANZER, L.; KASPER, C. Microbial flora on operating room telephones. **AORN J.**, Denver, v.83, n.3, p.607-26, 2006.

OLIVEIRA, A. C. Infecções hospitalares. Epidemiologia, prevenção e controle. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 710p.

OLIVEIRA, A. C.; HORTA, B.; MARTINHO, G. H.; DANTAS, L. V.; RIBEIRO, M. M. Infecção hospitalar e resistência bacteriana em pacientes de um centro de terapia intensiva de um hospital universitário. **Online Braz. J. Nurs** (online)., Niterói,v.6, n.2, 2007.

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.**, Ribeirão Preto,v.17, n.5, p.625-31, 2009.

Organização Mundial de Saúde. World Alliance for patient Safety. WHO guidelines on hand hygiene in healthy care (advanced draft). Geneva, 2006. Disponível em: <<http://www.cec.health.nsw.gov.au/files/clean-hands/resources/who-guidelines.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2010.

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.

ORSI, G. Contamination of stethoscopes with MRSA and current disinfection practices. **J. Hosp. Infect.**, Londres, Letter to the editor, 2009.

OSBORN, A. M.; SMITH, C. J. **Molecular Microbial Ecology.** New York: Taylor & Francis, 2005. Disponível em: <http://www.ccg.unam.mx/~vinuea/Papers_PDFs/Rademaker_MME_Ch4_Typing_env_isol_ates05.pdf>. Acesso em: 26 out. 2009.

OTTER, J. A.; CUMMINS, M.; AHMAD, F.; TONDER, C. V.; DRABU, Y. J. Assessing the biological efficacy and rate of recontamination following hydrogen peroxide vapour decontamination. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.67, p.182-8, 2007.

PENA, C.; DOMINGUEZ, M. A.; PUJOL, M.; VERDAGUER, R.; GUDIOL, F.; ARIZA, J. An outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a urology ward. **Clin Microbiol Infect.**, v.9, 938-43, 2003.

PEREZ, F.; HUJER, A. M.; HUJER, K. M.; DECKER, B. K.; RATHER, P. N.; BONOMO, R. A. Global Challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v.51, n.10, p.3471-84, out.2007.

PETIGNAT, C.; FRANCIOLI, P.; NAHIMANA, N.; WENGER, A.; BILLE, J.; SCHALLER, M. D., et al. Exogenous source of *Pseudomonas aeruginosa* in a intensive care unit patients: implementation of infection control and follow-up with molecular typing. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, v.27, n.9, p.953-7, set.2006.

PIDDOCK, L. J. V. Multidrug-resistance efflux pumps – not just for resistance. **Nat. Rev. Microbiol.**, Londres, v.4, p.629-636, ago. 2006.

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, Out.2005.

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.

RADEMAKER, J. L. W.; DE BRUIJN, F. J. Characterization and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer-assisted patten analysis. **Appl. Envir. Microbiol.**, v.64, p.2096-2104,1998.

- REINOSO, E.; BETTERA, S.; FRIGERIO, C.; DIRENZO, R.; CALZOLARI, ; BOGNI, C. RAPD-PCR analysis of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and human hosts. **Microbiol. Res.**, Jena, v.159, p.245–255, 2004.
- ROGUES, A-M.; BOULESTREAU, H.; LASHE’RAS, A.; BOYER, A.; GRUSON, D.; MERLE, C., et al. Contribution of tap water to patient colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in a medical intensive care unit. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.67, p.72-8, 2007.
- ROHR, U.; KAMINSKI, A.; WILHELM, M.; JURZIK, L.; GATERMANN, S.; MUHR, G. Colonization of patients and contamination of the patients’ environment by MRSA under conditions of single-room isolation. **Int. J. Hyg. Environ. Health.**, Jena,v.212, p.209-215, 2009.
- ROSS, T. L.; MERZ, W. G.; FARKOSH, M.; CARROLL, K. C. Comparison of an automated repetitive sequence-based PCR microbial typing system to pulsed-field gel electrophoresis for analysis of outbreaks of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Microbiol.**, Whashington, v.43, n.11, p.5642-7, 2005.
- ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. Resistencia bacteriana. Interpretando o antibiograma. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p.118.
- RUTALLA, 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.**, New 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, 2004.
- SANTOS, A. A. M.; LOPES, F. F. P.; CARDOSO, M. R. A.; SERUFO, J. C. Diagnóstico do controle da infecção hospitalar no Brasil. In: Programa de Pesquisas Hospitalares em Busca de Excelência: Fortalecendo o Desempenho Hospitalar no Brasil, ANVISA, 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosau/controle/Infectes%20Hospitalares_diagnostico.pdf. Acesso em: 12 fev. 2010.
- SUNG, M.; KATO, S. Method to evaluate UV dose of upper-room UVGI system using the concept of ventilation efficiency. **Building and Environment.**, v.45, p.1626-331, 2010.
- 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. 187-194, fev. 2006.

