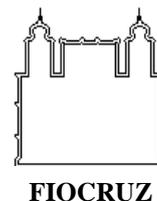




**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM
PATOLOGIA TROPICAL**



**AGENTES DE INFECÇÕES HOSPITALARES EM UNIDADES
DE TERAPIA INTENSIVA NO MUNICÍPIO DE MANAUS**

LUCIETE ALMEIDA SILVA

**MANAUS
2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM
PATOLOGIA TROPICAL**

LUCIETE ALMEIDA SILVA

**AGENTES DE INFECÇÕES HOSPITALARES EM UNIDADES
DE TERAPIA INTENSIVA NO MUNICÍPIO DE MANAUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multidisciplinar em Patologia Tropical da Universidade Federal do Amazonas como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia Tropical na área de concentração “Diagnóstico e Controle”.

Orientadora: Prof^ª Dra. JULIA IGNEZ SALEM

**MANAUS
2006**

LUCIETE ALMEIDA SILVA

**AGENTES DE INFECÇÕES HOSPITALARES EM UNIDADES
DE TERAPIA INTENSIVA NO MUNICÍPIO DE MANAUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multidisciplinar em Patologia Tropical da Universidade Federal do Amazonas como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia Tropical na área de concentração “Diagnóstico e Controle”.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dra. Julia Ignez Salem, Presidente
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Prof^a Dra. Maria Rosa Lozano Borrás, Membro Interno
Universidade Federal do Amazonas

Prof^a Dra. Ani Beatriz Jackisch Matsuura, Membro Externo
CPqLMD/ Fundação Oswaldo Cruz/AM

DEDICATÓRIA



A Deus, meu Divino Mestre, pela saúde e sabedoria;

Aos meus pais Dário Moura (in memória) e Lindalva Almeida, e a minha tia Zênite Almeida, por acreditarem e proporcionarem apoio fundamental a minha carreira profissional;

Ao meu filho Igor, a minha maior criação, pela compreensão e paciência;

À minha querida orientadora Júlia Salem pelo incentivo, confiança, credibilidade e paciência durante toda execução do meu trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me inspirado coragem e perseverança para realizar este projeto, principalmente me fazendo perceber que os obstáculos também são bênção quando encarados como fonte de aprendizado.

Ao meu filho Igor, pela compreensão e paciência durante todo o período de realização desse projeto.

A toda a minha família pelo apoio e incentivo em todos os momentos de minha vida

A minha incansável orientadora Júlia Salem pelo carinho, paciência e incentivo, e sempre demonstrando interesse em compartilhar os seus conhecimentos científicos a quem precisar.

Ao meu fiel companheiro Junior, pela constante colaboração em todas as fases de elaboração desse trabalho, que muitas vezes foi minha fonte de inspiração, especialmente nos aspectos de responsabilidade e esforço, e é com quem divido dúvidas e inquietações.

Ao Dr. Celso Cardoso que mesmo distante e sem me conhecer pessoalmente, me deu apoio imprescindível na realização desse trabalho, pela sua capacidade de tornar mais leve as dificuldades, pelo estímulo e companheirismo, o meu agradecimento e reconhecimento.

A Dra Ana Carolina pelo incentivo, carinho e apoio nos conhecimentos nas áreas de microbiologia e biologia molecular.

Ao Dr. David Cardoso pelo apoio e ensinamentos recebidos.

Não poderia deixar de mencionar a grande contribuição da minha aluna de Iniciação Científica Ianaçara Machado pela incansável colaboração, é a quem devo parte da realização desse trabalho.

A Marizete pela especial colaboração, pelo incentivo e pela paciência de fazer todo o trabalho de digitação.

Aos meus diretores, Sérgio Luz e Roberto Sena, pelo fundamental apoio dado em todos os processos de elaboração dessa Dissertação.

A todos os diretores dos hospitais, aos profissionais de saúde das UTI's, as comissões de infecções hospitalares, onde eu tive prazer de me correlacionar e que sem dúvida foi uma troca de aprendizado.

A Doutora Fulgência pelo apoio, incentivo e estímulo, e por quem tenho muito carinho.

Aos meus colegas de turma pelos agradáveis momentos que passamos juntos.

E por último a todos os meus amigos e companheiros da FIOCRUZ, que direta e indiretamente me ajudaram sempre com total apoio e respeito ao meu trabalho.

RESUMO

A infecção hospitalar (IH) representa um dos graves problemas de saúde pública no Brasil e no mundo, proporcionando o aumento de morbimortalidade de pacientes internados principalmente em UTI's. Esse projeto tem como objetivo analisar os agentes bacterianos desencadeadores de IH de amostras clínicas de pacientes e lavados de mãos dos profissionais de saúde de 4 UTI's do município de Manaus. A lavagem das mãos foi realizada em Caldo de Tripticaseína de Soja, foi incubado por 24h a 37°C. Semeado em meio de cultivo para isolamento e identificação das bactérias. As amostras clínicas foram semeadas e identificadas nas mesmas condições dos lavados de mãos. De 294 amostras do lavado de mãos foram isoladas 244 bactérias, sendo as mais freqüentes *Enterococcus fecalis* (32,79%), *Staphylococcus aureus* (24,18%), *Pseudomonas aeruginosa* (7,79%), *Burkholderia cepacia* (5,33%), *Enterobacter cloacae* (4,51%), *Klebsiella pneumoniae* (4,51%) e outras (12,70%). Das 94 amostras coletadas de secreções de pacientes foram isoladas 94 bactérias, as mais freqüentes foram *Staphylococcus aureus* (39,36%), *Pseudomonas aeruginosa* (18,08%), *Acinetobacter baumannii* (4,25%), *Enterobacter cloacae* (3,19%), *Enterococcus fecalis* (4,25%), *Serratia marcescens* (9,57%) e outras (11,72%). Os patógenos isolados de maior freqüência de amostras clínicas e lavados de mãos foram avaliados quanto ao perfil de resistência pelo método de difusão em disco. Também foi realizado um estudo sobre os hábitos dos profissionais de saúde que possam ser considerados como fatores de risco para IH. *Staphylococcus aureus* isolados de amostras clínicas, mostraram um baixo índice de resistência aos antibióticos testados. Todos os outros microrganismos isolados dos lavados de mãos e de amostras clínicas mostraram uma elevada taxa de resistência a vários grupos de antibióticos, normalmente, utilizados no seu tratamento. O presente estudo avaliou a freqüência dos patógenos isolados de amostras clínicas e lavados de mãos e a presença de patógenos multi-resistentes a vários grupos de antibióticos testados, além de evidenciar a necessidade de implantar estratégias que desenvolvam maior conscientização e capacitação para o controle de IH

Palavras chave: Infecção hospitalar, UTI'S, Manaus/Am.

ABSTRACT

Hospital Infection (HI) represents a severe public health problem in Brazil and worldwide, increasing morbimortality of hospitalized patients, mainly the ones in the Intensive Treatment Units (ITU). This project aims to analyze HI bacteria agents in clinical samples of patients and handwashing of health workers of four ITU in Manaus. Handwashing was performed in soy trypticasein broth and incubated at 37°C for 24 hours. It was grown in medium for isolation and bacteria identification. The clinical samples were grown and identified in the same conditions as that of the handwashing. Out of the 294 handwashing samples, 244 bacteria were isolated, the most frequent were *Enterococcus fecalis* (32,79%), *Staphylococcus aureus* (24,18%), *Pseudomonas aeruginosa* (7,79%), *Burkholderia cepacia* (5,33%), *Enterobacter cloacae* (4,51%), *Klebsiella pneumoniae* (4,51%), and others (12,70%). Out of the 94 patients' secretion samples collected, the most frequent were *Staphylococcus aureus* (39,36%), *Pseudomonas aeruginosa* (18,08%), *Acinetobacter baumannii* (4,25%), *Enterobacter cloacae* 93,19%), *Enterococcus fecalis* (4,25%), *Serratia marcescens* (9,57%) and others (11,72%). The most frequent pathogens isolated from the clinical and handwashing samples were analyzed for resistance through disc diffusion method. Also, it was performed a study of the health workers' habits that could mean a risk factor for HI. *Staphylococcus aureus* isolated from the clinical samples presented a low rate of resistance to the antibiotics tested. The other microorganisms isolated from the clinical and handwashing samples showed a high rate of resistance to the several groups of antibiotics that are usually used for their treatment. This study analyzed the frequency of pathogens isolated from clinical and handwashing samples and the presence of pathogens that are multi-resistant to the several groups of antibiotics tested, showing the need of implementing strategies that raise awareness of training for HI knowledge and control.

Key-words: Hospital Infection, ITU, Manaus/Am.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E GRÁFICOS

Figura 1	Sistema de identificação fenotípicas API-20	25
Gráfico 1	Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de lavado de mãos de Profissionais de saúde atuantes em 4 UTI's da cidade de Manaus	29
Gráfico 2	Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de espécimes de pacientes de 4 UTI's da cidade de Manaus	34
Gráfico 3	Quantitativo de amostras conforme as espécies bacterianas isoladas de lavado de mãos de profissionais e de amostras clínicas de pacientes 4 UTI's da cidade de Manaus	38
Gráfico 4	Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – A	47
Gráfico 5	Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – B	48
Gráfico 6	Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – C	48
Gráfico 7	Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – D	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Amostras de Lavados de Mãos conforme o número de profissionais participantes e coletas realizadas em 4 UTI's da cidade de Manaus	28
Tabela 2	Espécies bacterianas isoladas de lavados de mãos conforme UTI estudada, profissão e coleta realizada.	31
Tabela 3	Quantitativo de amostras obtidas de pacientes internados em 4 UTI's da cidade de Manaus, conforme procedimentos invasivos e as topografias	33
Tabela 4	Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de pacientes de 4 UTI's da cidade de Manaus, conforme os espécimes clínicos analisados	36
Tabela 5	Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de lavados de mãos e de amostras clínicas, conforme as 4 UTI's da cidade de Manaus analisadas	40
Tabela 6	Padrões de interpretações do diâmetro dos halos de inibições dos testes de resistências aos antimicrobianos de cepas isoladas de amostras clínicas e de lavados de mãos	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

β	Beta
μL	Microlitro
μM	Micromolar
\geq	Maior igual que
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	Analytical Profile Index
ATCC	American Type culture Collection
BHI	Meio de infusão de cérebro e coração
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CDC	Center of Disease Control
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONEP	Comitê Nacional de Ética em Pesquisa
DIP	Doenças Infecciosas e Parasitárias
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
dNTP	Desoxirribonucléico Trifosfato
EMB	Eosina Azul de Metileno
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IH	Infecção Hospitalar
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
M	Molar
mg	Miligrama
min.	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm	Milímetro
MS	Ministério da Saúde
NCCLS	National Committee of Clinical Laboratory Standards
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
pb ou bp	Pares de base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SINAIS	Sistema Nacional de Informações para o Controle de Infecções em Serviço

	de Saúde
Taq	Enzima Termoestável
TE	Tampão de Extração
TSB	Tripticaseína de Soja
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
V	Volts

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	19
2.1 Geral	19
2.2 Específicos	19
3. METODOLOGIA	20
3.1 Modelo de Estudo	20
3.2 Universo de Estudo	20
3.3 Critérios de inclusão e exclusão	20
3.3.1 Critérios de Inclusão	20
3.3.2 Critérios de Exclusão	20
3.4 Fluxo de Procedimento	21
3.5 Detalhamento dos procedimentos	22
3.5.1 Coleta das amostras	22
3.5.2 Isolamento Bacteriano	23
3.5.3 Identificação dos Agentes Bacterianos	24
3.5.4 Teste de Resistência aos Antimicrobianos	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5. CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
APÊNDICE A	55
APÊNDICE B	56
APÊNDICE C	57
APÊNDICE D	58
APÊNDICE E	59
APÊNDICE F	60

1. INTRODUÇÃO

Infecção hospitalar (IH) é uma infecção adquirida após a admissão do paciente no hospital e que se manifesta durante a internação ou após a alta, quando comprovada a relação com os procedimentos hospitalares. O Ministério da Saúde adota ainda alguns critérios gerais para diagnosticar IH (BRASIL, 1998):

- Quando, na mesma topografia em que foi diagnosticada infecção comunitária, for isolado um germe diferente, seguido do agravamento das condições clínicas do paciente.

- Quando se desconhecer o período de incubação do microrganismo e não houver evidência clínica e /ou dado laboratorial de infecção no momento da internação. Convenciona-se IH toda manifestação clínica de infecção que se apresentar a partir de 72 horas após a admissão.

São também convencionadas infecções hospitalares aquelas manifestadas antes de 72 horas de internação, quando associadas a procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos, realizados durante este período.

As IH são causadas por bactérias que na maioria das vezes, são resistentes a vários antibióticos e de difícil tratamento, além disso, podem rapidamente desenvolver resistência a outras drogas durante a quimioterapia (GILLIGAM, 1995; GIAMARELLOU, 2000; OPAS-OMS, 2000).

A infecção hospitalar ainda continua sendo um grande problema de Saúde Pública no Brasil e no mundo. Ela praticamente surgiu junto com os hospitais, quando ainda não se dispunha do conhecimento microbiológico, bem como do princípio de transmissão das doenças. O médico húngaro, Ignaz Semmelweir, em 1847, percebeu em suas práticas assistenciais a eficácia da vigilância e das medidas profiláticas, como a lavagem das mãos

com solução clorada, no controle da infecção hospitalar. Florence Nightingale, em 1858, também se destacou ao estabelecer cuidados na enfermagem dando ênfase à higiene dos pacientes e limpeza do ambiente hospitalar, como medidas básicas que contribuem para o controle das infecções (MARTINS, 2001; REZENDE et al., 2005).

Na primeira década do século XX o impacto das IH foi percebido através da disseminação das infecções *Streptocócicas*, resultantes da longa permanência dos pacientes nos hospitais e superlotação das enfermarias (SELWYN, 1991; REZENDE et al., 2005).

Com a descoberta da penicilina, deu-se início a era dos antibióticos, aparentemente sendo a solução para a cura das infecções bacterianas.

Entretanto na década de 50, com o uso indiscriminado dos antimicrobianos, surgiram nos Estados Unidos da América cepas de *Staphylococcus* resistentes à penicilina, culminando em surtos entre crianças e idosos hospitalizados. O aparecimento das bactérias resistentes demandou o uso de antibióticos de espectro cada vez mais estendido, cujo uso irracional causou a diminuição do perfil de sensibilidade dos microrganismos, gerando a seleção de bactérias multi-resistentes (REZENDE et al., 2005).

Em 1963, o Center for Disease Control (CDC) recomendou como rotina, a prática da vigilância epidemiológica da IH, além de estabelecer a necessidade de sua sistematização em todos os hospitais, propondo a utilização de métodos epidemiológicos que direcionassem as medidas de controle (MARTINS, 2001; REZENDE et al., 2005).

Os avanços tecnológicos resultaram num aumento da complexidade assistencial que tornou os procedimentos cada vez mais invasivos. Ao romper barreiras naturais do paciente, expondo-o a maior risco de adquirir as infecções hospitalares, principalmente nas unidades de terapia intensiva, berçários de alto risco, unidades de queimados, e unidade de câncer, é de se esperar altos índices de infecções hospitalares pela gravidade dos pacientes. Os grandes números de procedimentos invasivos realizados somados ao elevado uso de antimicrobianos

tornam esses ambientes propícios ao surgimento de patógenos multi-resistentes (BRAGA et al., 2004).

No Brasil a taxa de mortalidade por infecção hospitalar é de 45 mil óbitos por ano por cerca de doze milhões de internações hospitalares, apesar de já ter sido pior no passado chegando a quase 100 mil por ano, devido à péssima estrutura hospitalar na maioria dos hospitais (BRASIL MÉDICO, 1999). O custo desses trágicos índices é altíssimo, cerca de R\$ 10 bilhões anuais.

A infecção hospitalar, no entanto, não é um mal que atinge apenas os países da América Latina. Nos Estados Unidos, por exemplo, o prejuízo é de R\$ 100 bilhões com cerca de 80 mil óbitos por 30 milhões de internados (BRASIL MÉDICO, 1999).

O desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos cresceu assustadoramente durante a última década, principalmente em bacilos gram-negativos muito provavelmente por causa de aquisição precoce e empírica de antibióticos de largo espectro, estratégia que só favorece a seleção de bactérias resistentes (BRAGA et al., 2004).

Dentre os microrganismos responsáveis pela alta taxa de infecções hospitalares, destacam-se as *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e ultimamente o aparecimento considerável dos patógenos *Acinetobacter baumannii* e *Burkholderia cepacia* (BRAGA et al., 2004; WYET, 2006). Esses são os microorganismos mais prevalentes isolados de pacientes hospitalizados. Essas bactérias são comumente encontradas em ambientes naturais e sítios cirúrgicos, e são patógenos oportunistas responsáveis principalmente pelos casos de pneumonia, infecções do trato urinário e infecções por corrente sanguínea, especialmente em pacientes com um alto grau de imunodepressão, como portadores de doenças crônicas – degenerativas como câncer (APECIH, 2005). Esses patógenos são facilmente isolados a partir de fontes comuns como respiradores,

umidificadores, reservatórios de água, alimentos, água de torneiras, medicações e transmissão de pessoas para pessoas, através das mãos, especialmente em UTI's (BRAGA et al., 2004).

No Brasil, considerando as Infecções Hospitalares como causa de morbimortalidade, que ocasionam sérios danos de ordem social e econômica, o Ministério da Saúde (MS) publicou uma portaria (Brasil – nº2.616/98), na qual preconiza que para uma adequada execução do programa de controle de infecção hospitalar, todos os hospitais do país deveriam constituir uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH). As CCIH estabeleceriam, com competência, mecanismos para contornar o problema e normas para avaliar todos os cuidados prestados aos pacientes. Além de apontar soluções e medir com rigor os riscos de adquirir infecções hospitalares, otimizando os recursos técnicos e financeiros da instituição (BRASIL, 1998; REZENDE et al., 2005).

É importante enfatizar que a participação mais ativa das CCIH nos estados, muitas das quais sequer foram constituídas, diminuiriam a prevalência das IH. Mas a deficiência na fiscalização e na vigilância de medidas de prevenção passa ao largo em muitos hospitais do país (BRASIL MÉDICO, 1999).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) também buscou contribuir na elaboração de ações básicas de controle de infecção, priorizando a realidade local. Hoje os hospitais públicos e privados de todo o Brasil já podem contar com instrumentos informatizados para acompanhar as ocorrências e a gravidade das infecções hospitalares. Esse sistema foi lançado para monitorar a Infecção Hospitalar, obtendo indicadores que permitem a identificação rápida de surtos nos estabelecimentos de saúde. O Sistema Nacional de Informações para o Controle de Infecções em Serviço de Saúde (SINAIS) é um programa gratuito, em tempo real para obter de forma fácil e ágil os indicadores de infecções nos serviços de saúde, alimentando um banco de dados nacional, que será acessíveis para os municípios, estados e governo federal (ANVISA, 2004).

No Brasil poucos hospitais utilizam esse sistema (lamenta a ANVISA), pois a maioria dos casos continua sendo registrada manualmente. Diversos estudos apontam para a possibilidade de redução de 30 a 37% na ocorrência dessas infecções, identificando o programa de monitoramento como uma das principais ferramentas para esta diminuição. Além dos indicadores de infecções, a ANVISA relata que o SINAIS também contribuirá no combate à resistência microbiana, possibilitando a análise do perfil de sensibilidade de todos os microrganismos e o seu acompanhamento por tipo de ambiente ou tipo de assistência (ANVISA, 2004).

Segundo o levantamento feito pela ANVISA, 72% dos hospitais avaliados afirmaram que monitoram as infecções, mas por problemas metodológicos, os indicadores apontam que apenas 13% deles são confiáveis, uma das dificuldades apontadas pelos hospitais nos estados foi o tempo demandado para o monitoramento e o reduzido número de profissionais capacitados (ANVISA, 2004).

É nos grandes hospitais, contudo, que ocorrem os mais severos casos de IH, mas ao contrário dos prontos socorros e ambulatórios, estas instituições detêm avançadas tecnologias para o controle das ocorrências. A política dos hospitais em reduzir ao máximo, o tempo de permanência do paciente, além de barato e saudável, serve para evitar o uso abusivo de antibióticos, visando impedir a resistência do microrganismo. Acredita-se que o controle da IH depende de recursos assim como de Educação e conscientização da comunidade e do corpo médico (BRASIL MÉDICO, 1999).

Até hoje o prosaico ato de lavagem das mãos é considerado o procedimento mais importante na prevenção das IH, devido a sua simplicidade de execução e remoção dos microrganismos, principalmente da microbiota transitória das mãos dos profissionais hospitalares. A microbiota transitória geralmente adquirida pelo contato direto com a pele, ou indireto através de objetos, proporciona condições favoráveis à infecção hospitalar, tornando-

se assim responsável pela maioria das infecções cruzadas (OPPERMANN *et al*, 1994; LARSON, 1995; SOARES *et al.*, 2002; MENDONÇA *et al.*, 2003).

Um outro aspecto a ser considerado, é o papel do profissional de saúde, o qual pode ser a principal via de transmissão de IH a partir do contato direto com os pacientes. Em locais com escassez de profissionais especializados em atividades de terapia intensiva, é comum que os mesmos, atendam em diferentes UTI's, públicas e/ou privadas, proporcionando assim o transporte de microrganismos de uma unidade para outra (BIBLIOMED, 2003).

Vale ressaltar que no Brasil, os poucos estudos relacionados a esta questão, estão concentrados nas Regiões Sul e Sudeste, e nenhum estudo sobre o perfil das cepas bacterianas desencadeadoras de infecção hospitalar tem sido abordados na Região Norte.

A importância deste estudo na cidade de Manaus baseia-se na inexistência de informações sobre os agentes bacterianos desencadeadores de infecções hospitalares em Uti's, principalmente no que se refere a sua frequência e perfil de sensibilidade, desconhecendo-se oficialmente, inclusive, a frequência de cepas multi-resistentes. Preencher essa lacuna nos trará conhecimentos sobre a situação das IH, além de contribuir para medidas preventivas relativas aos profissionais e pacientes das unidades de terapia intensiva.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar os agentes bacterianos desencadeadores de infecção hospitalar em amostras clínicas de pacientes e em lavados de mãos dos profissionais de saúde de 4 UTI's do município de Manaus.

2.2 Específicos

- 2.2.1 Investigar os agentes bacterianos mais incidentes em amostras clínicas e lavados de mãos;
- 2.2.2 Averiguar o perfil de resistência aos antimicrobianos de maior uso terapêutico das cepas bacterianas isoladas;
- 2.2.3 Verificar a relação entre as espécies bacterianas mais isoladas e as informações fornecidas pelos profissionais quanto aos seus conhecimentos e hábitos em UTI's.

3. METODOLOGIA

3.1 Modelo de Estudo

Para atingir os objetivos realizou-se um estudo descritivo, transversal e diagnóstico dos agentes bacterianos desencadeadores de infecção hospitalar em pacientes internados em Uti's de unidades hospitalares de Manaus – AM. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Fundação de Medicina Tropical com número de protocolo 0735/ 05-FMTAM

3.2 Universo de Estudo.

Durante cinco (5) meses, de janeiro a maio de 2006, foram coletas amostras clinicas de pacientes com diagnósticos de infecção hospitalar, e lavado de mãos dos profissionais de saúde que prestam atendimento aos pacientes em quatro unidades de terapia intensiva (UTI) da cidade de Manaus, sendo duas públicas (denominadas de A e B) e duas privadas (denominadas de C e D).

3.3 Critérios de inclusão e exclusão

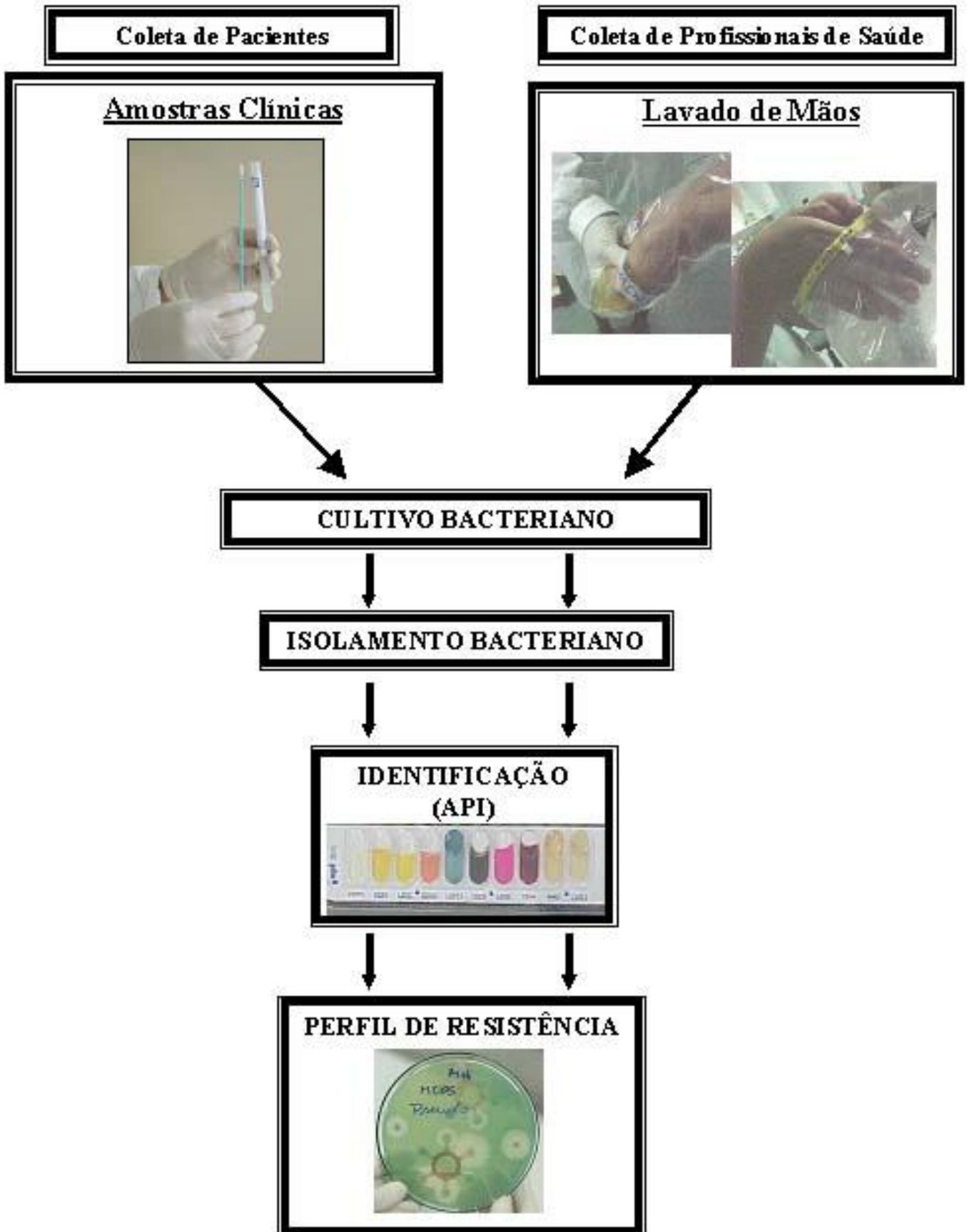
3.3.1 Critérios de Inclusão:

- ⇒ Pacientes internados nas Uti's com diagnóstico de infecções hospitalares;
- ⇒ Profissionais que executam atividades dentro dos ambientes das UTI's.

3.3.2 Critérios de Exclusão:

- ⇒ Profissionais e pacientes que não aceitaram participar do estudo pela concordância em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).
- ⇒ Pacientes cujas amostras clinicas não foram coletadas pelos profissionais atuantes nas UTIs.

3.4 Fluxo de Procedimento



3.5 Detalhamento dos procedimentos

3.5.1 Coleta das amostras

3.5.1.1 Amostras dos Lavados de Mãos

Os profissionais de saúde de todos os turnos existentes nas UTI'S envolvidas no estudo e que concordaram em participar da pesquisa, realizou-se a coleta dos lavados de mãos. Para realização, utilizou-se saco transparente de polietileno estéril 400x600 contendo 100ml de um caldo estéril de enriquecimento TSB (Tripcaseína de Soja), suplementado com os neutralizantes Tiosulfato de sódio a 1%, Lecitina de soja a 0,5% e Tween 80 a 1%, sendo que os dois últimos funcionam como surfactantes, isso é detergente ativo de superfície (SOARES et al., 2002).

Os profissionais introduziam os dois braços no saco plástico e iniciavam a lavagem da palma, do dorso, dos espaços interdigitais e subungueal das mãos, pelo menos por três minutos. Após esse período, os sacos eram lacrados, identificados e transportados em isopor com gelo para realização da análise bacteriológica em Laboratório da FIOCRUZ.

Logo após a lavagem das mãos os profissionais de saúde foram convidados a responder um questionário para informar os seus hábitos dentro das UTI's, visando relacioná-los com o risco de transmissão de infecção (Apêndice A).

3.5.1.2 Amostras Clínicas

Amostras clínicas de sangue, secreção em cateter intravenoso, secreção traqueal, urina, secreção intra-abdominal, secreção de feridas infectadas e líquido ascítico foram coletadas e semeadas em tubo contendo meio de cultivo específico para transportar microrganismo por

médicos e/ou enfermeiras atuantes nas UTI's. As amostras foram devidamente identificadas e assepticamente transportadas para o laboratório da FIOCRUZ para realização dos procedimentos de análise bacteriológica.

3.5.2 Isolamento Bacteriano

3.5.2.1 Do lavado de mãos

No laboratório, 10ml do caldo enriquecido do lavado de mãos foi transferido para um tubo de rosca medindo 13x150 mm e incubado em estufa bacteriológica por 24h a 37°C.

Após a incubação, o conteúdo de uma alça de níquel cromo de 1µL do caldo foi semeado pela técnica de estria em placas de Petri, contendo meios de cultivo não seletivo (Agar sangue), seletivo para o crescimento de *Staphylococcus* sp. (Manitol Salgado), seletivo para *Pseudomonas* sp. (Cetrimide), seletivo para Enterobactérias (Agar Eosina Azul de Metileno) e seletivo para *Enterococcus* sp. (Enterococcosel). Para cada amostra foi semeada apenas uma placa contendo os meios de cultivos referidos.

As placas semeadas foram então incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24h. Após esse período, com o uso de uma lupa, foi verificado o aparecimento de colônias bacterianas. As placas que apresentaram apenas um tipo de colônia foram utilizadas para as inoculações de identificação. Nas placas com diferentes tipos de colônias retirou-se apenas uma colônia representativa das predominantes, que foi então semeada em caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion) para obtenção de massa microbiana e posterior identificação.

Em todas as colônias realizou-se a bacterioscopia com a finalidade de classificar o microrganismo com base em suas características morfológicas (tamanhos forma e arranjo). Para visualização das referidas características utilizou-se o método de coloração de Gram (STINGHEN et al., 2003).

3.5.2.2 Das Amostras Clínicas

As amostras clínicas foram coletadas pelos profissionais de saúde atuantes nas UTI's do estudo. Todas foram acondicionadas em meio de cultivo de transporte para posterior encaminhamento ao laboratório.

No laboratório, o material das amostras clínicas foi retirado do meio de transporte com auxílio de uma zaragataia, e introduzido no tubo contendo 10 ml de caldo de enriquecimento BHI. A partir deste momento, todas as amostras foram incubadas, semeadas, e identificadas morfológicamente, utilizando os mesmos procedimentos do lavado de mãos.

3.5.3 Identificação dos Agentes Bacterianos

Na identificação dos agentes bacterianos do lavado de mãos e das amostras clínicas, utilizou-se o resultado morfológico como parâmetro para a definição dos tipos de kit da Linha diagnóstica API 20 (Biomerieux). Cada kit possui galerias que englobam substratos desidratados específicos para a caracterização de bactérias e são compostos por uma cartela contendo vinte substratos, que variam de acordo com o tipo de bactéria a ser identificada.

Para a identificação de Enterobactérias utilizou-se o kit API 20E, para *Staphylococcus* sp. o API STAPH, para bactérias não fermentadoras o API 20NE, para *Streptococcus* sp. e *Enterococcus* sp. API STREP, cujas provas fenotípicas que realizam estão apresentadas nos Apêndices C, D, E e F.

Na utilização dos kits são realizadas as etapas a seguir especificadas:

- ⇒ Uma colônia bacteriana é inoculada em tubo de ensaio contendo 5ml de solução salina;
- ⇒ O semeado é homogeneizado em vortex;
- ⇒ Com auxílio de micropipeta, 2 µL da suspensão foi inoculadas nas galerias que englobam substratos desidratados específicos para caracterização de bactérias

- ⇒ Cada kit é composto por uma cartela contendo das 25 substratos, que variam de acordo com o tipo de bactérias a ser identificada.
- ⇒ As cartelas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.
- ⇒ Após este período, ocorreram reações químicas reveladas por viram de cores, ou através de adições de reagentes.
- ⇒ As interpretações dos resultados foram realizadas através do quadro disponibilizado pelo fabricante (Biomeriux), onde revela que, a cada resultado positivo ou negativo é gerado um número.



Figura 1 – Sistema de identificação fenotípicas API -20.

A seqüência dos números formados, é então digitada no software específico da Biomerieux que então informa a espécie bacteriana acompanhada do percentual de probabilidade de ser a espécie informada. Informações de espécies com probabilidade \geq a 80% são consideradas como exatas da informação. Abaixo desse valor novas provas fenotípicas são realizadas para a confirmação da informação.

3.5.4 Teste de Resistência aos Antimicrobianos

As bactérias identificadas, foram avaliadas quanto ao perfil de resistência pelo método de difusão em disco trata-se de um método qualitativo de difusão, que consiste em parear vários antibióticos frente a um único microorganismo.

A partir de um cultivo contendo as bactérias isoladas e já identificadas, foram selecionadas 5 colônias do mesmo tipo morfológico para preparação do inóculo. Asepticamente, com auxílio de uma alça bacteriológica, as colônias foram retiradas e transferidas para tubo de ensaio contendo 5 ml de caldo tripticaseína de soja e encubadas em condições de aerobiose em estufa a 37°C até obter a turbidez da suspensão padrão de sulfato de bário (geralmente de 2 a 8 horas).

No inóculo padronizado foi introduzida uma zaragataia estéril para homogeneização do mesmo por movimento rotatório, e obtenção de 1 µL para semeadura em placas de 150mm contendo Agar Mueller-Hinton. Esse meio de cultura é considerado o melhor para realização dos testes de susceptibilidade de rotina, pois apresenta boa reprodutibilidade e proporciona crescimento satisfatório na maioria dos patógenos (NCCLS, 2005). A semeadura do inóculo foi feita de maneira uniforme em toda a superfície da placa contendo o meio de cultivo.

Conforme a espécie microbiana identificada e de acordo com as sugestões do National Committee of laboratory Standards (NCCLS, 2005) após três a cinco minutos e com o auxílio de uma pinça estéril, conjuntos de discos embebidos com antibióticos foram depositados na superfície do meio. Em média foram distribuídos 12 discos com distâncias que não excedessem 24 mm de um disco para o outro. Logo após a aplicação dos discos, as placas foram colocadas em estufa bacteriológica, em condições de aerobiose, a 37°C por 18 horas.

Após o período de incubação, foram realizadas a leitura e interpretação dos resultados. Com auxílio de uma régua, foi medido em milímetro o diâmetro do halo de inibição ao redor de cada disco (diâmetro varia de acordo com a velocidade de difusão do antimicrobiano e sensibilidade da bactéria). Os resultados obtidos foram analisados conforme

os valores de tabela padronizada pelo NCCLS, com as indicações de sensibilidade ou resistência aos antimicrobianos testados.

Com a finalidade de avaliar a precisão e a exatidão dos testes, foram utilizadas amostras padrões de:

- *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* (ATCC 25923);
- *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter baumannii* (ATCC 25922);
- *Enterobacter* (ATCC 35218).

Todos os pacientes, bem como as instituições envolvidas tiveram acesso aos resultados da pesquisa através dos seus respectivos responsáveis ou pelas comissões de controle de infecções hospitalares.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os meses de janeiro a maio de 2006, foram analisadas 294 amostras de lavados de mãos dos profissionais que atuam nas 4 UTI's participantes do estudo e 94 amostras de pacientes com suspeita de infecção hospitalar internados nas 4 UTI's participante do estudo.

Na obtenção dos lavados de mãos participaram 236 profissionais de saúde. Entretanto, devido às coletas terem sido realizadas em dois diferentes momentos, nem sempre foi possível obter-se duas amostras desses profissionais. Os quantitativos de profissionais participantes e os números de amostras obtidas, conforme os momentos de coleta, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Amostras de Lavados de Mãos conforme o número de profissionais participantes e coletas realizadas em 4 UTI's da cidade de Manaus

UTI dos Hospitais	Nº. de profissionais participantes	Número de profissionais participantes conforme coletas realizadas			Total de Amostras obtidas
		Na 1ª e 2ª coleta	Apenas na 1ª coleta	Apenas na 2ª coleta	
A (Pu)	72	13	30	29	85
B (Pu)	40	9	8	23	49
C (Pr)	54	15	18	21	69
D (Pr)	70	21	33	16	91
Totais	236	58	89	89	294

Pu = UTI de hospitais públicos; Pr = UTI de hospitais privados

Conforme a Tabela 1, infelizmente em apenas 58 profissionais (24,6%) foi possível realizar o Lavado de Mãos na 1ª e 2ª coleta. Esse fato teve relação direta com as dificuldades de se conciliar atividades de coleta com as ocupacionais dos profissionais.

Em relação aos isolamentos de microrganismos dos Lavados de Mãos, obteve-se 32 espécies bacterianas, sendo que 24 amostras forneceram 2 espécies predominantes e em uma amostra foram isoladas 3 espécies predominantes. Em 4 foram obtidos espécies bacterianas e fungos e em 72 havia uma diversificação de cepas sem que houvesse a predominância de alguma. Essas últimas foram classificadas como microbiota mista e todas apresentavam número reduzido de espécies microbianas do trato intestinal. As espécies predominantes isoladas estão apresentadas no Gráfico 1.

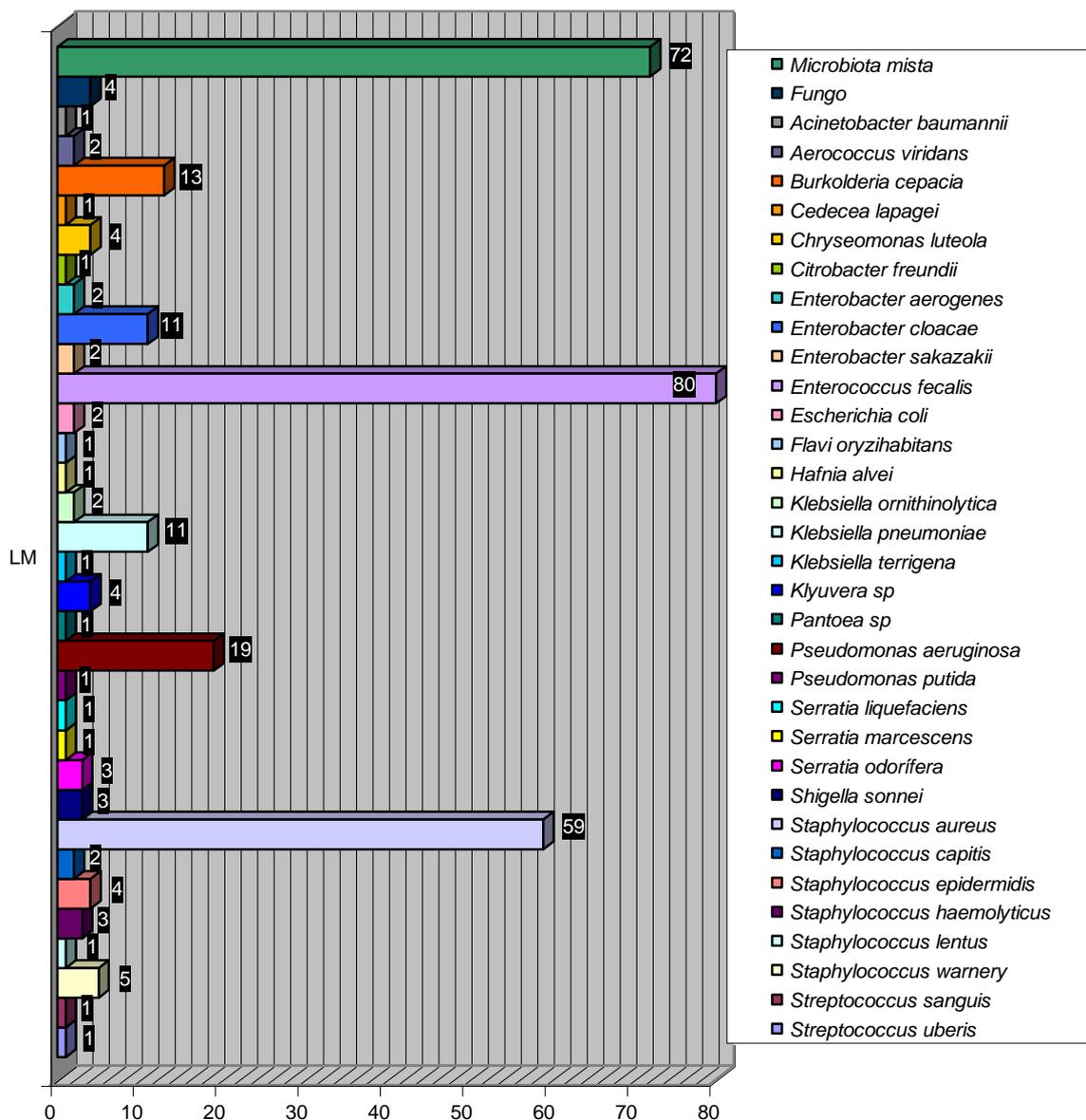


Gráfico 1. Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de lavados de mãos de Profissionais de saúde atuantes em 4 UTI's da cidade de Manaus.

Muitas das espécies isoladas (Gráfico 1) são consideradas como patógenos de grande importância clínica (*Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Citobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Shigella sonney* e *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*) que, se transmitidos à pacientes debilitados, podem induzir o desenvolvimento de infecções graves (SOARES et al., 2002). Além disso, excluindo-se a microbiota mista e os fungos, verificou-se que 17 espécies são oriundas da microbiota intestinal, correspondendo a 54,1% de isolamentos no total das amostras estudadas.

Além do exposto, vale ressaltar que a maioria das bactérias isoladas exerce um papel importante em surtos hospitalares, representando uma das mais altas prevalências entre os agentes das infecções nosocomiais. As mais incriminadas são as espécies que compõem o grupo das Enterobacterias, as *Pseudomonas*, os *Staphylococcus* e os *Enterococcus*, microrganismos que geralmente manifestam um nível alto de resistências à expressiva gama de antibióticos (SALZMAN et al., 1967; CASEWELL; PHILLIPS, 1977; PEACOCK JR et al., 1980; BOLLMANN et al., 1989; RHINEHART et al., 1990; WIDMER et al., 1993; MANNING et al., 2001).

Geralmente, essas infecções estão associadas à ventilação mecânica, procedimentos invasivos, e pelo contato direto da microbiota transitória das mãos do profissional de saúde com o paciente, ou ainda a partir de objetos e fontes ambientais (SILBERT; SADER, 2006).

Para verificar se os microrganismos isolados seriam transitórios ou persistentes na microbiota das mãos dos profissionais, analisou-se os dados obtidos dos profissionais que realizaram tanto a primeira como a segunda coleta. Dos 236 participantes apenas de 58 essa análise foi possível e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2

Espécies bacterianas isoladas de lavados de mãos conforme UTI estudada, profissão e coleta realizada

UTI dos Hospitais	Nº de Profissionais	Função	1ª coleta	2ª coleta
A	13	Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Hafnia alvei</i>
		Aux. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiota mista
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
		Téc. Enfermagem	Microbiota mista	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
		Téc. Enfermagem	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
B	9	Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus warneri</i>	Microbiota mista
		Médico(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> + <i>Enterobacter cloacae</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Burkholderia cepacia</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
C	15	Téc. Enfermagem	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Serratia odorifera</i> + fungo	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus warneri</i> + <i>Chryseomonas luteola</i> + <i>Kluyvera</i> sp	<i>Acinetobacter baumannii</i>
		Téc. Administrativo	<i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiota mista
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Médico(a)	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Adm.inistrativo	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiota mista
		Téc. Enfermagem	<i>Kluyvera</i> sp	<i>Kluyvera</i> sp
		Médico(a)	<i>Citrobacter freundii</i> + <i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aerococcus viridans</i>
Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>		
D	21	Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
		Aux.limpeza	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiota mista
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Microbiota mista
		Enfermeiro(a)	<i>Enterococcus faecalis</i>	Microbiota mista
		Enfermeiro(a)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Médico(a)	Microbiota mista	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiota mista
		Téc. Enfermagem	Microbiota mista	<i>Serratia odorifera</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Téc. Enfermagem	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter sakazakii</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Aux. Enfermagem	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Enterococcus faecalis</i>
		Enfermeiro(a)	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Chryseomonas luteola</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		Enfermeiro(a)	Microbiota mista	<i>Staphylococcus aureus</i>
		Téc. Enfermagem	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Téc. Enfermagem	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		

Dos 58 profissionais analisados na primeira e na segunda coleta (Tabela 2), vinte e uma (21) diferentes espécies de bactérias foram isoladas e apenas em quatro profissionais obteve-se a mesma espécie bacteriana nas duas diferentes coletas dos lavados de mãos. Excluindo-se os isolamentos de microbiota mista, em 29 (25,0%) de todas as amostras se encontrou contaminação por *Enterococcus fecalis* e em 28 (24,14%) por *Staphylococcus aureus*. Entretanto, na primeira coleta o *Enterococcus fecalis* esteve presente em apenas seis das amostras (10,34%), enquanto que na segunda coleta foi encontrado em 23 (39,65%) amostras. O oposto ocorreu com o isolamento de *Staphylococcus aureus* onde na primeira coleta obteve-se 21 amostras (36,2%) e na segunda apenas 7 (12,06%). É possível que o fato seja apenas uma ocorrência ao acaso.

Visto que a microbiota mista continha cepas de espécies da microbiota intestinal, constata-se na Tabela 2 que apenas de quatro profissionais (6,9%) não foram isoladas espécies da microbiota intestinal.

O encontro do *Enterococcus fecalis* como a espécie mais isolada, é um dado preocupante por se tratar de um patógeno que coloniza o trato intestinal e o trato genital feminino (SARAIVA et al., 1997). Também pode ser encontrado em menor frequência, na cavidade oral, na vesicular biliar, na uretra, além de poder ser adquirida através do consumo de água e alimentos contaminados (MURRAY et al., 1999). Vale ressaltar que existem controvérsias à respeito dos enterococcus serem o real agente etiológico de endocardites, bacteremias, feridas cirúrgicas e sepse neonatal. (LEMC, 2006). Por outro lado, dentre as espécies de enterococcus, o *E. fecalis* costuma ser o indicado como responsável por 80 a 90% das infecções (LEMC, 2006). A importância do enterococcus se deve não somente a sua elevada frequência de infecções hospitalares nos últimos anos, mas também da sua capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos com atividades limitadas contra *Enterococcus*. Esse fato tem permitido que esses patógenos sobrevivam e prevaleçam entre bactérias que colonizam o trato gastrointestinal, principalmente em pacientes graves e imunossuprimidos (SARAIVA et al., 1997).

Mediante os resultados relatados é possível prever que as infecções hospitalares por *Enterococcus fecalis* poderiam facilmente ser evitadas se os profissionais atuantes em UTI's tivessem uma conduta metódica e constante de higienização das mãos antes do manuseio com o paciente. Além disso, esses cuidados poderiam evitar as contaminações cruzadas entre profissionais e pacientes, assim como a disseminação para outras UTI's. Vale ressaltar que o *Enterococcus fecalis* tem-se destacado, nos últimos anos, como patógeno importante nas infecções hospitalares entre os norte-americanos, que relatam a espécie como a segunda maior causa de infecções nosocomiais, com um rápido aumento da frequência de cepas resistentes aos antimicrobianos (SARAIVA et al., 1997).

Dados semelhantes são encontrados para o *Staphylococcus aureus*. Trata-se de uma bactéria residente comum na pele humana, principalmente nas mãos, causadora de infecções hospitalares com alto grau de virulência. Os números de infecções causadas por esse patógeno vêm se tornando cada vez mais progressivo, assim como é cada vez maior o número de cepas resistentes aos antibióticos em uso hospitalar (WYETH, 2006).

Na Tabela 3 estão apresentadas as quantidades e as variedades de amostras clínicas de pacientes com suspeita de infecção hospitalar, internados nas quatro UTI's envolvidas nas pesquisas, e coletadas durante o período de estudo.

Tabela 3

Quantitativos de amostras obtidas de pacientes internados em 4 UTI's da cidade de Manaus, conforme procedimentos invasivos e as topografias

UTI do Hospital	Nº de pacientes	Amostras clínicas							Total de amostras
		Sangue	Secreção em cateter intravenoso	Secreção traqueal	Urina	Secreção intra-abdominal	Secreções de feridas infectadas	Líquido ascítico	
A(Pu)	41	16	1	8	13	1	1	1	41
B (Pu)	14	3	5	5	0	0	1	0	14
C (Pr)	16	9	5	0	1	0	1	0	16
D (Pr)	23	18	5	0	0	0	0	0	23
Total	94	46	16	13	14	1	3	1	94

Pu = UTI de hospitais públicos; Pr = UTI de hospitais privados

Os resultados apresentados na Tabela 3 indicam que, das 94 amostras coletadas de pacientes internados nas UTI's, a maior frequência foi de sangue (49%), seguido de cateter intravenoso (17%), urina (15%), secreção traqueal (14%), secreções de feridas infectadas (3%) e líquido ascítico (1%). Considerando os percentuais obtidos, verifica-se que 30,8% são oriundas de procedimentos invasivos: cateter intravenoso e secreção traqueal.

A presença de procedimentos invasivos por longos períodos pode causar doenças de origem endógena. Essas ocorrem devido ao desequilíbrio entre microbiota normal e os mecanismos de defesa do paciente. Entretanto, na maioria das vezes, o desequilíbrio propicia infecções exógenas por microrganismos resistentes. Esse fato é devido o uso de antibióticos pelo paciente, favorecendo assim a seleção e infecção pelos germes resistentes (MEDEIROS et al., 2003). É possível que no presente trabalho as infecções detectadas sejam resultantes dos procedimentos invasivos utilizados, seja por microbiota de origem endógena ou exógena.

Especificamente nos materiais clínicos obteve-se apenas uma espécie bacteriana por amostra analisada. As espécies isoladas estão apresentadas no Gráfico 2.

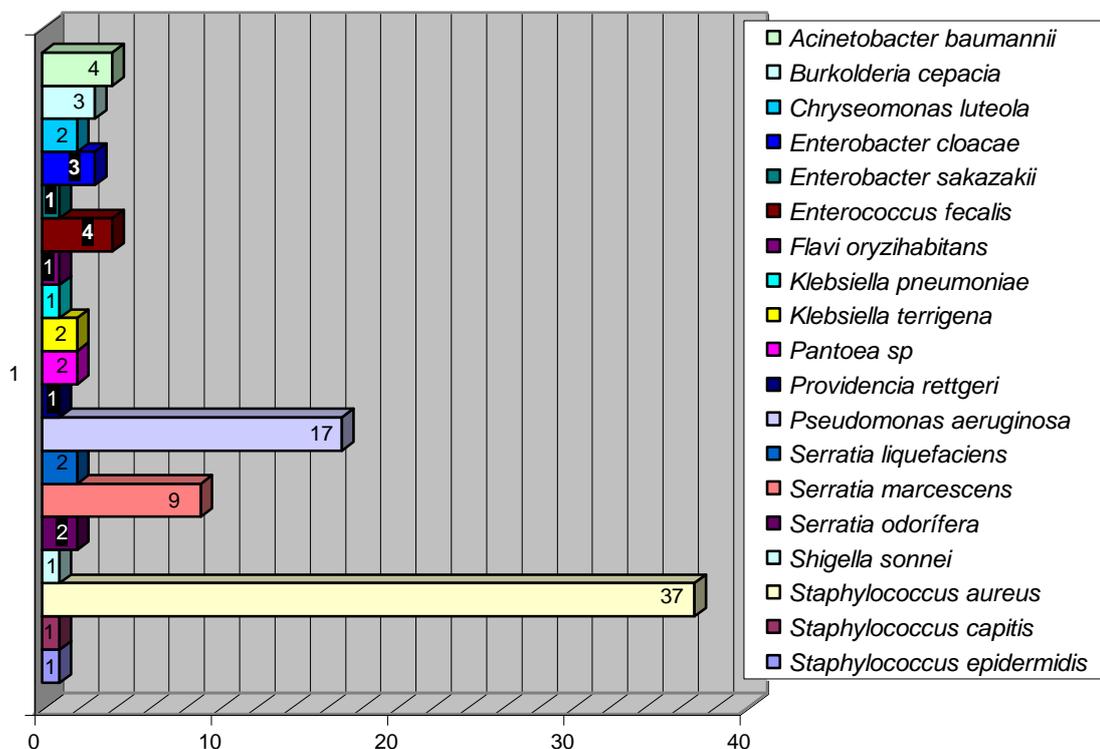


Gráfico 2 – Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de espécimes de pacientes de 4 UTI's da cidade de Manaus.

Das 94 bactérias isoladas, o *Staphylococcus aureus* foi à espécie mais freqüente no material clínico, correspondendo a 37 (39,4%) cepas das amostras analisadas, seguido de *Pseudomonas aeruginosa* com 17 (18%) e *Serratia marcescens* com nove (9,57%).

O estudo também permite evidenciar que apesar do *Staphylococcus aureus* ser o patógeno mais isolado nas amostras clinica, ele também apresentou um índice significativo nos lavados de mãos. As *Pseudomonas aeruginosa* muito mais expressiva nas amostras clínicas, também foram evidenciadas nos lavados de mãos.

Os dados obtidos nas amostras clínicas do presente trabalho são semelhantes aos expostos na literatura, onde as espécies *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são as mais encontradas em infecções nosocomiais. O fato indica que as infecções hospitalares em Manaus não diferem daquelas encontradas em outras localidades (SARAIVA et al., 1997; SOARES et al., 2002; LEMC, 2006).

Das amostras clínicas analisadas, em quatro foram isoladas as espécies *Chryseomonas luteola*, *Flavi oryzihabitans* e *Staphylococcus capitis*. São espécies não comumente descritas na literatura como causadoras de infecções hospitalares (TUTUNJI, 2006).

As espécies *Chryseomonas luteola*, *Flavi oryzihabitans*, são bacilos gram - negativos não fermentadores (bactérias que não apresentam sinais de fermentação de glicose). Essas espécies têm sido raramente isoladas em amostras de urinas, orofaringe, feridas, sangue, escarro, secreções e geralmente são isoladas em meio ambiente (TUTUNJI, 2006).

O *Staphylococcus capitis* são cocos gram – positivos presentes na pele capazes de infectar o homem, porém é considerado como uma espécie não patogênica que já foi isolados em infecções urinárias e sangue (SARAIVA et al., 1997; SOARES et al., 2002; LEMC, 2006).

No presente trabalho as espécies *Chryseomonas luteola*, *Flavi oryzihabitans* e *Staphylococcus capitis* somente foram isoladas de amostras de sangue. Apesar do desconhecimento do quadro clínico dos pacientes e a evolução da patologia, é possível predizer que as espécies eram os agentes etiológicos das infecções hospitalares devido ao número de unidades formadoras de colônias existentes nas amostras (> 100 em 0,2 ml).

Para verificar a origem da cepa em relação ao tipo de amostra clínica, os resultados obtidos foram alocados na Tabela 4.

Tabela 4

Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de pacientes de 4 UTI's da cidade de Manaus, conforme os espécimes clínicos analisados

ESPÉCIES BACTERIANAS	TIPOS DE AMOSTRAS							Totais	
	Sangue	Secreção em cateter intravenoso	Secreção traqueal	Urina	Secreção intra-abdominal	Secreções de feridas infectadas	Líquido ascítico	Nº	%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	----	----	----	----	----	----	4	4,2
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	1	----	----	----	----	----	3	3,2
<i>Chryseomonas luteola</i>	2	----	----	----	----	----	----	2	2,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	----	----	1	----	----	----	3	3,2
<i>Enterobacter sakazakii</i>	----	----	1	----	----	----	----	1	1,1
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	1	----	1	----	----	----	4	4,2
<i>Flavi oryzihabitans</i>	1	----	----	----	----	----	----	1	1,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	----	----	----	----	----	----	1	1,1
<i>Klebsiella terrigena</i>	----	----	----	2	----	----	----	2	2,1
<i>Pantoea sp</i>	2	----	----	----	----	----	----	2	2,1
<i>Providencia rettgeri</i>	---	----	----	----	----	1	----	1	1,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	5	1	2	----	1	1	17	18,0
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	----	----	----	----	1	----	2	2,1
<i>Serratia marcescens</i>	5	----	2	2	----	----	----	9	9,6
<i>Serratia odorífera</i>	2	----	----	----	----	----	----	2	2,1
<i>Shigella sonnei</i>	1	----	----	----	----	----	----	1	1,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	9	9	6	----	----	----	37	39,4
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	----	----	----	----	----	----	1	1,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	----	----	----	----	1	----	----	1	1,1
TOTAIS	46	16	13	14	1	3	1	94	100

As Enterobactérias representadas por *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella terrigena*, *Providencia rettgeri*, *Pantoea sp*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorífera*, *Shigella sonnei*, foram isoladamente encontradas em pequenas quantidades nas amostras analisadas. Quando somadas estiveram presentes em 25,7% das amostras clínicas analisadas. Apesar de esses microrganismos fazerem parte da microbiota intestinal, eles podem provocar diversas complicações em outras localidades do organismo, tais como infecções em: via urinária, corrente sanguínea, vesícula biliar, pulmões e pele, Também podem provocar diarreias sanguinolentas e/ou aquosas. A

inflamação que ocasionam é devido a destruições dos glóbulos vermelhos, causando inclusive insuficiência renal. Essas bactérias habitualmente são encontradas em infecções hospitalares, principalmente em doentes com capacidade reduzida para combater as infecções. Além disso, possuem capacidade de desenvolver multi-resistência a vários tipos de antibióticos.

O patógeno mais isolado nas amostras analisadas foi o *Staphylococcus aureus*, talvez por se tratar de um patógeno que está presente em mucosas e derme e ser potencialmente oportunista. Nesse sentido, possui um fator de virulência que pode se manifestar e causar diferentes patologias. É encontrada na mucosa nasal de 50% das pessoas que não trabalham em hospitais, enquanto que, entre as pessoas ligadas ao sistema de saúde a presença desse patógeno é de 95 a 100% (SARAIVA et al., 1997; SOARES et al., 2002; LEMC, 2006).

O *Staphylococcus aureus*, além de ser responsável por doenças na derme, como a síndrome da pele escaldada em crianças, pode causar bacteremia na corrente sanguínea e linfática, que se disseminada por todo organismo e desencadeia a endocardite. Também é responsável por septicemia, pneumonia pós - operatória e após infecção viral, furunculose, impetigo, infecção em mucosa (otites, amidalites, conjuntivite, rinites), osteomielite e artrite reumática (principalmente em crianças), além de infecções urinárias (SARAIVA et al., 1997; SOARES et al., 2002; LEMC, 2006).

A *Pseudomonas aeruginosa* isolada em 18% das amostras clínicas analisadas, constitui uma das principais causas de infecções graves em hospitais. Ocorre principal nos pacientes que se encontram nas unidades de cuidados intensivos. É um microrganismo encontrado em áreas úmidas, como os lavatórios, receptáculos para urina, e em certas soluções anti-sépticas (TUTUNJI, 2006; SILBERT; SADER, 2006). Pode infectar o sangue, pele, ossos, vias urinárias, válvulas cardíacas e os pulmões. Ao infectarem pacientes com queimaduras podem atingir a corrente sanguínea, propiciando um quadro clínico fatal (REZENDE et al., 2005).

Estudo realizado por Braga et al. (2004), constatou que 80% dos indivíduos internados nas UTI's adquirem infecções pelos mesmos agentes isolados no presente estudo e que 30%

Das 33 espécies de bactérias isoladas, 18 (54,5%) foram obtidas tanto de lavados de mãos como de amostras clínicas. Dessas, nove são patógenos de importância clínica, bem descritos na literatura (*Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus fecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Shigella sonnei* e *Staphylococcus aureus*), que vêm contribuindo assiduamente com as infecções hospitalares e possuem capacidade de desenvolver resistência medicamentosa produzindo enzimas que inativam antibióticos (WYETH, 2006).

As demais espécies isoladas, tanto de amostras clínicas como de lavado de mãos, foram encontradas em baixa frequência no presente trabalho e são raramente descritas na literatura como patógenos envolvidos nas infecções nosocomiais.

As espécies *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens* foram as mais isoladas de material clínico. As duas primeiras espécies também estão entre as mais isoladas do lavado de mãos, sendo que o *Enterococcus fecalis*, espécie mais incidente no lavado de mãos (Gráfico1), foi detectado em apenas 4 amostras clínicas com suspeita de infecção hospitalar. Entretanto, a espécie *Serratia marcescens*, bactéria também existente na microbiota intestinal, foi responsável por 9,57% dos casos de infecções hospitalares, também responsável por septicemia, infecção das vias urinárias, infecção intestinal. (MURRAY et al., 2000; SOARES et al., 2002).

Apesar dos dados terem grande importância na definição microbiológica das infecções ou contaminações, são insuficientes para estabelecer se as cepas dos pacientes seriam as mesmas isoladas nos lavados de mãos. Nesse caso, seria necessária a realização da epidemiologia molecular por genotipagem molecular das cepas mediante o uso das metodologias de Análise de DNA cromossômico através de eletroforese de campo pulsado (PFGE) e/ou Spoligotyping, metodologias essas não realizadas no presente estudo.

Quando as espécies bacterianas dos lavados de mãos e dos materiais clínicos foram

analisadas conjuntamente e conforme a UTI participante, obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 5.

Tabela 5

Quantitativo de amostras contendo as espécies bacterianas isoladas de lavado de mãos e de amostras clínicas, conforme as 4 UTI's da cidade de Manaus analisadas.

Espécies de BACTÉRIAS	UTI's e Tipos de amostra								Total de cepas		Total Geral
	A		B		C		D		MC	LM	
	MC	LM	MC	LM	MC	LM	MC	LM			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	0	0	1	1	3	0	4	1	5
<i>Aerococcus viridans</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	5	0	4	0	3	1	1	3	13	16
<i>Cedecea lapagei</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	0	0	0	0	2	1	2	2	4	6
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2
<i>Enterobacter sakazakii</i>	0	0	1	1	0	0	0	1	1	2	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1	0	6	1	4	0	0	3	11	14
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	24	2	23	0	17	0	16	4	80	84
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	2
<i>Flavi oryzihabitans</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	2
<i>Hafnia alvei</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	3	0	3	1	2	0	3	1	11	12
<i>Klebsiella terrigena</i>	2	1	0	0	0	0	0	0	2	1	3
<i>Klyuvera sp</i>	0	0	0	0	0	3	0	1	0	4	4
<i>Providência rettgeri</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
<i>Pantoea sp</i>	0	0	0	0	1	0	1	1	2	1	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	6	5	4	1	6	6	3	17	19	36
<i>Pseudomonas putida</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	1	0	0	0	0	1	0	2	1	3
<i>Serratia marcescens</i>	4	1	1	0	1	0	3	0	9	1	10
<i>Serratia odorífera</i>	2	1	0	0	0	1	0	1	2	3	5
<i>Shigella sonnei</i>	0	0	0	0	0	3	1	0	1	3	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	17	5	5	8	18	5	19	37	59	96
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	0	0	1	0	1	1	0	1	2	3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	3	0	0	0	0	0	1	1	4	5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	2	0	0	0	0	0	1	0	3	3
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
<i>Staphylococcus warnery</i>	0	1	0	1	0	2	0	1	0	5	5
<i>Streptococcus Uberis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
<i>Streptococcus sanguis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
Fungo	0	1	0	0	0	3	0	0	0	4	4
Microbiota mista	0	16	0	7	0	11	0	38	0	72	72
TOTAIS	41	69	14	54	16	68	23	53	94	244	338

MT = material clínico de pacientes; LM = lavado de mãos de profissionais.

Quando se analisa a Tabela 5 constata-se que algumas espécies bacterianas foram isoladas de amostras clínicas e de lavado de mãos em todas as UTI's estudadas. É o caso das espécies *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. O fato confirma o disposto na literatura sobre a existência das referidas espécies em todos os ambientes hospitalares, seja de países desenvolvidos ou em desenvolvimento (BRAGA et al., 2004).

Apesar da espécie *Serratia marcescens* ter sido isolada de amostras clínicas de todas as UTI's, somente foi encontrada no lavado de mãos de um profissional de unidade pública (UTI A). Trata-se de uma enterobactéria considerada como a mais patogênica do grupo e uma das mais incidentes em infecções hospitalares. Conseqüentemente, o resultado do presente estudo está de acordo com os dados obtidos na literatura (SOARES et al., 2002).

No presente estudo a espécie *Acinetobacter baumannii* somente foi isolada de amostras clínicas e lavado de mãos oriundos de UTI's privadas. Entretanto, na literatura são relatados casos de infecções tanto em unidades públicas como privadas. É uma espécie que está se tornando cada vez mais freqüente em casos de infecções hospitalares (LINO, 2006). Esse patógeno é um agente etiológico que está relacionado a alto grau de virulência de infecções nosocomiais em pacientes debilitados e imunocomprometido, e freqüentemente é responsável por infecções como septicemia, artrite séptica, infecção do trato urinário. (SOARES et al., 2002; APECIH, 2005; SILBERT; SADER, 2006; WYETH, 2006).

O *Acinetobacter baumannii* é uma espécie isolada do meio ambiente, inclusive hídrico, e por isso é considerado um organismo oportunista que, para sua eliminação, requer um eficaz controle das águas utilizadas em hospitais. Estudo realizado em São Paulo (BRAGA et al., 2004) constatou um aparecimento considerável desse gram-negativo em pacientes fazendo uso de sonda pós-operatória e em pacientes com idade maior ou igual a 60

anos, mostrando associação desses pacientes com a infecção. Infelizmente, no presente estudo, não foram obtidos dados para comparação com as informações fornecidas pelos referidos autores.

A espécie *Enterococcus fecalis* somente foi isolada em amostras clínicas das unidades hospitalares públicas, apesar de estar presente nas mãos dos profissionais de todas as unidades de UTI's estudadas (públicas e privadas). Visto que os quantitativos de amostras clínicas obtidas foram semelhantes entre as unidades públicas e privadas, tem-se um resultado que pode significar uma melhor atuação das Comissões de Controle de Infecções Hospitalares nas unidades privadas. Entretanto, deve-se levar em consideração que é nas unidades públicas que se encontram os pacientes mais debilitados e propícios a adquirirem infecções hospitalares de origem endógena ou exógena.

Um outro dado constatado que merece uma análise especial refere-se ao isolamento de espécies, em reduzida freqüência, isoladas tanto de amostra clínica como de lavado de mãos na mesma unidade de UTI. É o caso das espécies de *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Chryseomonas luteola*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea* sp, *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorífera*, *Staphylococcus epidermidis*. Nesses casos torna-se vital o estudo genômico das mesmas para avaliar a possível transmissão cruzada nosocomial, conforme exposto por Bertrand et al. (2001). Como no presente estudo não foi possível sua realização, alerta-se a importância para estudos futuros.

O presente estudo mostrou que em números absolutos em relação aos hospitais públicos (178 cepas) e privados (160 cepas), não houve diferença significativa quanto ao número de bactérias isoladas.

As cinco espécies bacterianas mais prevalentes nas amostras clínicas e nos lavados de mãos foram avaliadas quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos mais indicados em

seus combates. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6

Padrões de interpretações do diâmetro dos halos de inibições dos testes de resistências aos antimicrobianos de cepas isoladas de amostras clínicas e de lavados de mãos.

Patógeno	Amostras clínicas				Patógeno	Lavado de mãos			
	Total cepas	Antimicrobianos	Resistência			Total cepas	Antimicrobianos	Resistência	
			Nº	%				Nº	%
<i>S. aureus</i>	37	Eritromicina	37	100	<i>S. aureus</i>	59	Eritromicina	49	83
		Penicilina	37	100			Penicilina	41	69
		Oxacilina	0	0			Oxacilina	0	0
		Clindamicina	0	0			Clindamicina	30	50
		TSM	0	0			TSM	0	0
		Vancomicina	0	0			Vancomicina	0	0
		Cloranfenicol	0	0			Cloranfenicol	26	44
		Ciprofloxacina	0	0			Ciprofloxacina	0	0
		Gentamicina	0	0			Gentamicina	22	37
		Tetraciclina	0	0			Tetraciclina	20	33
		Rifampicina	0	0			Rifampicina	0	0
Cefoxitina	0	0	Cefoxitina	0	0				
<i>P. aeruginosa</i>	17	Amicacina	16	94,2	<i>P. aeruginosa</i>	19	Amicacina	3	15
		Gentamicina	15	88,2			Gentamicina	11	57
		Aztreonam	17	100			Aztreonam	10	52
		Cefepime	14	82,3			Cefepime	9	47
		Ceftazidima	13	76,4			Ceftazidima	5	26
		Ceftriaxona	16	94,2			Ceftriaxona	8	42
		Ciprofloxacina	11	64,7			Ciprofloxacina	3	15
		Cloranfenicol	17	100			Cloranfenicol	15	78
		Imipenem	9	52,9			Imipenem	0	0
		Piperaciclina	7	41,1			Piperaciclina	19	100
TSM	17	100	TSM	18	94				
<i>B. cepacia</i>	4	Amicacina	4	100	<i>B. cepacia</i>	13	Amicacina	10	76
		Gentamicina	4	100			Gentamicina	8	61
		Aztreonam	4	100			Aztreonam	3	61
		Cefepime	4	100			Cefepime	5	38
		Ceftazidima	4	100			Ceftazidima	5	38
		Ceftriaxona	4	100			Ceftriaxona	7	53
		Ciprofloxacina	1	25			Ciprofloxacina	3	61
		Cloranfenicol	4	100			Cloranfenicol	13	100
		Imipenem	1	25			Imipenem	2	15
		PT	1	25			PT	2	15
TSM	4	100	TSM	11	84				
<i>A. baumannii</i>	4	Amicacina	4	100	<i>A. baumannii</i>	1	Amicacina	1	100
		Gentamicina	2	50			Gentamicina	0	0
		Aztreonam	4	100			Aztreonam	1	100
		Cefepime	4	100			Cefepime	1	100
		Ceftadizima	3	75			Ceftadizima	1	100
		Ceftriaxona	4	100			Ceftriaxona	1	100
		Ciprofloxacina	0	0			Ciprofloxacina	0	0
		Cloranfenicol	4	100			Cloranfenicol	1	100
		Imipenem	0	0			Imipenem	0	0
		Piperaciclina	4	100			Piperaciclina	1	100
TSM	4	100	TSM	1	100				

Continuação Tabela 6

Patógeno	Amostras clínicas				Patógeno	Lavado de mãos			
	Total cepas	Antimicrobianos	Resistência			Total cepas	Antimicrobianos	Resistência	
			Nº	%				Nº	%
<i>E. fecalis</i>	4	Ampicilina	2	50	<i>E. fecalis</i>	78	Ampicilina	28	35
		Vancomicina	1	25			Vancomicina	20	25
		Gentamicina	4	100			Gentamicina	72	92
		Cloranfenicol	2	50			Cloranfenicol	24	30
		Eritromicina	3	75			Eritromicina	44	56
		Tetraciclina	1	25			Tetraciclina	12	15
		Rifampicina	2	50			Rifampicina	16	20
		Ciprofloxacina	1	25			Ciprofloxacina	36	46
<i>K. pneumoniae</i>	1	Amicacina	1	100	<i>K. pneumoniae</i>	11	Amicacina	8	72
		Gentamicina	1	100			Gentamicina	9	81
		Ampicilina	0	0			Ampicilina	8	72
		Aztreonam	0	0			Aztreonam	10	90
		Cefalotina	1	100			Cefalotina	9	81
		Cefepime	1	100			Cefepime	7	63
		Ceftriaxona	1	100			Ceftriaxona	10	90
		Ciprofloxacina	1	100			Ciprofloxacina	2	18
		Cloranfenicol	0	0			Cloranfenicol	4	36
		Imipenem	1	100			Imipenem	2	18
		Piperaciclina-tazobactam	0	0			Piperaciclina-tazobactam	6	54
		Trimetoprim-sulfametoxazol	1	100			Trimetoprim-sulfametoxazol	11	100
Tetraciclina	0	0	Tetraciclina	6	54				
<i>S. marcescens</i>	9	Amicacina	8	88	<i>S. marcescens</i>	1	Amicacina	1	100
		Gentamicina	6	66			Gentamicina	1	100
		Ampicilina	9	100			Ampicilina	0	0
		Cefalotina	8	88			Cefalotina	0	0
		Aztreonam	7	77			Aztreonam	1	100
		Cefepime	4	44			Cefepime	1	100
		Ceftriaxona	9	100			Ceftriaxona	0	0
		Ciprofloxacina	4	44			Ciprofloxacina	0	0
		Cloranfenicol	7	77			Cloranfenicol	0	0
		Imipenem	0	0			Imipenem	1	100
		Piperaciclina-tazobactam	0	0			Piperaciclina-tazobactam	1	100
		Trimetoprim-sulfametoxazol	8	88			Trimetoprim-sulfametoxazol	0	0
Tetraciclina	9	100	Tetraciclina	0	0				
<i>E. cloacae</i>	3	Ampicilina	3	100	<i>E. cloacae</i>	11	Ampicilina	11	100
		Cefalexina	3	100			Cefalexina	11	100
		Ceftriaxona	1	33			Ceftriaxona	11	100
		Cefalotina	3	100			Cefalotina	10	90
		Amoxicilina	1	33			Amoxicilina	4	36
		Sulfazotrim	3	100			Sulfazotrim	6	54
		Ceftozidima	2	66			Ceftozidima	11	100
		Cefepime	1	33			Cefepime	8	72
		Cefoxilina	1	33			Cefoxilina	9	81
		Ciproxoxacin	3	100			Ciproxoxacin	11	100
		Tetraciclina	2	66			Tetraciclina	11	100
		Cloranfenicol	3	100			Cloranfenicol	5	45
		Aztreonam	1	33			Aztreonam	10	90

TSM = Trimetoprim-sulfametoxazol; PT = Piperaciclina-tazobactam

Os resultados das amostras clínicas demonstraram que as cepas de *S. aureus*, apresentaram-se resistentes em apenas dois dos antibióticos testados. Esse resultado é promissor, pois demonstra ser ainda reduzida a resistência dessa bactéria aos antibióticos mais utilizados em sua terapêutica. No entanto, as cepas dos *S. aureus* isolados dos lavados de mãos não apresentaram o mesmo resultado, pois foram resistentes a vários grupos de antibióticos.

Também foi observado que a maioria das cepas bacterianas isoladas das amostras clínicas e dos lavados de mãos apresentou resistência a vários grupos de antibióticos que são utilizados em regime terapêutico. O fato caracteriza uma multi-resistência à ação dos agentes antimicrobianos, geralmente induzidos por regimes terapêuticos inadequados (LEÃO, 1999; NCCLS, 2005).

Um estudo realizado por Lopes et al. (1998) relata que as bactérias com resistência múltipla aos antimicrobianos representam um desafio no tratamento das infecções, principalmente aos grupos de fluoroquinolonas, grupo ao qual pertencem a norfloxacina e ciprofloxacina. O fato também é relatado para os grupos dos aminoglicosídeos, ao qual pertencem as amicacina e gentamicina, e o grupo das tetraciclinas, entre outros. Esses grupos na década de 80 representaram, sem dúvidas, um avanço no tratamento de infecções por bactérias multi-resistente, particularmente por infecções do trato urinário (SARAIVA et al., 1997).

Segundo CCIH (2006), em relação às bactérias consideradas de alto nível de resistência a medicamentos antimicrobianos, destacam-se: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Trabalhos mais recentes têm alertado para o aumento da frequência de bactérias resistentes a outros grupos de antibióticos, como por exemplo, as quinolonas ao qual pertence o ácido nalidixico. Segundo

Lopes et al. (1998) a resistência relatada tem sido observada principalmente nas bactérias que acometem pacientes com septicemia graves e o trato urinário. No presente estudo nenhuma cepa foi testado para o antibiótico alertado pela referência.

A resistência microbiana é um fenômeno biológico natural. Mas se torna um problema significativo de saúde pública devido ao abuso e negligência no uso exagerado de antibióticos. É fato que o problema não está sendo considerado adequadamente pelos órgãos de controle da saúde humana.

Nenhuma população está mais vulnerável aos microrganismos multi-resistente do que os pacientes hospitalizados. No Brasil a média é de 45 mil óbitos por ano em cerca de doze milhões de internações em consequência dos microrganismos multi-resistente adquiridos nos ambientes hospitalares (BRASIL MÉDICO, 1999).

Os presentes resultados somados aos existentes na literatura indicam a necessidade de se ampliar às ações de vigilância terapêutica. Além desse fato, deve-se exigir o uso de novas gerações de antibióticos que tenham maior atividade antibacteriana e maior estabilidade contra a resistência (CCIH, 2006).

Conforme a literatura os profissionais de saúde são os que mais transportam microrganismos de pacientes para pacientes, para equipamentos ou ainda para alimentos, proporcionando condições favoráveis para o desencadeamento de infecções hospitalares. Tornam-se assim responsáveis pela maioria das infecções cruzadas (OPPERMANN et al., 1994; LARSON, 1995).

Entre as formas de disseminação dos microrganismos pelos profissionais de saúde se destaca aquela proporcionada pelas mãos infectadas. Assim, uma das atividades para estabelecer a transmissibilidade entre médicos e pacientes é a realização do lavado de mãos dos profissionais antes, durante e após as atividades hospitalares.

A lavagem das mãos é, sem dúvida, um tema que pode se tornar embaraçoso quando abordado diretamente, pois é difícil um profissional de saúde assumir que há falha em um aspecto tão elementar. Por esse motivo, os profissionais de saúde que concordaram em participar da pesquisa foram interrogados sobre os hábitos higiênicos antes de efetuarem os lavados de mãos (LARSON, 1995).

Das 12 perguntas elaboradas, conforme apresentadas no apêndice A, algumas foram escolhidas para verificação das respostas em relação aos patógenos isolados. As perguntas escolhidas foram as de nº 4, 5, 8, 10 e 11, relativas a:

4 – Você dá importância para a lavagem das mãos?

5 - Você lava as mãos antes de qualquer procedimento dentro da UTI?

8 – Você tem hábito de se alimentar dentro da UTI?

10 – Você considera que seus procedimentos são corretamente assépticos?

11 – Você sabe quais os produtos e procedimentos para lavar as mãos corretamente?

Os resultados obtidos estão apresentados nos gráficos 4, 5, 6 e 7, correspondendo aos profissionais que atuam nas UTI's A, B, C e D, respectivamente.

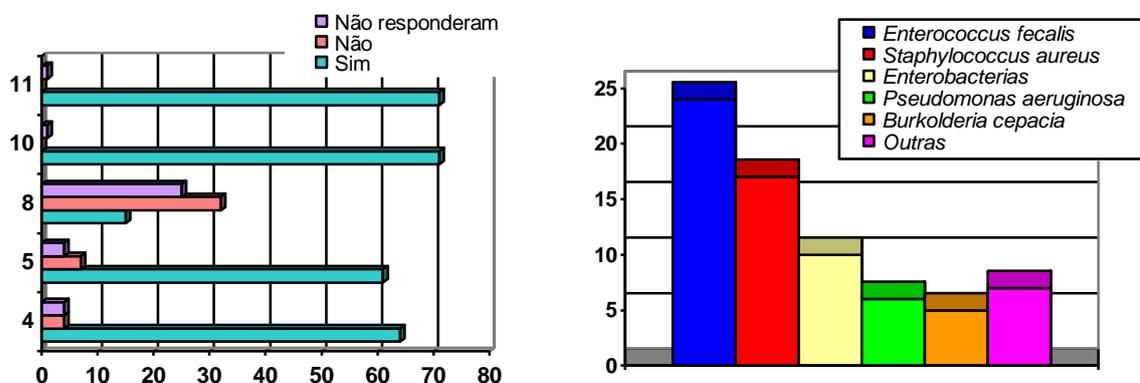


Gráfico 4 – Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – A.

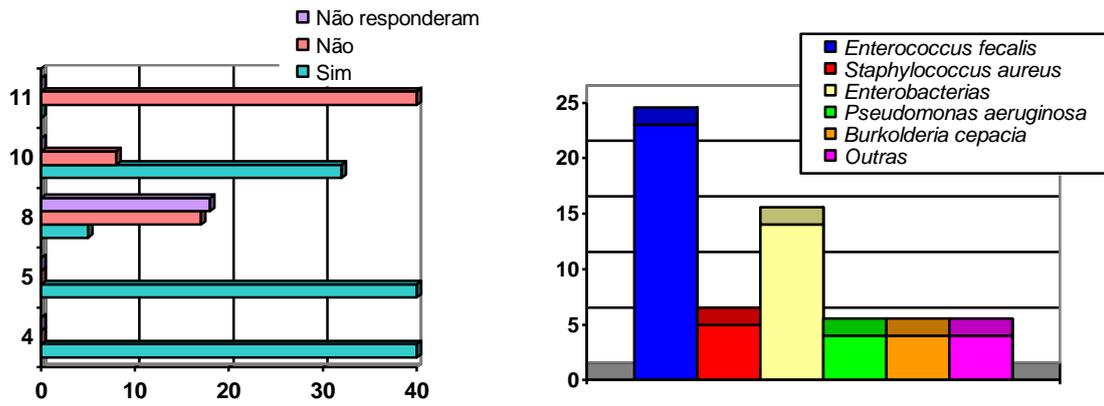


Gráfico 5 – Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – B.

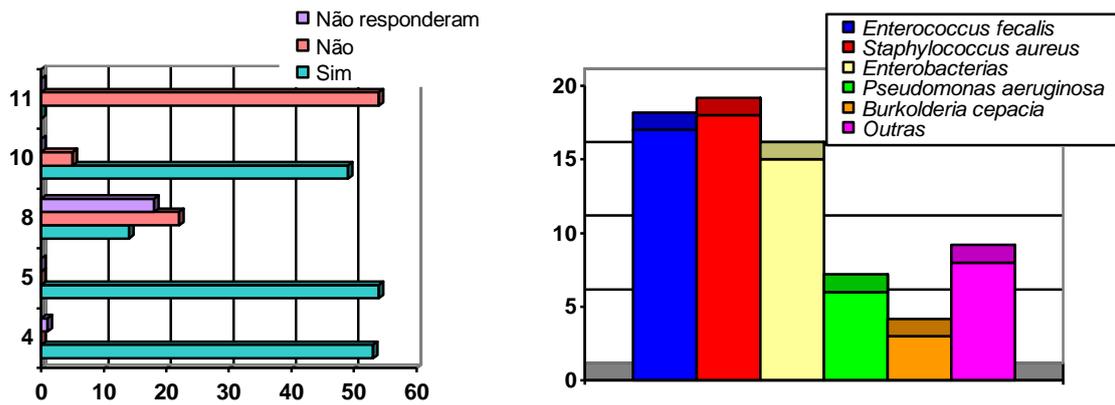


Gráfico 6 – Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – C.

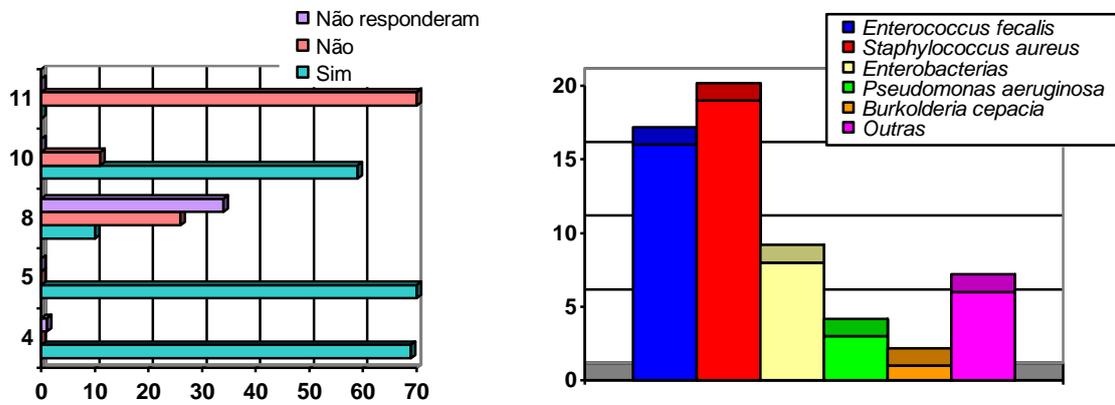


Gráfico 7 – Correlação feita entre as respostas obtidas e os patógenos isolados – UTI – D.

Analisando-se apenas os resultados das questões elaboradas aos profissionais de saúde, a respeito do controle de infecções hospitalares, constatou-se que a maioria dos participantes tem conhecimentos de medidas de prevenções para o controle do problema. Entretanto, não há relação entre as respostas obtidas e os patógenos isolados, como mostram os gráficos 4, 5, 6 e 7, representando a situação de cada UTI. Os resultados mostram que os profissionais reconhecem a importância do seu papel no combate à infecção hospitalar, e os procedimentos básicos e essenciais para sua proteção e de seus pacientes. No entanto, as espécies de patógenos isolados de suas mãos indicam que não cumprem aquilo que consideram e conhecem como importante.

A infecção hospitalar ainda é uma problemática que requer não só o conhecimento de medidas de precaução, mas um conjunto de ações como princípios e normas que cada profissional deve efetuar e cumprir no exercício de suas atividades. Os mesmos devem sempre estar alertas e ter atitudes sistemáticas e contínuas em seu cotidiano hospitalar conforme os conhecimentos, normas e legislação das atividades de Controle da Infecção Hospitalar (ANDRADE; ANGERAMI, 1999).

5. CONCLUSÕES

- 5.1 Os patógenos mais frequentes no lavado de mãos foram *E. fecalis*, *S. aureus*. Nas amostras clínicas foram *S. aureus*, *P. aeruginosas*. Esses patógenos estão descritos nas literaturas como os de maior incidência em infecções nosocomiais;
- 5.2 Das 33 espécies bacterianas isoladas de pacientes e profissionais atuantes nas 4 UTI's do município de Manaus, 18 (54%) foram obtidas tanto do lavado de mãos como das amostras clínicas, indicando possível contaminação cruzada que para confirmação exige estudo de epidemiologia molecular não realizado no presente trabalho;
- 5.3 Dentre as amostras do lavado de mãos, foram isoladas 17 espécies oriundas da microbiota intestinal, sugerindo que os profissionais não estão realizando adequadamente as assepsias exigidas para os que trabalham em UTI;
- 5.4 Dos 58 profissionais que participaram da primeira e da segunda coleta do lavado de mãos, foram isolados 21 diferentes espécies bacterianas. Porém, somente em apenas quatro profissionais obteve-se a mesma espécie bacteriana. Porém, somente em apenas quatro profissionais obteve-se a mesma espécie indicando que nesses as mesmas fazem parte de suas microbiotas normais ou que existe uma persistência da fonte de contaminação;
- 5.5 Nas cepas submetidas ao perfil de resistências aos antimicrobianos, obteve-se uma elevada taxa de resistência para vários grupos de antibióticos, caracterizando uma multi-resistência aos antibióticos normalmente utilizados no seu tratamento. O fato alerta que uma efetiva comissão de controle terapêutica deva atuar com mais rigor sobre esse aspecto, pois surtos desses patógenos multi-resistentes têm sido causa de mortes por infecções hospitalares;
- 5.6 O estudo revelou que os profissionais reconhecem a importância do seu papel no combate à infecção hospitalar, e os procedimentos básicos e essenciais para proteção pessoal e dos pacientes. No entanto, não aplicam na prática esses conhecimentos como medidas de

precaução para evitar as infecções nosocomiais, visto a quantidade e os tipos de espécies bacterianas isoladas das mãos dos mesmos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, D.; ANGERAMI, E.L.S. Reflexões acerca das infecções hospitalares às portas do terceiro milênio. *Medicina*. Ribeirão Preto, v. 32, p. 492-497, Out/Dez, 1999.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. *ANVISA lança sistema para monitorar infecção em hospitais*. 2004.
- APECIH. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar. *Infecções Hospitalares no Brasil: uma medida de sua magnitude nos anos 1990 e comparação com os índices europeus*. 2006.
- BERTRAND, S.; THOUREVEZ, M.; PATRY, C.; BALVAY, P.; TALON, D. Pseudomonas aeruginosa: Antibiotic Susceptibility and Genotypic Characterization of Strains Isolated in the Intensive Care Unit. *Clinical and Microbiologic Infections*, v. 7, n. 12, p. 706-708, 2001.
- BIBLIOMED CORPORATIVO. *Infecção Hospitalar*. 2003.
- BRAGA, K.A.M.; SOUZA, L.B.S.; SANTANA, W.J.; COUTINHO, H.D.M. Microorganismos mais freqüentes em unidades de terapia intensiva. *Revista Médica Ana Costa*, v. 9, n. 4, Out/Dez, 2004.
- BRASIL MÉDICO. *Infecção hospitalar ainda Desafia controle médico*. 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Programa de Controle de Infecção Hospitalar. Portaria n. 2.616, 12 de maio de 1998. In: *Diário Oficial da União*, Brasília, 1998.
- BOLLMANN, R. et al. Nasocomial infections due to *Serratia marcescens* – Clinical findings, antibiotic susceptibility patterns and fine typing. *Infection*, München, v. 17, n. 5, p. 294-300, 1989.
- CASEWELL, M.; PHILLIPS, I. Hands as route of transmission for *Klebsiella* species. *Brit. Med. J.*, London, v. 2, n. 6098, p. 1315-1317, 1977.
- CCIH. *Vencendo a resistência microbiana. World Health Report on Infectious Diseases 2000*. Disponível em: <<http://www.ccih.med.br/vencendoresistencia.html>>. Acesso em: 14 set. 2006.
- CCIH. *As infecções dentro do âmbito hospitalar*. Disponível em: <<http://www.ccih.med.br/ih.html>>. Acesso em: 20 out. 2006.
- GIAMARELLOU, H. Therapeutic guiderlines for Pseudomonas aeruginosa infections. *International Journal Antimicrobial Agents*, v. 16, p. 103-106, 2000.
- GILLIGAN, P.H. Pseudomonas and Burkholderia. In: Murray, P R; Baron, E; Pfaller, M A; Tenover, F C; Tenover, R H. *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press. Washington, D.C. p. 509-519, 1995.

LARSON, E.L. APIC guidelines for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *Am. J. Infect. Control.*, St. Louis, v. 23, n. 4, p. 251-269, 1995.

LEÃO, I. Pesquisa. *Antibióticos. A luta contra as bactérias*. USP, 1999.

LEMC. Laboratório Especial de Microbiologia Clínica. *Enterococcus faecalis e Enterococcus faecium resistentes a vancomicina*. 2006.

LEMC. Laboratório Especial de Microbiologia Clínica. *Programa de Qualidade em Microbiologia Clínica*. 2006.

LINO, M. *Qual é a bactéria existente no HDF*. Observatório do Algarve, 2006.

LOPES, A.A.; SALGADO, K.; MARTINELLI, R.; ROCHA, H. Aumento da frequência de resistência à norfloxacin e ciprofloxacina em bactérias isoladas em uroculturas. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v. 44, n. 3, p. 196-200, 1998.

NCCLS. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement.*, NCCLS, Pennsylvania, Document M100-S14, v. 24, n. 1, Replaces. January, 2005.

MANNING, M.L. et al. *Serratia marcescens* transmission in a pediatric intensive care unit: A multifactorial occurrence. *Amer. J. Infect. Control.*, St. Louis, v. 29, n. 2, p. 115-119, 2001.

MARTINS, M.A. *Manual de Infecção Hospitalar. Epidemiologia, Prevenção e Controle*. 2. ed. Belo Horizonte: MEDSI, 2001. 1116 p.

MEDEIROS, A.C.; NETO, T.A.; FILHO, A.M.D.; JUNIOR, F.E.L.P.; UCHOA, R.A.C.; CARVALHO, M.R. Infecção hospitalar em pacientes cirúrgicos de hospital universitário. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 18 (Supl.1), p. 15-18, 2003.

MENDONÇA, A.P.; FERNANDES, M.S.C.; AZEVEDO, J.M.R.; SILVEIRA, W.C.R.; SOUZA, A.C.S. Lavagem das mãos: adesão dos profissionais de saúde em uma unidade de terapia intensiva neonatal. *Acta Scientiarum. Health Sciences*. Maringá-Pr, v. 25, n. 2, p. 147-153, 2003.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington, American Society for Microbiology, 1999. p. 297-305.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. *Manual of Clinical Microbiology*. 3ª ed. Washington, American Society for Microbiology, 2000.

OPAS-OMS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Infecção Hospitalar*. 2000.

OPPERMANN, C.M. et al. Hábito de lavagem das mãos: estudo de prevalência em uma unidade de tratamento intensivo de trauma. *Revista do HPS – Hospital de Pronto Socorro*, Porto Alegre, n. 40, p. 27-31, dez. 1994.

PEACOCK JR., J.E. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: introduction and spread within a hospital. *Ann. Inter. Med.*, Philadelphia, v. 93, n. 4, p. 526-532, 1980

REZENDE, E.M.; BRAZ, N.J.; MARTINHO, G.H.; RIBEIRO, M.M.; CAMPOS, M.D. Vigilância, Controle e Prevenção das Infecções Hospitalares no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. In: Anais do 8º Encontro de Extensão, 2005, Belo Horizonte. *Resumos*. Belo Horizonte: UFMG, 2005. 6 p.

RHINEHART, E. et al. Rapid dissemination of β -lactamase-producing, aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecalis* among patients and staff on an infant-toddler surgical ward. *N. Eng. J. Med.*, Boston, v. 323, n. 26, p. 1814-1818, 1990.

SALZMAN, T.C. et al. Hand contamination of personnel as a mechanism of cross-infection in nosocomial infections with antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella-Aerobacter*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Bethesda, v. 7, n. 2, p. 97-100, 1967.

SARAIVA, I.H.; JONES, R.N.; ERWIN, M.; SADER, H.S. Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de 87 amostras clínicas de enterococos resistentes à vancomicina. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, v. 43, n. 3. São Paulo, Jul/Sept. 1997.

SELWYN, S. Hospital infection: the first 2500 years. *J. Hosp. Infec.*, v. 18, p. 5-64, 1991.

SILBERT, S.; SADER, H.S. *Identificação de Bacilos Gram-negativos Não-fermentadores*. 2006.

SOARES, V.S.; HERNANDES, S.E.D.; OGASSAWARA, R.L.N.; KWABARA. H.N.; GARCIA, L.B.; CARDOSO, C.L. Remoção de *Serratia marcescens* (Enterobacteriaceae) das mãos pelo uso de diferentes agentes degermantes. *Acta Scientiarum*, Maringá-Pr, v. 24, n. 3, p. 719-725, 2002.

STINGHEN, A.E.M.; ALBINI, C.A.; SOUZA, H.A.P.H.M. *Coloração de Gram: Como fazer, Interpretar e Padronizar*. 2ª edição. Curitiba: Microscience, 2003.

TUTUNJI, V. *Bacilos Gram Negativos Não Fermentadores*. 2006.

WIDMER, A.F. et al. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a surgical intensive care unit: probable transmission via hands of a health care worker. *Clin. Infect. Dis.*, Chicago, v. 16, n. 3, p. 372-376, 1993.

WYETH. Notícias. *A Infecção Hospitalar – Tudo o que você precisa saber sobre infecção hospitalar. Saiba mais sobre um dos temas de maior relevância no âmbito da saúde pública no Brasil*. Disponível em: <http://www.wyeth.com.br/noticias_texto.php?id_noticia=72>. Acesso em: 09 out. 2006.

WYETH. Notícias. *A Infecção Hospitalar – Mitos e verdades envolvem o problema, que atinge 15% dos pacientes internados no país*. Disponível em: <http://www.wyeth.com.br/noticias_texto.php?id_noticia=79>. Acesso em: 09 nov. 2006.

APÊNDICE A – Questionário para os Profissionais de saúde

Nome:.....

Idade: ____/____/____

Sexo:.....

Categoria Profissional:

1. Você sabe o que é um CCIH?

Sim () Não ()

2. Você conhece algum membro do CCIH no Hospital?

Sim () Não ()

3. Você já leu sobre infecção hospitalar?

Sim () Não ()

4. Você dá importância para a lavagem das mãos?

Pouco () Muito () Muito Pouco ()

5. Você lava as mãos antes de qualquer procedimento dentro da UTI?

Sim () Não ()

6. Você trabalha em outro hospital?

Sim () Não ()

7. Ao sair da UTI, o profissional tira o jaleco?

Sim () Não ()

8. Você tem hábito de se alimentar dentro da UTI?

Sim () Não ()

9. É freqüente a entrada e saída de pessoas não autorizadas dentro da UTI?

Sim () Não ()

10. Você considera que seus procedimentos são corretamente assépticos?

Sim () Não ()

11. Você sabe quais os produtos e procedimentos para lavar as mãos corretamente?

Sim () Não ()

12. Existem reuniões periódicas ou reciclagens periódicas sobre CCIH?

Sim () Não ()

APÊNDICE B – Cadastro Hospitalar

Nome do Hospital:
 Público () Privado()
 Número de leitos do hospital:
 Número de leitos de UTI:
 Laboratório próprio de microbiologia: sim() não()
 Possui CCIH atuante: sim() não() () parcialmente
 Quantos membros participam da CCIH?
 Qual a carga horária dedicada à CCIH de cada categoria.....
 Quais categorias funcionais?
 Existe regimento interno? sim() não()
 Existe reunião periódica do grupo? sim() não()
 Existe registro destas reuniões? sim() não()
 O grupo faz treinamento dos profissionais de saúde em prevenção e controle de IH ? sim()
 não()
 Existe registro destes treinamentos? sim() não()
 Existe rotina por escrito de prevenção das IHS? sim() não()
 Os membros visitam diariamente os setores, instruindo a equipe? sim() não()
 Tempo médio para sementeira do material:
 Condições de transporte:
 Obs:

APÊNDICE C – Quadro de Identificação Fenotípica (Biomerieux) de Enterobactérias

	TESTES	COMPONENTES ATIVOS	REAÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
API 20 E	ONPG	2-nitrofenil-βD-galactopiranosida;	B-galactosidase (Orto Nitrofenil-βD-galactopiranosidase)	Incolor	Amarelo
	ADH	L-arginina	Arginina dihidrolase	Amarelo	Vermelho/Alaranjado
	LDC	L-lisina	Lisina Descarboxolase	Amarelo	Vermelho/Alaranjado
	CIT	Citrato de Sódio	Utilização do Citrato	Verde pálido/Amarelo	Azul esverdeado/Azul
	H2S	Tiosulfato de Sódio	Produção de H2s	Incolor/Acinzentado	Depósito negro/orla fina
	URE	Uréia	Urease	Amarelo	Vermelho/Alaranjado
	TDA	L-triptofano	Triptofano Desaminase	Amarelo	Castanho-avermelhado
	IND	L-triptofano	Produção de Indol	Incolor/Verde pálido/amarelo	Rosa
	VP	Piruvato de Sódio	Produção de acetoina	Incolor	Rosa/vermelho
	GEL	Gelatina	Gelatinase	Não Difusão	Difusão do pigmento negro
	GLU	D-glucose	Fermentação/oxidação (glucose)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	MAN	D-manitol	Fermentação/oxidação (Manitol)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	INO	Inositol	Fermentação/oxidação (Inositol)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	SOR	D-sorbitol	Fermentação/oxidação (Sorbitol)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	RHA	L-ramnose	Fermentação/oxidação (Ramnose)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	SAC	D-sacarose	Fermentação/oxidação (Sacarose)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	MEL	D-melibiose	Fermentação/oxidação (Melibiose)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	AMY	Amigdalina	Fermentação/oxidação (Amigdalina)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento
	ARA	L-rabinose	Fermentação/oxidação (Rabinose)	Azul/azul esverdeado	Amarelo/amarelo cinzento

APÊNDICE D – Quadro de Identificação Fenotípica (Biomérieux) de *Staphylococcus*.

	TESTES	COMPONENTES ATIVOS	REAÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
API STAPH	GLU	D-glucose	Testemunho Positivo (D-glucose)	Vermelho	Amarelo
	FRU	D-frucose	Acidificação (D-frucose)	Vermelho	Amarelo
	MNE	D-manose	Acidificação (D-manose)	Vermelho	Amarelo
	MAL	D-maltose	Acidificação (D-maltose)	Vermelho	Amarelo
	LAC	D-lactose	Acidificação (D-lactose)	Vermelho	Amarelo
	TER	D-trehalose	Acidificação (D-trehalose)	Vermelho	Amarelo
	MAN	D-manitol	Acidificação (D-manitol)	Vermelho	Amarelo
	XLT	Xitolol	Acidificação (D-xitolol)	Vermelho	Amarelo
	MEL	D-melibiose	Acidificação (D-melibiose)	Vermelho	Amarelo
	NIT	Nitrato de Potássio	Redução de Nitrato em nitritos	Incolor/rosa pálido	Vermelho
	PAL	B-naftil fosfato	Fosfatase Alcalina	Amarelo	Violeta
	VP	Piruvato de Sódio	Produção de acetil metil-carbinol	Incolor/rosa pálido	Violeta/Rosa
	RAF	D-rafinose	Acidificação (Rafinose)	Vermelho	Amarelo
	XYL	D-xilose	Acidificação (Xilose)	Vermelho	Amarelo
	SAC	D-sacarose	Acidificação (Sacarose)	Vermelho	Amarelo
	MDG	Metil- α D-glucopiranosido	Acidificação (Metil- α D-glucopiranosido)	Vermelho	Amarelo
	NAG	N-acetil-glucosamina	Acidificação (N-acetil-glucosamina)	Vermelho	Amarelo
	ADH	L-arginina	Arginina Dihidrolase	Amarelo	Laranja/avermelhado
URE	Uréia	Urease	Amarelo	Vermelho/violeta	

APÊNDICE E – Quadro de Identificação Fenotípica (Biomerieux) de Bactérias não fermentadoras.

	TESTES	COMPONENTES ATIVOS	REAÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
API 20 NE	NO3	Nitrato de Potássio	Redução de Nitratos em nitritos	Incolor	Rosa-amarelo
	TRP	L-triptofano	Formação de Indol	Incolor/verde pálido/amarelo	Rosa
	GLU	D-glucose	Fermentação (Glucose)	Azul a verde	Amarelo
	ADH	L-arginina	Arginina Dihidrolase	Amarelo	Laranja/rosa/vermelho
	URE	Ureia	Urease	Amarelo	Laranja/rosa/vermelho
	ESC	Esculina citrato de ferro	Hidrólise (β -glucosidade) (Esculina)	Amarelo	Cinza/castanho/negro
	GEL	Gelatina	Hidrólise (Protease) (Gelatina)	Não há difusão do pigmento	Difusão do pigmento negro
	PNPG	4-nitrofenil- β D-galactopiranosido	B-galactosidade (Para-Nitrofenil- β D-galactopiranosidase)	Incolor	Amarelo
	GLU	D-glucose	Assimilação (Glucose)	Transparência	Turvo
	ARA	L-arabinose	Assimilação (Arabinose)	Transparência	Turvo
	MNE	D-manose	Assimilação (Manose)	Transparência	Turvo
	MAN	D-manitol	Assimilação (Manitol)	Transparência	Turvo
	NAG	N-acetil-glucosamina	Assimilação (N-acetil-glucosamina)	Transparência	Turvo
	MAL	D-maltose	Assimilação (Maltose)	Transparência	Turvo
	GNT	Potássio gluconato	Assimilação (Potássio gluconato)	Transparência	Turvo
	ADI	Ácido Caprato	Assimilação (Ácido Caprato)	Transparência	Turvo
	MLT	Ácido Malato	Assimilação (Malato)	Transparência	Turvo
	CIT	Citrato de trisódio	Assimilação (Citrato de trisódio)	Transparência	Turvo
	PAC	Ácido fenil-acetato	Assimilação (Ácido fenil-acetato)	Transparência	Turvo

APÊNDICE F – Quadro de Identificação Fenotípica (Biomerieux) de *Streptococcus* e *Enterococcus*.

	TESTES	COMPONENTES ATIVOS	REAÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
API STREP	VP	Piruvato de Sódio	Produção de acetona	Incolor	Rosa/vermelho
	HIP	Ácido hipúrico	Hidrólise (Ácido hipúrico)	Incolor/azul pálido	Azul escuro/violeta
	ESC	Esculina citrato de ferro	Hidrólise β -glucosidase (Esculina)	Incolor/amarelo pálido	Negro
	PYRA	Ácido piroglutâmico- β -naftilamina	Pyrrolidonil arilamidase	Incolor/laranja muito pálido	Laranja
	α GAL	6-bromo-2-naftil- α D-galactopiranosido	α -galactosidase	Incolor	Violeta
	β GUR	Ácido naftol-ASBI-glucuronato	β -glucuronidase	Incolor	Azul
	β GAL	2-naftil- β D-galactopiranosido	β -galactosidase	Incolor/violeta muito pálido	Violeta
	PAL	2-naftil fosfato	Fosfato Alcalina	Incolor/violeta muito pálido	Violeta
	LAP	L-leucina- β naftilamina	Leucina aminopeptidase	Incolor	Laranja
	ADH	L-arginina	Arginina Dihidrolase	Amarelo	Vermelho
	RIB	D-ribose	Acidificação (Ribose)	Laranja/vermelho	Amarelo
	ARA	L-arabinose	Acidificação (Arabinose)	Laranja/vermelho	Amarelo
	MAN	D-manitol	Acidificação (Manitol)	Laranja/vermelho	Amarelo
	SOR	D-sorbitol	Acidificação (Sorbitol)	Laranja/vermelho	Amarelo
	LAC	D-lactose	Acidificação (Lactose)	Laranja/vermelho	Amarelo
	TER	D-trehalose	Acidificação (Trehalose)	Laranja/vermelho	Amarelo
	INU	Inulina	Acidificação (Inulina)	Laranja/vermelho	Amarelo
	RAF	D-rafinose	Acidificação (Rafinose)	Laranja/vermelho	Amarelo
	AMD	Amido	Acidificação (Amido)	Laranja/vermelho	Amarelo
	GLYG	Glicogênio	Acidificação (Glicogênio)	Laranja/vermelho	Amarelo