- SHERLEY, M.; GORDON, D. M.; COLLIGNON, P. J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia Coli*. **Microbiol.**, New York, v.150, p.1539-46, 2004.
- SHERLOCK, O.; O'CONNELL, N. O.; CREAMER, E.; HUMPHREYS, H. Is it really clean? An evaluation of the efficacy of four methods for determining hospital cleanliness. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.72, p.140-6, 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.
- 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.
- 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.
- SIMOR, A. E.; LEE, M.; VEARNCOMBE, M.; JONES-PAUL, L.; BARRY, C.; GOMEZ, M., et al. An outbreak due to multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: risk factors for acquisition and management. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, v.23, n.5, p.261-7, 2002.
- SMITH, C. M. Origin and Uses of *Primum Non Nocere*—Above All, Do No Harm! **J. Clin. Pharmacol.**, Stamford, v.45, p.371-7, 2005.
- SMITH, K.; Hunter, L. S. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. **J Med Microbiol.**, Londres, v.57, p.966-973, 2008.
- SPAULDING, E. H; EMMONS, E. K. Chemical Disinfection. **AORN. J.**, Denver, v.58, n.9, p.1238-42, set. 1958.
- TALON, D. The role of hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.43, n.1, p.13-17, set.1999.
- TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **Am. J. Med.**, New York, v.119, s.6A, p.3-10, 2006.
- TENOVER, F. C.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V.; MICKELSEN, P. A.; MURRAY, B. E.; PERSING, D.H.; et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. **J. Clin. Microbiol.**, Whashington, v. 33, n.9, set.1995
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

- TOWNER, K. J. Acinetobacter: na old friend, but a new enemy. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.73, p.355-363, 2009.
- VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; SÁ, M. H. B. Bacteriologia geral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 582p.
- XU, J.; SMYTH, C. L.; BUCHANAN, J. A.; DOLAN, A.; ROONEY, P. J.; MILLAR, C. E. Employment of 16 S rDNA gene sequencing techniques to identify culturable environmental eubacteria in a tertiary referral hospital. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.57, p.52-8, 2004.
- WAYNE, L. G.; BRENDER, D. J.; COLEWELL, R. R.; GRIMONT, P. A. D.; KANDLER, O.; KRICHEVSKY, L. H.; *et al.* Report of the Ad Hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, Ames, v.37, n.4, p.463-4, out, 1987.
- WALSH, T. R.; TOLEMAN, M. A.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v.18, n.2, p.306-325, abril, 2005.
- WARYE, K. L.; MURPHY, D. M. AJIC presidents' message - Targeting zero health care-associated infections. **Am. J. Infect. Control.**, St. Louis, v.36, n.10, p.683-684, 2008.
- WELBOURN, B. John Snow's Contribution to Modern Epidemiology. Utah, 2009. Disponível em: <http://www.math.usu.edu/~symanzik/teaching/2009_stat6560/Projects/welbourn_william_project1_main.pdf> Acesso em: 26 fev. 2009.
- WENDT, C.; KRAUSE, C.; XANDER†, L. U.; LÖFFLER, D.; FLOSS, H. Prevalence of colonization with vancomycin-resistant enterococci in various population groups in Berlin, Germany. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v.42, p.193-200, 1999.
- WILK, M. S.; LOVERING, A. L.; STRYNADKA, N. C. J. β -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. **Curr. Opin. Microbiol.**, New York, v.8, p.525-533, 2005.
- WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nat. Rev. Microbiol.**, Londres, v.5, P.175-186, 2007.
- 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.**, Londres, v.10, n.2, p.1-6, 2006.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



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

Parecer nº. ETIC 113/09

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 29 de maio de 2009, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Características epidemiológicas dos microorganismos resistentes presentes em reservatórios de uma Unidade de Terapia Intensiva de um hospital universitário**" 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.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG