



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

LARA STEFÂNIA NETTO DE OLIVERIA LEÃO VASCONCELOS

**Caracterização de *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de
trabalhadores de um hospital oncológico: colonização e interfaces
com as infecções**

**Goiânia
2013**

**Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações
Eletrônicas (TDE) na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD)**

Observações:

- 1 – O formulário está disponível no site www.medicina.ufg.br – Pós-Graduação – formulários**
 - 2- Anexar no verso da capa.**
-

LARA STEFÂNIA NETTO DE OLIVERIA LEÃO VASCONCELOS

Caracterização de *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico: colonização e interfaces com as infecções

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora:

Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Cristina Pimenta

Co-orientador:

Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira

Área de Concentração: Dinâmica do Processo Saúde-Doença

Linha de Pesquisa: Aspectos Clínicos e Laboratoriais das Doenças Transmissíveis e Não Transmissíveis

Apoio: Este trabalho contou com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)

FAPEG
FUNDAÇÃO DE AMPARO
À PESQUISA
DO ESTADO DE GOIÁS



**Goiânia
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
UFG
(anexar no verso da folha II)

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno(a): Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão Vasconcelos

Orientador(a): Fabiana Cristina Pimenta

Co-Orientador(a): José Daniel Gonçalves Vieira

Membros:

1. Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira – Universidade Federal de Goiás

2. Prof^a. Dr^a. Marinésia Aparecida Prado-Palos – Universidade Federal de Goiás

3. Prof. Dr. Evandro Leão Ribeiro – Universidade Federal de Goiás

4. Prof^a. Dr^a. Milca Severino Pereria – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

5. Prof^a. Dr^a. Adenícia C. Silva e Souza – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

OU

1º Suplente: Prof^a. Dr^a. Maria Cláudia D. P. B. André– Universidade Federal de Goiás

2º Suplente: Prof^a. Dr^a. Lúcia Kioko Hasimoto e Souza – Universidade Federal de Goiás

Data: 28/03/2013

*Dedico este trabalho a Jesus Cristo e à minha família,
através dos quais conheci o amor incondicional, a
tolerância, a humildade e o perdão ...*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao Misericordioso Jesus, o meu Bom Pastor, o qual me ofertou a oportunidade e os meios para mais esta vitória.

Ao meu amado esposo, Paulo Marcelo de Faria Vasconcelos, meu companheiro de vida e de alma, e maior incentivador.

À minha preciosa e sagrada família, pais (Neusa Nunes de O. N. Leão e Marcondes N. F. Leão), irmão (André Luiz Netto de O. Leão), sogros (Carmem Lúcia de F. Vasconcelos e Marcelo Sardinha Vasconcelos), cunhadas (Karla de F. Vasconcelos e Moabe Ferreira), cunhados (Fábio de F. Vasconcelos e Fernando de F. Vasconcelos), sobrinhos (Luiz Gabriel Pontes e Bernardo F. Vasconcelos) e à querida Teteti (Gerciete G. Gomes) por caminharem comigo em busca deste projeto.

À minha eterna amiga e mestre, Prof^ª. Fabiana Cristina Pimenta. Obrigada por tudo! Você formou a profissional que hoje sou. Tenho eterna gratidão por tudo que fez por mim. Imenso respeito e admiração. Você é minha inspiradora!

Ao meu querido co-orientador, Prof. José Daniel G. Vieira. Obrigada pela amizade, pelos ensinamentos e pelo apoio sempre dedicados ao meu aprendizado. Você é uma referência para mim!

À Prof^ª. Marinésia Aparecida Prado-Palos, idealizadora deste estudo. Obrigada por ter viabilizado este projeto, por ser exemplo de humildade e conhecimento. Agradeço a parceria, o respeito e a confiança depositados.

À amiga de todas as horas Ana Beatriz M. Lima. Obrigada pela amizade sincera, pelos desafios compartilhados e pelo auxílio sempre disponibilizado!

Agradeço aos demais amigos e parceiros do projeto HAJ: Dayane de M. Costa, Larissa O. R. Vilefort, Ana Cláudia A. de Oliveira, Josiene M. dos Santos, Nádia F. Gonçalves. Obrigada pela oportunidade de trabalhar com vocês. Formamos uma grande equipe!

Aos meus colegas de trabalho Lêda Maria A. Valadão, Vera Lúcia da Penha, Aristídes Barbosa pelo apoio técnico na realização deste estudo, pela amizade e pelo aprendizado.

Aos colegas professores Maria Cláudia B. P. André, André Kipnis, Carla Afonso, Geraldo Sadoyama, Juliana Lamaro e Lizandra Borges pela compreensão, ensinamentos e incentivos sempre ofertados.

À Diretora da minha unidade Prof^a. Regina Bringel, à Vice-diretora Prof^a Flávia de Oliveira e a Chefe de Departamento Prof^a Adelair Helena por viabilizarem a realização deste doutorado.

Aos professores membros das bancas examinadoras. Eternos mestres que compartilharam comigo seus conhecimentos, os quais foram essenciais para o aperfeiçoamento desta tese.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás pelo apoio financeiro na realização deste doutorado.

Aos docentes e técnico-administrativos do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás, em especial a secretária Valdecina Quirino, pela dedicação e atenção sempre ofertadas aos alunos do programa.

Agradeço aos inúmeros amigos, familiares e alunos que de alguma forma contribuíram para a realização desta conquista.

LARA STEFÂNIA NETTO DE OLIVERIA LEÃO VASCONCELOS

Caracterização de *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico: colonização e interfaces com as infecções

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora:

Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Cristina Pimenta

Co-orientador:

Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira

Área de Concentração: Dinâmica do Processo Saúde-Doença

Linha de Pesquisa: Aspectos Clínicos e Laboratoriais das Doenças Transmissíveis e Não Transmissíveis

Apoio: Este trabalho contou com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG)

FAPEG
FUNDAÇÃO DE AMPARO
À PESQUISA
DO ESTADO DE GOIÁS



**Goiânia
2013**

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	LARA STEFÂNIA NETTO DE OLIVEIRA LEÃO VASCONCELOS		
E-mail:	larastefania@yahoo.com.br		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input type="checkbox"/> Sim	<input checked="" type="checkbox"/> Não	
Vínculo empregatício do autor	Servidor público/UFG		
Agência de fomento:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás	Sigla:	FAPEG
País:	Brasil	UF:	GO
		CNPJ:	08.156.102/0001-02
Título:	Caracterização de <i>Enterobacteriaceae</i> isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico: colonização e interfaces com as infecções		
Palavras-chave:	Trabalhador, Portador, <i>Enterobacteriaceae</i> , Multirresistente, Beta-lactamases, Perfil		
Título em outra língua:	Characterization of <i>Enterobacteriaceae</i> isolated from the oral cavity of workers from a hospital oncology: colonization and interfaces with the infections		
Palavras-chave em outra língua:	Workers, Carrier, <i>Enterobacteriaceae</i> , Multidrug-resistant; Beta-lactamases, Profile		
Área de concentração:	Dinâmica do Processo Saúde-Doença		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)			
Programa de Pós-Graduação:	Ciências da Saúde		
Orientador (a):	Prof ^a . Dr ^a . Fabiana Cristina Pimenta		
E-mail:	gzy7@cdc.gov		
Co-orientador (a):	Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira		
E-mail:	jdgvieira62@yahoo.com.br		

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

- Capítulos. Especifique: _____
- Outras restrições: _____

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

_____ Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do (a) autor (a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

V331c Vasconcelos, Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão.
Caracterização de *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico [manuscrito]: colonização e interfaces com as infecções / Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão Vasconcelos. - 2013.
165 f. : figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Fabiana Cristina Pimenta;
Coorientador: Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2013.

Bibliografia.

Inclui lista de tabelas, figuras, anexos, símbolos, siglas e abreviaturas.

Anexos e apêndice.

1. Trabalhador – Cavidade bucal – Enterobactérias. 2.
Enterobactérias – Multirresistentes. I. Título.

CDU: 616-008.97

SUMÁRIO

	Tabela, Figuras e Anexos	
	Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
	Resumo	
	Abstract	
	Biografia	
1	Introdução	20
2	Revisão da Literatura	23
2.1	O contexto das infecções associadas à assistência à saúde	23
2.2	Os Trabalhadores das Instituições de Saúde e as Interfaces com as infecções relacionadas à assistência à saúde	29
2.3	Interações da Microbiota Bucal com o Homem	36
2.4	Família <i>Enterobacteriaceae</i>	40
2.4.1	Relevância das <i>Enterobacteriaceae</i> para as infecções relacionadas à assistência à saúde	47
2.5	Resistência Bacteriana no Contexto das infecções relacionadas à assistência à saúde	50
2.5.1	<i>Enterobacteriaceae</i> e a Produção de β -lactamases	53
2.5.1.1	β -lactamase Ampc Cromossômica Induzível	55
2.5.1.2	β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL)	58
2.5.1.3	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC)	60
3	Objetivos	63
3.1	Objetivo Geral	63
3.2	Objetivos Específicos	63
4	Métodos	64
4.1	Delineamento da Pesquisa	64
4.1.1	Tipo e Local do Estudo	64
4.1.2	Aspectos Éticos-Legais	65
4.1.3	População de Estudo	65
4.2	Procedimentos de Coleta	66
4.2.1	Coleta dos Dados	67

4.2.2	Coleta das Amostras	67
4.3	Procedimentos de Transporte das Amostras	68
4.4	Procedimentos Microbiológicos	68
4.4.1	Isolamento de <i>Enterobacteriaceae</i>	69
4.4.2	Identificação Preliminar de <i>Enterobacteriaceae</i>	69
4.4.3	Identificação Diferencial de <i>Enterobacteriaceae</i>	70
4.4.3.1	Testes de Triagem	71
4.4.3.2	Testes de Classificação	72
4.4.4	Isolamento e Identificação de <i>Staphylococcus</i> e <i>Pseudomonas</i>	76
4.4.5	Detecção do Perfil de Suscetibilidade Antimicrobiana	76
4.4.5.1	Execução e Interpretação do Teste	77
4.4.6	Detecção Fenotípica da Produção de β -lactamases	79
4.4.6.1	Teste de Produção de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível	79
4.4.6.2	Teste de Produção de β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL)	81
4.4.6.3	Teste de Produção de <i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC)	83
4.4.7	Armazenamento	85
4.5	Processamento e Análise dos Resultados	86
5	Resultados/Publicações	87
5.1	Artigo 1	87
5.2	Artigo 2	108
6	Conclusão	126
7	Considerações Finais	129
	Referências	133
	Anexos	146
	Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética	147
	Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	148
	Anexo 3 - Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	151
	Anexo 4 - Revista Ciência & Saúde Coletiva	153
	Apêndices	160
	Apêndice 1 – Formulário.....	161

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

Figuras

- Figura 1** Representação esquemática do teste de disco-aproximação para detecção fenotípica de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível 79
- Figura 2** Teste de disco aproximação positivo para a produção de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível 79
- Figura 3** Representação esquemática do teste de disco aproximação para detecção fenotípica de ESBL..... 81
- Figura 4** Representação esquemática do teste de Hodge Modificado para detecção fenotípica de KPC..... 83

Artigo 1

- Tabela 1** Distribuição das espécies de *Enterobacteriaceae* (n=64) isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico. Goiânia, Goiás, 2009-2010..... 92
- Tabela 2** Perfil de Suscetibilidade Antimicrobiana de *Enterobacteriaceae* (n=64) isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico. Goiânia, Goiás, 2009-2010..... 93
- Tabela 3** Enzimas β -lactamases produzidas por *Enterobacteriaceae* (n=64) isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico. Goiânia, Goiás, 2009-2010..... 94

Artigo 2

- Tabela 1** Bactérias patogênicas isoladas da saliva de trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* (n=55). Goiânia, Goiás, 2009-2010 112
- Tabela 2** Caracterização dos trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* (n=55), segundo variáveis sócio-demográficas e profissionais. Goiânia, Goiás, 2009-2010 113

Tabela 3	Caracterização dos trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por <i>Enterobacteriaceae</i> (n=55), segundo o seu estado de doença/infecção. Goiânia, Goiás, 2009-2010	114
Tabela 4	Caracterização dos trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por <i>Enterobacteriaceae</i> (n=55), segundo variáveis comportamentais. Goiânia, Goiás, 2009-2010	115
Anexos		
Anexo 1	Parecer do Comitê de Ética	139
Anexo 2	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	140
Anexo 3	Normas da Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	143
Anexo 4	Normas da Revista Ciência & Saúde Coletiva	145

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

A/A	Ácido/Ácido
ACCG	Associação de Combate ao Câncer em Goiás
AMC	Amoxicilina-Ácido Clavulânico
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATM	Aztreonam
BGN	Bastonetes gram-negativos
BMR	Bactérias Multirresistentes
CAZ	Ceftazidima
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEPACCG	Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás
CESP	<i>Citrobacter spp., Enterobacter spp., Serratia spp., Providencia spp.</i>
CFO	Cefoxitina
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CME	Centro de Material e Esterilização
CO₂	Dióxido de Carbono
CRO	Ceftriaxona
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EPI	Equipamentos de Proteção Individual
ESBL	β-lactamase de Espectro Ampliado
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEN	Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás
H	Antígeno Flagelar
h	Horas
H₂O	Sulfeto de Hidrogênio
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>

IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
IrAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
K	Antígeno Capsular
K/A	Alcalino/Ácido
K/K	Alcalino/Alcalino
KIA	Ágar Kligler Ferro
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
LPS	Lipopolissacarídeo
MIO	Meio Motilidade Indol Ornitina
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MR VP	Caldo Glicose Tamponada
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina
NDM	<i>New Delhi</i> Metallo- β -lactamase
O	Antígeno O
°C	Grau Celsius
PE	Postos de Enfermagem
pH	Potencial de Hidrogênio
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SCC	Setor de Centro Cirurgico
SCIH	Setor de Controle de Infecção Hospitalar
SCOPE	<i>Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance</i>
SCT	Setor de Curativos
SED	Setor de Endoscopia
SHL	Setor de Higienização e Limpeza
SMART	<i>The Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends</i>
SND	Setor de Nutrição e Dietética
SPA	Setor de Pronto Atendimento
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
SQT	Setor de Quimioterapia Adulto e Infantil

SRF	Setor de Reabilitação e Fisioterapia
SRR	Setor de Reprocessamento de Roupas
SRT	Setor de Radioterapia
STI	Setor de Terapia Intensiva
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMO	Transplante de Medula Óssea
TSB	Caldo <i>Tryptic Soy</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFG	Universidade Federal de Goiás
USA	<i>United States of America</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> intermediários à meticilina
VRE	<i>Enterococcus</i> resistentes à vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à vancomicina
β	Beta
ρ	Rô
μg	Microgramas
μL	Microlitro

RESUMO

O ambiente da assistência à saúde apresenta inúmeros riscos que o torna um local insalubre, propício à colonização e ao desenvolvimento de infecções. Inseridos neste cenário estão os trabalhadores dos serviços de saúde, os quais são vulneráveis à condição de portador. A cavidade bucal representa assim um importante sítio de colonização. Este estudo buscou caracterizar o fenótipo de *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico referência no Centro-Oeste brasileiro. Também fizeram parte dos objetivos desta pesquisa detectar co-colonização por *Staphylococcus* e *Pseudomonas*, bem como descrever o perfil sócio-demográfico, profissional, doença/infecção e comportamental dos indivíduos colonizados por *Enterobacteriaceae*. Estudo epidemiológico transversal do tipo descritivo realizado de maio/2009 a novembro/2010. Participaram 294 trabalhadores, sendo 149 membros da equipe de saúde e 145 da equipe de apoio. Os procedimentos microbiológicos foram realizados segundo técnicas padronizadas e a coleta de dados realizada por meio da aplicação de um formulário. Foi coletada uma amostra de saliva de cada sujeito. Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva. Dentre os participantes, 55 (18,7%) estavam colonizados por *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal. Foram isoladas 64 bactérias, incluindo espécies potencialmente patogênicas. A espécie mais prevalente foi *Enterobacter gergoviae* (17,2%). As maiores taxas de resistências foram observadas para os β -lactâmicos e 48,4% dos isolados foram considerados multirresistentes. Para as enterobactérias pesquisadas, a produção de β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL) e *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) foi negativa. Porém, dentre os 43 isolados do grupo CESP (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia*), 51,2% foram considerados produtores de β -lactamase AmpC por indução e 48,8% mutantes hiperprodutores. *Staphylococcus* e *Pseudomonas* estavam presentes na saliva de 56,4% dos sujeitos colonizados por *Enterobacteriaceae*. O maior número de portadores foi constituído por homens acima de 40 anos. Entre os técnicos de enfermagem, 52,7% estavam colonizados, seguidos dos auxiliares de limpeza (23,6%). O setor de higienização e limpeza (23,6%) e os postos de enfermagem (18,2%) contemplaram o maior número de trabalhadores colonizados. Alguns trabalhadores (27,3%) possuíam segundo emprego em outro serviço de saúde, enquanto que 41,8% permaneciam na instituição 40 horas ou mais na semana. Quadros frequentes de infecção foram relatados entre os portadores, como amigdalites, sinusites e faringites, sendo o primeiro o mais frequente (52,7%). Alguns portadores de *Enterobacteriaceae* (18,2%) relataram o uso de EPI como desnecessário à sua atividade, 7,3% não faziam o uso de máscara como medida de precaução, 23,6% realizavam a troca de máscara esporadicamente e 1,8% nunca trocava. O uso de antissépticos bucais foi observado em 29,1% dos trabalhadores, o uso recente de antimicrobianos em 16,4% e a prática da automedicação em 27,3%. A desinformação sobre micro-organismos multirresistentes foi comum entre os colonizados. A prevalência de portadores de *Enterobacteriaceae* foi elevada e o fenótipo de resistência dos isolados preocupante, especialmente pela multirresistência e produção de β -lactamases AmpC. As variáveis avaliadas revelaram realidades relevantes para o contexto da assistência à saúde e para a saúde do trabalhador. Os resultados desta pesquisa contribuíram com subsídios importantes para os programas de prevenção e controle das infecções nosocomiais, pois o conhecimento do estado portador reduz os riscos de transmissão de micro-organismos.

Palavras-chaves: Trabalhador, Portador, *Enterobacteriaceae*, Multirresistente, Beta-lactamases, Perfil

ABSTRACT

The health care environment presents numerous risks making it an harmful place, propitious to colonization and development of infections. Inserted in this scenario are the healthcare workers which are vulnerable to the carrier condition. and the oral cavity represents an important site of colonization. This study aimed to characterize the phenotype of *Enterobacteriaceae* isolated from the oral cavity of healthcare workers from an oncologic reference hospital in the central area of Brazil. We also aimed to detect co-colonization by *Staphylococcus* and *Pseudomonas*, as well as describe the profile socio-demographic, professional, disease/infection and behavioral of individuals colonized by *Enterobacteriaceae*. It was a descriptive cross-sectional epidemiological study conducted from May/2009 to November/2010 and saliva was collected from each subjected. A total of 294 individuals participated in the research, being 149 healthcare members and 145 from the support team. The microbiological procedures were performed according to recommended techniques and data collection obtained by a questionnaire and analyzed through descriptive statistics. Among the participants, 55 (18.7%) were colonized by *Enterobacteriaceae* in the oral cavity. Were isolated 64 bacteria, including species potentially pathogenic. The most prevalent specie was *Enterobacter gergoviae* (17.2%). The highest rates of resistance were observed to β -lactams and 48.4% of isolates were considered multiresistant. The Extended Spectrum β -lactamases (ESBL) production was negative for the *Enterobacteriaceae* and none *Klebsiella pneumoniae* produced Carbapenemase (KPC). However, among the 43 CESP isolates group (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia*), 51.2% produced AmpC β -lactamase by induction and 48.8% were hiper producers. *Staphylococcus* and *Pseudomonas* were detected in the saliva of 56.4% individuals. The majority of the healthcare workers colonized by *Enterobacteriaceae* was men over 40 years. The nursing technician was the professional category most colonized (52.7%), followed by the cleaning staff (23.6%). The cleaning and hygiene sector (23.6%) and nursing stations (18.2%) represented the largest number of workers colonized. Some professionals (27.3%) had second job in another health service, while 41.8% remained in the institution around 40 hours or more a week. Some infection was reported among carriers, as tonsillitis, sinusitis and pharyngitis, being the first the most frequent (52.7%). *Enterobacteriaceae* carriage (18.2%) reported the use of personal protective equipment (PPE) as unnecessary to their activity, 7.3% did not use the mask as precautionary measure, 23.6% realized sporadically the exchange of mask and 1.8 % never changed. The use of oral antiseptics was observed in 29.1% of the workers, the recent use of antimicrobials in 16.4% and self-medication in 27.3%. Among the colonized persons was observed lack of knowledge about multiresistant microorganisms. The prevalence *Enterobacteriaceae* carriage is considered high and the resistance is a problem especially due to multidrug resistance and production of β -lactamase AmpC observed. The results of this research contribute with important subsidies to the programs for nosocomial infections prevention and control of, since knowledge of carrier status reduces the risk of transmission of microorganisms.

Key words: Workers, Carrier, *Enterobacteriaceae*, Multidrug-resistant, Beta-lactamases, Profile

BIOGRAFIA

Minha trajetória profissional teve início em 1998 quando ingressei no curso de graduação em Biomedicina na Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), concluindo em agosto de 2002. Durante minha graduação, como consequência do meu interesse pela Microbiologia, realizei estágios em laboratórios de pesquisa do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG). Entre eles o Laboratório de Bacteriologia Médica, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Fabiana Cristina Pimenta, e o Laboratório de Microbiologia de Alimentos coordenado pelo Prof. Dr. Álvaro Bisol. Nesta época, participei de pesquisas e grupos de estudos, os quais contribuíram significativamente para minha formação científica.

Com o objetivo de aprimorar meus conhecimentos em pesquisa e ensino na área da Bacteriologia, ingressei no Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do IPTSP-UFG (2004-2006). Obtive o título de Mestre desenvolvendo pesquisa na área de infecção hospitalar orientada pela Prof^a. Dr^a. Fabiana Cristina Pimenta e intitulada “Fenotipagem de bactérias isoladas em hemoculturas de pacientes admitidos na unidade clínica de terapia intensiva de um hospital escola”.

Durante este período também desenvolvi atividades de ensino e pesquisa na condição de Professora Substituta do Departamento de Microbiologia do IPTSP-UFG (2004-2005) e de Professora Convidada do Departamento de Biomedicina da PUC-GO (2005-2006). Em 2006, fui aprovada, em concurso público, para o cargo de Professor Auxiliar, passando a integrar o corpo efetivo de docentes do IPTSP-UFG.

Atualmente, sou Professora Assistente IV do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia deste Instituto, onde ministro a disciplina de Bacteriologia para diversos cursos de graduação, especialização e residência. Também

participo de atividades administrativas, de orientação, de coordenação de disciplinas e de projetos de pesquisa com ênfase em biologia e fisiologia dos micro-organismos, biologia da relação micro-organismo-hospedeiro e infecções relacionadas à saúde.

Na qualidade de docente e pesquisadora, tenho compartilhado com professores, pesquisadores, profissionais e alunos de outras unidades, como o Núcleo de Estudos e Pesquisa em Infecções Associadas aos Cuidados em Saúde (NEPIH) da Faculdade de Enfermagem da UFG (FEN-UFG), experiências nas áreas de prevenção e controle das doenças infecciosas e promoção da saúde de pacientes e de trabalhadores das equipes multidisciplinares. Estas experiências me levaram à necessidade de qualificação e aprimoramento dos conhecimentos científicos referentes à temática.

Desta forma, diante do incentivo da direção da Unidade a qual faço parte, da equipe de colegas professores e da viabilidade de realização dos objetivos propostos, escolhi o Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para a realização do doutorado. O programa foi escolhido por apresentar o compromisso, a qualidade e a competência necessários à realização das atividades integradoras de formação do profissional de saúde e de geração e consolidação do conhecimento.

Para o doutorado foi delineado um projeto inserido nas linhas de pesquisa do programa, da orientadora Prof^a. Dr^a. Fabiana Cristina Pimenta (IPTSP-UFG) e do co-orientador Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira. O projeto faz parte de um estudo maior coordenado pela Prof^a. Dr^a. Marinésia Aparecida Prado Palos (FEN-UFG) e intitulado “Micro-organismos isolados na saliva de profissionais de saúde de um hospital oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil”. O projeto foi devidamente aprovado pelo comitê de ética (Protocolo-CEPACCG/040/08) e foi desenvolvido no Laboratório de Bacteriologia Médica do IPTSP-UFG em parceria com a Faculdade de Enfermagem-UFG.

O doutorado irá qualificar meus conhecimentos e minha capacidade investigativa, além de me ofertar amadurecimento profissional. Os resultados e o aprendizado gerados por este projeto serão aplicados tanto em sala de aula, quanto no delineamento de estudos de interesse na área de prevenção e controle das infecções relacionadas à assistência à saúde. Faz parte de minhas perspectivas futuras a consolidação como pesquisadora na linha de pesquisa a qual estou inserida, inserção em um programa de pós-graduação e a realização de um pós-doutorado.

1 INTRODUÇÃO

O ambiente da assistência à saúde apresenta inúmeros riscos que o torna um local propício ao processo de colonização e ao desenvolvimento de infecções por micro-organismos potencialmente patogênicos. Entre os principais riscos têm-se áreas de insalubridade, pacientes e enfermidades diversas, uso inadequado de antimicrobianos, falta de adesão às medidas de biossegurança entre outros (CAVALCANTE; PEREIRA, 2000; VALLE et al., 2008; DANCER, 2009).

Inseridos nesse cenário estão os trabalhadores dos serviços de saúde, os quais estão expostos à condição de portador. Em função de uma combinação de fatores, tais indivíduos tornam-se vulneráveis à colonização, principalmente, por bactérias patogênicas e multirresistentes, como *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* e Bastonetes gram-negativos não-fermentadores (SIEGEL et al., 2007; COLOMBO et al., 2009).

Uma vez colonizados, os trabalhadores das instituições de saúde passam a atuar na cadeia epidemiológica de transmissão das infecções relacionadas à assistência à saúde (IrAS), como reservatórios e fontes naturais de agentes infecciosos. E passam a disseminar micro-organismos para o ambiente e para hospedeiros suscetíveis, aumentando o risco de infecção e a ocorrência de surtos que comprometem a saúde do paciente e da própria equipe hospitalar (ASKARIAN et al., 2009; MOURA et al., 2010; SILVA et al. 2012).

A investigação de trabalhadores dos serviços de saúde como possíveis portadores de micro-organismos patogênicos e multirresistentes tem sido referida como estratégia de prevenção e controle das IrAS (CRUZ, 2008; CARVALHO et al., 2009; PRADO-PALOS et al., 2009). Alguns estudos sobre o tema têm sido realizados no âmbito nacional e internacional, incluindo pesquisadores e estudantes do Instituto de Patologia Tropical e Saúde

Pública (IPTSP/UFG) e da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás (FEN/UFG).

A maioria dos estudos disponível mostra que as IrAS estão associadas, principalmente, à veiculação microbiana por meio das mãos e da cavidade nasal dos profissionais (FLETCHER, 2009; LIMA et al., 2009; WHO, 2009). Entretanto, além destes, a colonização de outros sítios anatômicos também contribui para a disseminação de patógenos. Nesse contexto, a cavidade bucal dos trabalhadores representa um importante sítio de investigação e de transmissão de bactérias multirresistentes (ROCHA; REIS; PIMENTA, 2006; JORGE, 2007; CRUZ, 2008; PRADO-PALOS et al., 2010).

Nos relatos da literatura, o agente de colonização mais pesquisado entre trabalhadores dos serviços de saúde é o *Staphylococcus aureus* (PRADO, 2006; HAMDAN-PARTIDA; SAINZ-ESPUÑES; BUSTOS-MARTÍNEZ, 2010; SILVA et al., 2010). Pesquisas sobre a colonização por bactérias gram-negativas, especialmente *Enterobacteriaceae*, são escassas e a relevância desses portadores no contexto da saúde pública precisa ser conhecida. *Enterobacteriaceae* representa uma família de bactérias gram-negativas que têm se destacado no ambiente de atenção à saúde pela variedade de doenças que podem causar, pelos elevados índices de resistência aos antimicrobianos e pela emergência nas unidades de terapia intensiva (UTIs) (ANVISA, 2007b; WINN et al., 2008; BRASIL, 2010).

Considerando o impacto das IrAS na qualidade da assistência médico-hospitalar, as políticas de saúde têm sido voltadas, principalmente, para o desenvolvimento de programas de prevenção e controle dessas infecções. Sabe-se que o controle de infecção nos serviços de saúde representa um grande desafio para os gestores, mas possível de ser realizado. Para isso, as diversas causas e riscos para a ocorrência das IrAS devem ser consideradas e melhor investigadas (PRADO, 2006; CRUZ, 2008; NUNKOO; PICKLES, 2008; VILEFORT, 2011).

Mediante a deficiência de investigações sobre a temática, especialmente em Goiás, e de conhecimentos acerca da colonização da cavidade bucal de trabalhadores das áreas de saúde e apoio por *Enterobacteriaceae* é que esta pesquisa foi delineada. Foi escolhida uma instituição que presta assistência ao paciente portador de câncer em Goiás, por esta ser um centro de referência para o tratamento oncológico na Região Centro-Oeste e no Brasil, e por atender indivíduos imunocomprometidos.

A detecção de *Enterobacteriaceae* resistentes e multirresistentes na saliva de profissionais que atuam nesta instituição permitirá rastrear e identificar os portadores, bem como traçar o perfil epidemiológico dos indivíduos colonizados. Além disso, a caracterização fenotípica das espécies isoladas permitirá conhecer os micro-organismos colonizantes que circulam nesta população, monitorar a emergência de resistência e de novos patógenos.

Considera-se que os resultados deste estudo podem contribuir com subsídios importantes no contexto da prevenção e controle das IrAs. Estas informações ainda serão úteis ao aperfeiçoamento das práticas do cuidado em saúde na instituição investigada e no estado de Goiás, tendo em vista a qualidade de vida do trabalhador, do usuário do serviço e da comunidade em geral.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O CONTEXTO DAS INFECÇÕES ASSOCIADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

Relatos sobre infecções hospitalares existem desde o século XIX, quando surgiram os primeiros hospitais. A elevada incidência de doenças infecciosas nas comunidades pobres e as precárias condições de higiene e de saneamento da população foram fatores decisivos para o surgimento de enfermidades (OLIVEIRA; FERNANDEZ, 2007; NOAKES et al., 2008; SYDNOR; PERL, 2011).

O obstetra húngaro, Ignaz Semmelweis, se destacou como o pioneiro no controle de infecção, ao identificar a participação das mãos dos trabalhadores de saúde na cadeia de transmissão da *seps*e ou febre puerperal. Este médico propôs um método eficaz de descontaminação das mãos (solução cloreto de cálcio), que logo reduziu as taxas de mortalidade na maternidade onde trabalhava (OLIVEIRA; FERNANDEZ, 2007; NOAKES et al., 2008; SYDNOR; PERL, 2011).

Desde as descobertas de Semmelweis, em meados de 1847, inúmeros avanços científicos no campo da prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças foram alcançados. Estes avanços ampliaram as possibilidades de intervenções e prolongaram o tempo de vida dos pacientes. Porém, por outro lado, levaram ao aumento do número de pessoas mantidas em condições críticas e do risco de complicações, dentre elas, as infecções hospitalares (CURTIS, 2008; DEFEZ et al., 2008; NOAKES et al., 2008; GUIMARÃES et al., 2011; SYDNOR; PERL, 2011; BATISTA; RODRIGUES, 2012).

Atualmente o termo infecção hospitalar ou nosocomial foi adequado para infecções relacionadas à assistência à saúde (IrAS), por melhor refletir os riscos de aquisição destas doenças, bem como os conceitos que norteiam a temática. Resumidamente, as IrAS podem ser definidas como qualquer processo infeccioso adquirido em estabelecimentos destinados à

assistência à saúde, como: hospitais, ambulatórios, postos de saúde, clínicas odontológicas, unidades de diagnóstico e tratamento, *home care*, entre outros. É adquirida após a admissão do paciente e manifesta-se durante a internação ou após a alta, desde que relacionada com a internação ou procedimentos médicos realizados (BRASIL, 1998; HORAN; ANDRUS; DUDECK, 2008; LOPES et al., 2010; SYDNOR; PERL, 2011).

As IrAS representam um grave problema de saúde pública para o Brasil e o mundo, sendo uma das principais causas de morbi-mortalidade entre pacientes de diferentes serviços assistenciais. Outro aspecto relevante é o impacto econômico gerado tanto pelo aumento do tempo de hospitalização, quanto pelo custo com diagnóstico e tratamento dos pacientes (GUIMARÃES et al., 2011; SYDNOR; PERL, 2011; BATISTA; RODRIGUES, 2012).

Dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), por exemplo, estimam que nos Estados Unidos da América (EUA) os custos gerados pelas IrAs sejam de aproximadamente US\$ 25 bilhões por ano (SCOTT, 2009). Valores estes que são arcados pelos prestadores de assistência, pelos financiadores do atendimento e pelos próprios pacientes (GUIMARÃES et al., 2011; SYDNOR; PERL, 2011; BATISTA; RODRIGUES, 2012).

Nos EUA, anualmente, 5,0 a 10,0% dos pacientes admitidos nos hospitais ou cerca de 1,7 milhões de pessoas adquirem infecção nosocomial, com estimativa de 90.000 mortes (SCOTT, 2009). Entre os anos de 2006 e 2007, Edwards et al. (2009) relataram 28.502 casos de IrAS em 621 hospitais norte-americanos investigados.

Estudos conduzidos na Europa reportam taxas de infecção hospitalar entre 4,3 e 9,3%, 135.000 mortes/ano e gastos de € 13 a 24 bilhões (MCLAWS; TAYLOR, 2003). Já em países africanos, um estudo multicêntrico observou índices de IrAS entre 2,5 a 14,8%, sendo que nos serviços de cirurgia este valor chegou a 45,8% (NEJAD, 2011). Estes índices aumentam para 50,0% ou mais quando se trata de unidades de terapia intensiva (VINCENT, 2009).

No Brasil, a magnitude do problema ainda não está completamente conhecida, mas diversos pesquisadores têm evidenciado o impacto dessas infecções no país. Segundo dados do Projeto *Brazilian SCOPE (Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance)* realizado em 16 hospitais brasileiros, a letalidade por IrAS pode variar 9,0 a 58,0%, chegando a 40,0% entre as infecções de corrente sanguínea (MARRA et al., 2011).

Estudo brasileiro conduzido com 1.886 pacientes de uma unidade de terapia intensiva (UTI) de um hospital universitário, observou que a taxa de IrAS foi de 20,3% e a permanência média dos pacientes de 19,3 dias (OLIVEIRA; KOVNER; SILVA, 2010). Outro estudo encontrou que o tempo médio de internação dos pacientes com IrAS foi de 35 dias e os óbitos relacionados à infecção de 15,4% (GUIMARÃES et al., 2011).

As maiores taxas de infecção são observadas em indivíduos com extremo de idade e nos serviços de terapia intensiva, oncologia e cirurgia, os quais concentram pacientes imunocomprometidos, frequentemente submetidos a procedimentos invasivos e ao uso de antimicrobianos (CAREY; SAIMAN; POLIN, 2008; DURANDO et al., 2009). Também contribuem para os casos de IrAS, o tempo de internação e a adesão incipiente dos trabalhadores às medidas de precaução-padrão, como a higienização das mãos. Fato este que favorece a contaminação cruzada durante o cuidado (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; VOVKO et al., 2005; PRADO-PALOS et al., 2009).

Assim, o paciente oncológico recebe especial atenção. Devido à doença de base, à terapêutica imunossupressora instituída e à neutropenia característica, o paciente portador de doença maligna se torna predisposto à infecções. Além disso, o tratamento específico exige que o paciente seja frequentemente manuseado e que este permaneça maior tempo no ambiente hospitalar, aumentando a sua vulnerabilidade à microbiota circulante (PINCZOWSKI, 2000; DURANDO et al., 2009).

Verifica-se, portanto, que as IrAS em pacientes oncológicos trazem uma preocupação ainda maior, pois se apresentam de maneira diferenciada em decorrência do *status* imunológico dos indivíduos. As infecções têm sido apontadas como uma das principais causas de morte em pacientes oncológicos e de indicação de terapia intensiva. O risco de infecção está diretamente relacionado ao número de células sanguíneas polimorfonucleadas (granulocitopenia), aumentando ainda mais quanto maiores forem os índices e o período de neutropenia (PINCZOWSKI, 2000; BELLESSO et al., 2010).

Em estudo epidemiológico, realizado com 70.662 pacientes oncológicos, ocorreram 5.821 episódios de IrAS, taxa global de 8,2%, e taxa de letalidade média de 23,9% (SANTOS et al., 2012). Pesquisa sobre *sepsis* por infecção bacteriana em crianças com câncer demonstrou que a taxa de letalidade nesta população chegou a 16,0% (MENDES; SAPOLNIK; MENDONÇA, 2007).

Os índices de IrAS podem variar entre as instituições, pois estão diretamente relacionados ao tipo de atendimento e a complexidade de cada serviço. Essas são mais frequentes nos hospitais de grande porte e de ensino devido a vários fatores, entre eles: o tipo de clientela atendida, a diversidade de enfermidades tratadas e a quantidade de pessoas circulantes (MOURA et al., 2008; SYDNOR; PERL, 2011).

Os hospitais de ensino, por tratarem-se de instituições de referência, recebem normalmente pacientes graves e usuários do sistema público de saúde, os quais são, em sua maioria, carentes economicamente, apresentando deficiências nutricionais e higiênicas que comprometem a resposta imunológica. Além disso, há um fluxo intenso de pessoas que entram, saem e permanecem na instituição como funcionários, alunos, acompanhantes e visitantes (MOURA et al., 2008; SYDNOR; PERL, 2011).

As IrAs também se diferem em relação à topografia. Geralmente, os sítios mais frequentemente atingidos são trato urinário, ferida cirúrgica, trato respiratório e corrente

sanguínea (ANVISA, 2009; MARKOGIANNAKIS et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2011). Dados de hospitais norte-americanos apontam o trato urinário (36,0%) como o principal sítio de infecção, seguido por ferida cirúrgica (20,0%), corrente sanguínea e trato respiratório (11,0%) (KLEVENS et al., 2007). Santos et al. (2012) descreveram o sítio cirúrgico (26,1%), a corrente sanguínea (24,1%) e o trato respiratório (18,5%) como as topografias mais comuns em pacientes oncológicos.

Uma grande variedade de micro-organismos pode atuar como agentes de IrAS. Os programas de vigilância relatam a emergência de novos patógenos cada vez mais virulentos. Tem-se observado a emergência de bactérias multirresistentes como: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e à vancomicina, *Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes à meticilina, *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina e bactérias gram-negativas, como *Enterobacteriaceae* e não-fermentadores produtores de beta-lactamases (ISTURIZ, 2008; COLOMBO et al., 2009).

Estudo de vigilância relatou o isolamento de 33.848 patógenos provenientes de IrAS. Desses 87,0% foram bactérias e 13,0% fungos. Os micro-organismos mais comumente isolados foram *Staphylococcus* coagulase-negativos, *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, além do fungo *Candida* spp. (HIDRON et al., 2008).

Nas últimas décadas, muitas mudanças ocorreram no perfil das doenças infecciosas hospitalares, especialmente com relação a sua epidemiologia. Agravando esta situação, têm-se a resistência dos micro-organismos aos antimicrobianos, a qual vem aumentando rapidamente em todo o mundo com grande impacto na efetividade da assistência à saúde. O uso indiscriminado de antimicrobianos é um fator de risco importante para o surgimento e disseminação de resistência, uma vez que estes fármacos exercem pressão seletiva

sensibilizando microbiota e selecionando cepas resistentes (COLOMBO et al., 2009; TAVARES, 2009).

As IrAS são resultado de uma interação complexa de múltiplos fatores causais, que interagem diferentemente na cadeia de infecção. Por exemplo, é sabido que essas infecções estão mais relacionadas aos procedimentos médicos e à assistência prestada pelos diferentes trabalhadores, do que ao próprio ambiente físico das instituições de saúde (COLOMBO et al., 2009; LOPES et al., 2010).

Na maioria dos casos, as IrAS resultam do desequilíbrio na relação entre microbiota e mecanismos de defesa do hospedeiro (origem endógena), manifestando como uma complicação natural de pacientes debilitados. Esse desequilíbrio pode ocorrer em decorrência da própria patologia de base do paciente, procedimentos invasivos ou alteração da microbiota, induzida, especialmente, pelo uso de antimicrobianos (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; CAREY; SAIMAN; POLIN, 2008).

Porém, estas infecções também podem ser decorrentes da transmissão de micro-organismos a partir de fontes externas ao paciente (origem exógena). Participam desta cadeia de transmissão patógenos provenientes de fontes ambientais (artigos hospitalares, equipamentos, superfícies, fômites, alimentos, medicamentos e vestuários) e de reservatórios humanos (secreções e fluídos corpóreos de trabalhadores, acompanhantes, visitantes ou de outros pacientes) (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; CAREY; SAIMAN; POLIN, 2008; OLIVEIRA; SILVA; GARBACCIO, 2012).

Apesar de todos os esforços e dos avanços alcançados na área, observa-se ainda que os índices de infecção permanecem elevados e que novos desafios estão surgindo. Grande parte das IrAS é de origem endógena e de ação preventiva difícil, porém o número de infecções evitáveis é significante, especialmente aquelas resultantes da transmissão cruzada de micro-

organismos (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; MOURA et al., 2007; SANTOS et al., 2008).

Muitos estudos ainda precisam ser desenvolvidos para melhor esclarecimento acerca da relação entre os múltiplos fatores causais que envolvem o tema (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; MOURA et al., 2007; SANTOS et al., 2008). O controle de infecção também deve ter como meta a vigilância dos trabalhadores inseridos na assistência e nas áreas de apoio. Porém, a participação desses trabalhadores como potencial reservatório e fonte de micro-organismos, apesar de relevante tem sido pouco investigada (SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2012).

As IrAS constituem risco significativo à saúde dos usuários dos serviços de saúde. A sua prevenção e controle além de necessária, exige medidas de qualificação da assistência, de vigilância sanitária, de monitoramento da resistência, entre outras (MOURA et al., 2007; SANTOS et al., 2008). Pesquisas que possam elucidar a dinâmica da disseminação de patógenos são essenciais para gerar informações acerca do contexto da instituição, como também indicadores da qualidade dos cuidados prestados aos usuários (SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2012).

2.2 OS TRABALHADORES DAS INSTITUIÇÕES DE SAÚDE E AS INTERFACES COM AS INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

As IrAS são doenças transmissíveis que apresentam uma cadeia epidemiológica. Em seu processo de transmissão tem-se a participação de vários elementos, dentre eles a presença de um agente infeccioso, de uma via de transmissão e de hospedeiro suscetível (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; NUNKOO; PICKLES, 2008). Neste sentido, os trabalhadores dos serviços de saúde têm sido apontados como possíveis

disseminadores de micro-organismos patogênicos para o ambiente hospitalar e extra-hospitalar (ASKARIAN et al., 2009; MOURA et al., 2010; SILVA et al., 2012).

Em seu cotidiano, os trabalhadores estão expostos a vários riscos (biológicos, químicos, físicos, ergonômicos e psicossociais) e agravos à saúde como áreas de insalubridade, contato com pessoas e enfermidades diversas, além de bactérias multirresistentes. Tais fatores associados ao tempo de permanência na instituição e ao tipo de atendimento prestado fazem com que esta população fique sujeita à colonização por diferentes micro-organismos (CAVALCANTE; PEREIRA, 2000; VALLE et al., 2008; DANCER, 2009).

Além disso, contribuem para esta condição o emprego de práticas indevidas inerentes à atividade profissional, como: uso incorreto dos equipamentos de proteção individual (EPI); não higienização das mãos; hábitos de higiene inadequados; a não adoção de técnicas, normas e condutas que minimizem o risco de contaminação; a falta de conhecimentos teóricos e práticos sobre a temática (CAVALCANTE; PEREIRA, 2000; VALLE et al., 2008).

Uma vez colonizados, os trabalhadores tornam-se, então, portadores de bactérias patogênicas e passam a atuar diretamente na cadeia de transmissão das IrAs como reservatório e fonte de agentes infecciosos (WINN et al., 2008; SILVA et al., 2010). A transmissão pode ocorrer através de diferentes veículos (secreções nasais ou genitais, saliva, fezes, urina, sangue, escarro, descargas purulentas, descamações epiteliais, líquido, leite, líquidos cavitários, entre outros) e de forma direta, indireta ou aérea (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; LOPES et al., 2010).

A forma direta pode se dar através do toque, mordida, beijo ou projeção direta de gotículas em conjuntivas ou mucosas. A transmissão indireta ocorre através do contato do trabalhador com objetos utilizados pelo paciente (estetoscópio, esfigmomanômetro, termômetro e outros) ou superfícies contaminadas. Já a transmissão aérea ocorre a partir da

eliminação de partículas contaminadas (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; LOPES et al., 2010).

É importante ressaltar que a colonização (presença e multiplicação de micro-organismo em superfícies epiteliais, com dependência metabólica, porém sem expressão clínica ou imunológica) é um processo dinâmico, que se inicia logo após o nascimento e se estende por toda a vida (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009; BROOKS et al., 2012). A colonização é responsável pela constituição da microbiota humana e está na dependência de vários fatores como: padrões alimentares, condições fisiológicas e de saúde, higiene pessoal, atividade profissional, período de hospitalização e utilização prolongada e inadequada de substâncias antimicrobianas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009; MADIGAN et al., 2010).

Os micro-organismos colonizantes estabelecem com seu hospedeiro relações de tipos diferentes, altamente específicas e de maneira transitória ou permanente. Os agentes transitórios se estabelecem temporariamente, são potencialmente patogênicos e facilmente removidos por remoção mecânica ou soluções antissépticas. Enquanto que os agentes permanentes ou residentes são relativamente fixos, não patogênicos em condições normais e de difícil remoção. Esta remoção se dá por condições que levem à morte microbiana ou mudanças nos receptores teciduais de ligação (FERNANDES; FILHO, 2000; ANVISA, 2007).

As mãos dos trabalhadores dos serviços de saúde são apontadas como a principal fonte de transmissão cruzada de micro-organismos entre trabalhadores, pacientes e comunidade. As mãos podem se contaminar durante a assistência à saúde, na realização de algum procedimento ou no manuseio de material e superfícies contaminadas (WHO, 2009; FULLER et al., 2011). A higienização correta das mãos é considerada a ação isolada mais importante do controle de infecção. Devido a sua relevância para a cadeia de transmissão das IrAS, essa

tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, bem como dos programas de segurança no cuidado do paciente (ANVISAa, 2007; WHO, 2009; KILPATRICK; PITTET, 2011) .

Além das mãos, vários outros sítios estão expostos à colonização e também contribuem para a transmissão de micro-organismos patogênicos a indivíduos suscetíveis. Entre eles as vias aéreas superiores, cavidade bucal, pele, trato gastrointestinal e geniturinário (FLETCHER, 2009; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009; BROOKS et al., 2012). Por outro lado, o micro-organismo mais pesquisado como colonizador em trabalhadores de saúde é o *Staphylococcus aureus*, especialmente *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) (CRUZ, 2008; NILSSON; RIPA, 2006; PRADO-PALOS et al., 2009; PRADO-PALOS et al. 2010).

A colonização por estafilococos é um evento frequente e mais comum que a infecção. Entre os principais sítios de colonização desta bactéria estão as vias aéreas superiores (cavidade nasal, nasofaringe, orofaringe). A prevalência de portadores assintomáticos é variável, sendo relatadas porcentagens de 20,0 a 40,0%, podendo chegar a 60,0% em algumas populações. Sua detecção entre trabalhadores que atuam nos serviços de saúde tem sido uma preocupação constante dos últimos anos (ASKARIAN et al., 2009; HAMDAN-PARTIDA; SAINZ-ESPUÑES; BUSTOS-MARTÍNEZ, 2010; SILVA et al., 2010).

Estudo de Nilson e Ripa (2006), realizado com 87 *staffs* dos serviços de ortopedia e controle de infecção de um hospital sueco, encontrou que 54,0% desses estavam colonizados na garganta por *S. aureus* e 36,0% na cavidade nasal. Dentre os *staffs*, 67 indivíduos foram acompanhados por 24 meses e 58,0% (39/67) foram considerados portadores persistentes de *S. aureus* em ambos os sítios, 46,0% somente na garganta e 17,0% somente na cavidade nasal.

Já em pesquisa realizada com 39 trabalhadores da equipe de limpeza de uma instituição, 91,6% estavam colonizados na cavidade nasal por *S. aureus*. A maior taxa de

colonização (100,0%) foi observada para os funcionários que trabalhavam na UTI e no serviço de cirurgia (CALLISAYA; SARMIENTO; CHOQUE, 2007).

Askarian et al. (2009) investigaram a presença de colonização nasal por *S. aureus* entre 600 trabalhadores de saúde dos serviços de cirurgia e emergência de um hospital de ensino e verificaram uma prevalência de 25,7% para *S. aureus* sensível á meticilina e 5,3% para MRSA.

Em investigação conduzida por Silva et al. (2012) com 151 trabalhadores de enfermagem de um hospital público brasileiro, a prevalência geral de colonização por *S. aureus* foi de 25,8%. Dos 39 indivíduos colonizados, 25,6% apresentaram colonização exclusivamente nas mãos, 48,8% exclusivamente na cavidade nasal e 25,6% apresentaram colonização em ambos os sítios anatômicos investigados.

A cavidade bucal também representa um importante sítio de colonização, pois suas características anatômicas e fisiológicas a tornam um local propício à proliferação microbiana. A microbiota bucal é constituída por uma variedade de agentes, incluindo bactérias saprófitas e causadoras de infecção, que são adquiridos e eliminados ao longo da vida. Estes micro-organismos virulentos podem se disseminar para outros sítios, serem aspirados através das secreções orofaríngeas ou transmitidos a outros indivíduos por meio de gotículas de saliva (ROCHA; REIS; PIMENTA, 2006; JORGE, 2007).

Em um estudo com trabalhadores de saúde de um hospital universitário, no qual foram analisadas 804 amostras de saliva, identificou-se que 9,7% dos investigados eram portadores de MRSA na cavidade bucal (PRADO, 2006). Moura et al. (2011), por sua vez, encontraram na saliva de 351 trabalhadores uma taxa de prevalência de 7,1%.

Vale ressaltar ainda, que a condição de portador além de atuar na disseminação de micro-organismos para o meio ambiente também é prejudicial à própria saúde do trabalhador. Diante de um desequilíbrio dos mecanismos de defesa, os micro-organismos endógenos em

equilíbrio podem tornar-se patogênicos e passar a estabelecer uma relação desarmônica (parasitismo). A condição de portador precede o desenvolvimento de doenças invasivas (FERNANDES; FILHO, 2000; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

A dinâmica da colonização de trabalhadores dos serviços de saúde por bactérias gram-negativas, especialmente *Enterobacteriaceae*, não é bem conhecida e pode ser difícil de ser determinada. Soma-se a isso o fato da maior parte das publicações abordarem os trabalhadores ligados diretamente à assistência ao paciente, ou seja, a equipe multidisciplinar de saúde. Os trabalhadores pertencentes às áreas de apoio dos estabelecimentos de saúde, apesar de pouco avaliados nas investigações, também estão expostos aos vários riscos ocupacionais e contribuem igualmente para a transmissão de micro-organismos no ambiente da assistência à saúde (PRADO, 2006; VILEFORT, 2011).

Para que um programa de controle de infecção tenha ações efetivas na cadeia de transmissão das IrAs é preciso a integração de todos os setores e trabalhadores inseridos na estrutura hospitalar (PEREIRA et al., 1999; VEIGA, 2007). No âmbito hospitalar, a equipe de saúde merece atenção especial, pois essa se encontra na base da assistência prestada aos pacientes. É importante entender a situação destes trabalhadores, pois o seu trabalho reflete diretamente na saúde da comunidade e deles próprios. A equipe de apoio, por sua vez, também deve ser inserida nos projetos de investigação da colonização, pois mantém a infraestrutura necessária ao funcionamento hospitalar através da limpeza e desinfecção do ambiente, reprocessamento de roupas e materiais, preparo e distribuição de dietas alimentares, entre outras atividades (PEREIRA et al., 1999; VEIGA, 2007).

Para identificar o trabalhador colonizado várias estratégias têm sido apontadas, como o rastreamento de rotina do estado portador através da realização de culturas bacteriológicas de vigilância. Pesquisadores sugerem que o rastreamento deve ocorrer independente da presença de fatores de risco ou de infecção aparente, como parte do exame admissional, ou mesmo

periodicamente, sem aviso prévio e antes do turno de trabalho (VONBERG et al., 2006; ALVAREZ; LABARCA; SALES, 2010).

No entanto, instituir uma vigilância sistemática de rotina não é viável para muitos serviços de saúde devido ao seu alto custo. Logo, onde os recursos são escassos, a prioridade deve ser dada aos trabalhadores que atuam em áreas de alto risco como UTIs, unidades de diálise, de queimados e enfermarias cirúrgicas (ALVAREZ; LABARCA; SALES, 2010).

As políticas de erradicação do estado portador recomendam que os trabalhadores colonizados, uma vez rastreados, sejam inseridos em um programa global de controle de infecção, que contemple o treinamento em equipe e o uso das medidas de precaução-padrão. A prática da descolonização apesar de abordada ainda não é um consenso. Há muitas controvérsias em relação a sua indicação, vantagens e limitações devido à preocupação com a ocorrência de resistência bacteriana ao antimicrobiano utilizado, à falta de padronização do tempo da terapia, à falta de um consenso ou padrão do que se utilizar (ALBRICH; HARBARTH, 2008; ALVAREZ; LABARCA; SALES, 2010).

Descolonização é definida como a administração tópica de antimicrobianos ou antissépticos em indivíduos colonizados, com ou sem terapia sistêmica, e tem o objetivo de erradicar ou suprimir o estado portador. O esquema terapêutico ideal de descolonização para trabalhadores da saúde ainda não foi estabelecido e o existente discorre sobre *S. aureus* e MRSA, e não sobre bactérias gram-negativas. O uso de mupirocina nasal a 2% em combinação com lavagem de clorexidina em gel por cinco dias é, por exemplo, proposto como estratégia de descolonização da cavidade nasal ou da pele por estafilococos (RODRÍGUEZ-BAÑO et al., 2008; ALVAREZ; LABARCA; SALES, 2010).

O uso combinado da terapia de descolonização e da cultura de vigilância é apontado como uma medida bastante útil na prevenção da transmissão de micro-organismos no ambiente nosocomial. Porém, não há evidências claras sobre a eficácia desta abordagem. Mais

estudos são necessários para identificar as substâncias capazes de erradicar os micro-organismos nos sítios de colonização, bem como para avaliar a eficiência da prática da descolonização como medida de controle de infecção (SIMOR; DANEMAN, 2009; ALVAREZ; LABARCA; SALES, 2010).

2.3 INTERAÇÕES DA MICROBIOTA BUCAL COM O HOMEM

A pele e as membranas mucosas do corpo humano são habitadas por uma numerosa e diversificada população microbiana denominada microbiota. Esses micro-organismos estabelecem com o homem uma relação altamente específica e diretamente ligada ao processo saúde-doença. Em condições normais, essa relação é frequentemente harmônica e benéfica. A microbiota contribui, por exemplo, para o desenvolvimento da fisiologia e das defesas do hospedeiro. Porém, em condições de desequilíbrio pode ser estabelecida uma relação desarmônica, com prejuízos e agravos para o hospedeiro (MADIGAN et al., 2010; BROOKS et al., 2012; URSELL, 2012).

A microbiota coloniza diferentes locais do corpo, em diferentes momentos e é altamente influenciada pelas condições às quais os indivíduos estão expostos. Os hospedeiros oferecem naturalmente ambientes favoráveis à proliferação microbiana. Porém, cada região difere química e fisicamente da outra, o que favorece o crescimento seletivo de micro-organismos (MADIGAN et al., 2010; BROOKS et al., 2012).

Entre as regiões colonizadas do corpo está a cavidade bucal (boca). Esta possui propriedades anatômicas e físico-químicas que a torna um ecossistema altamente complexo, heterogêneo e distinto de todos os outros. É constituída de vários habitats com características peculiares a cada área: lábios, dentes, gengiva, língua, bochecha, palato. Além disso, do ponto de vista ecológico é considerada um sistema aberto, no qual os micro-organismos são

frequentemente introduzidos e removidos (MARSH; MARTIN, 2005; JORGE, 2007; HAFFAJEE et al., 2008; ZAURA et al., 2009).

A disponibilidade de nutrientes, de umidade e de fatores de crescimento, além da temperatura relativamente constante (35-36°C) proporcionam condições adequadas ao crescimento e metabolismo de vários agentes com potencial patogênico. Entre esses: bactérias, fungos e vírus (SACHDEO; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2008; BIK et al., 2010; URSELL, 2012).

A cavidade bucal, assim como as demais estruturas do corpo humano, é estéril ao nascimento. Posteriormente, já nas primeiras horas de vida, inicia-se a colonização a partir de micro-organismos derivados do ambiente, da mãe e de outras pessoas. Calcula-se que a boca de um indivíduo adulto tenha em torno de 700 espécies bacterianas conhecidas e a saliva uma média de 750 milhões de bactérias/mL (AAS et al., 2005; MARSH; MARTIN, 2005; JORGE, 2007; CRIELAARD et al., 2011).

A constituição da microbiota bucal depende de sucessivas transferências de micro-organismos e é influenciada diretamente por fatores endógenos e exógenos. Entre os fatores relacionados ao hospedeiro (endógenos) tem-se: presença ou não de dentes; uso de próteses; doença bucal; descamação epitelial; níveis hormonais; fluxo salivar; quantidade de leucócitos/anticorpos, capacidade-tampão e propriedades antimicrobianas da saliva; entre outros. Já os fatores exógenos incluem: tipo de dieta, higiene bucal, hábitos, exposição a ambientes diversos, uso de antimicrobianos e antissépticos (MARSH; MARTIN, 2005; JORGE, 2007).

É importante ressaltar que não se considera que a saliva possua microbiota própria. Apesar de conter milhões de bactérias, essas são oriundas das estruturas anatômicas que compõem a cavidade. O fluxo salivar flui por todas as superfícies internas da boca e desempenha uma importante função, “efeito limpeza”, o qual constitui na remoção de

resíduos alimentares e de micro-organismos (NAUNTOFTE; TENOVUO; LAGERLÖF, 2005; ACEVEDO, 2010).

A saliva apresenta, portanto, um papel primordial na saúde oral ao refletir a ecologia e as características físico-químicas do ambiente bucal. A sua análise é apontada como método de caracterização da microbiota bucal, de identificação de portadores e de riscos às doenças (AMERONGEN; VEERMAN, 2002; NAUNTOFTE; TENOVUO; LAGERLÖF, 2005; CARVALHO et al., 2009; ACEVEDO, 2010; MOURA et al., 2011). Estudo realizado com indivíduos saudáveis e doentes verificou a concordância de 79,0% no uso da saliva para a identificação de espécies bacterianas que compõem a microbiota subgengival (SHIMADA et al., 2008).

A microbiota bucal é composta, em sua maioria, por agentes bacterianos que também estabelecem relações permanentes ou transitórias (ZAURA et al., 2009; KOLENBRANDER et al., 2010). Ao investigarem a presença de *S. aureus* na saliva de trabalhadores de enfermagem de um hospital escola, Moura et al. (2011) encontraram uma prevalência de 81,2% de carreadores transitórios e 18,8% de persistentes.

A grande diversidade microbiana da cavidade bucal também reflete a presença do biofilme dentário (placa dentária), o qual possibilita condições especiais de sobrevivência e crescimento. Sabe-se, por exemplo, que o biofilme dentário é constituído por um aglomerado dinâmico de micro-organismos, matéria orgânica e inorgânica que influenciam diretamente no desenvolvimento de doenças bucais específicas, como cárie e doenças periodonticas (AAS et al., 2005; ZAURA et al., 2009; KOLENBRANDER et al., 2010).

Os colonizadores primários (pioneiros) da cavidade bucal são, predominantemente, bactérias do gênero *Streptococcus*, em particular as espécies *S. salivarius*, *S. mitis* e *S. oralis*. Com o tempo outras bactérias gram-positivas surgem (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Somatococcus*, *Staphylococcus*), além de gram-

negativas (*Moraxella*, *Neisseria*, *Veillonella*) e anaeróbios estritos (*Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*). Apesar dessa diversidade, muitos microrganismos comumente isolados em outros ecossistemas não são habitualmente encontrados, como as *Enterobacteriaceae* (MARSH; MARTIN, 2005; ZILBERSTEIN et al., 2007; BIK et al., 2010).

Devido às suas características, a cavidade bucal pode atuar como possível reservatório e fonte de enterobactérias. Essa condição faz com que a boca tenha influência direta na transmissão de enterobactérias, bem como no estado de saúde do indivíduo portador. Tal fato é especialmente importante quando se considera o ambiente hospitalar e os trabalhadores nele inseridos, pois esse é o local onde mais ocorrem infecções por *Enterobacteriaceae* (MARSH; MARTIN, 2005; JORGE, 2007; WINN et al., 2008).

Também tem sido relatado um aumento no isolamento de enterobactérias resistentes aos antimicrobianos e produtoras de β -lactamases, em particular *Klebsiella* e *Enterobacter*. Esses são, coincidentemente, os gêneros mais isolados da boca e de amostras subgengivais (TAVARES, 2005; MARSH; MARTIN, 2005; JORGE, 2007; WINN et al., 2008).

No âmbito das IrAS, o portador de *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal é uma condição preocupante, pois pode transmiti-las através da saliva. Esse fluido carrega milhares de agentes microbianos e é expelido na forma de gotículas por meio da fala, tosse, espirro, respiração, manuseio da boca por instrumental, aparelhos ou equipamentos. A eliminação de patógenos através da saliva favorece a disseminação para o ambiente e para outros indivíduos, incluindo pacientes, acompanhantes, visitantes e trabalhadores (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000; BROOKS et al., 2012)

Para o portador, a colonização também é um importante fator de risco ao desenvolvimento de várias doenças infecciosas incluindo: bucais, de vias aéreas e sistêmicas (JORGE, 2007). Muitas destas doenças são causadas por membros da própria microbiota.

Entre as infecções bucais tem-se a formação de abscessos, celulites, periodontites, síndrome da ardência bucal, cárie, entre outras (MARSH; MARTIN, 2005; HUGOSON; NORDERYD, 2008). As doenças de vias aéreas incluem sinusite, pneumonias, doenças pulmonares obstrutivas crônicas (GOMES-FILHO; PASSOS; CRUZ, 2010). Já as sistêmicas incluem osteomielite, endocardite, sepse e até o desenvolvimento secundário de câncer (LEISHMAN; DO; FORD, 2010; MEURMAN, 2010).

Desta forma, investigações como a proposta por este estudo são de grande relevância. Busca-se, com isso, compreender melhor a magnitude do problema, evitar a disseminação de enterobactérias para o ambiente da assistência, bem como reduzir o impacto das infecções por elas causadas e os agravos gerados à saúde do paciente e do próprio trabalhador.

2.4 FAMÍLIA *Enterobacteriaceae*

A família *Enterobacteriaceae* (enterobactérias) é constituída por um grupo heterogêneo de bastonetes gram-negativos (BGN) amplamente distribuídos na natureza. Podem ser encontrados no solo, na água, nas plantas e como membros da microbiota do trato intestinal dos homens e animais. Devido a sua diversidade genética e ao fato de serem microorganismos ubiqüitários, as enterobactérias representam 80,0% ou mais de todos os gram-negativos e, juntamente com os estafilococos e estreptococos, é o grupo de bactérias mais frequentemente isolado de amostras biológicas (ANVISA, 2004; BROOKS et al., 2012).

As enterobactérias apresentam crescimento anaeróbio facultativo, motilidade variável, fermentam glicose, não produzem esporos, não produzem citocromo-oxidase e catalase, mas reduzem nitrato a nitrito. Suas células são curtas, arredondadas e medem de 0,3 a 1 µm de largura por 1 a 6 µm de comprimento. Essas características são essenciais para a sua diferenciação em relação a outros BGN de importância clínica (WINN et al., 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009) .

Possuem exigências nutricionais simples e crescem adequadamente em uma variedade de meios de cultura seletivos e não seletivos. Suas colônias são grandes, lisas, circulares, secas ou mucóides, de cor cinza opaco e hemólise variável. Algumas espécies produzem odores (vinagre, fermento de pão, fétido) e pigmentos característicos (WINN et al., 2008; OPLUSTI et al., 2010).

A taxonomia das enterobactérias é complexa e tem passado por muitas alterações nos últimos anos, com a inclusão de novos grupos e novas designações. De acordo com o *National Library of Medicine's* mais de 50 gêneros e centenas de espécies e subespécies já foram descritos (NCBI, 2012). Porém, apesar da complexidade, somente 25 espécies são consideradas de relevância clínica (ANVISA, 2004; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Os principais gêneros incluem: *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Hafnia*, *Pantoea*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Yersinia*. Esses produzem uma variedade de doenças humanas e, em muitas instituições, são relatadas taxas elevadas de resistência as quinolonas, aminoglicosídeos e beta-lactâmicos, em geral, por produção de beta-lactamases (TAVARES, 2005; ANVISA, 2007b; BROOKS et al., 2012).

A identificação e diferenciação das enterobactérias são realizadas com base nas características macro e microscópicas de suas colônias, no tipo de reação observada nos meios de isolamento primário e no perfil bioquímico estabelecido nos diferentes testes de triagem e classificação. Todas essas características fenotípicas refletem o código genético e a identidade do micro-organismo. A classificação sorológica, por sua vez, é baseada na presença de três grupos de antígenos: antígeno somático (O), antígeno capsular (K) e antígeno flagelar (H) (WINN et al., 2008; OPLUSTIL et al., 2010).

Por se tratar de uma bactéria gram-negativa, sua parede celular é constituída por duas camadas (peptídeoglicano e membrana externa), além de uma área denominada espaço periplasmático e de um sistema de transporte constituído por porinas. A camada de peptídeoglicano é única, fina e constitui 5,0 a 10,0% do peso da parede. A membrana externa mantém a estrutura bacteriana e é uma barreira de permeabilidade contendo fosfolipídios e lipopolissacarídeo (LPS) (MADIGAN et al., 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

O LPS é o principal antígeno da membrana externa, sendo constituído por três porções distintas: polissacarídeo O, polissacarídeo central e lipídio A. Polissacarídeo O ou antígeno O é importante para a identificação epidemiológica das cepas dentro das espécies, enquanto que o polissacarídeo central (cerne) é comum ao grupo e importante na classificação do micro-organismo como membro da família *Enterobacteriaceae*. Lipídio A é responsável pela atividade de endotoxina (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

O Lipídio A é altamente antigênico (superantígeno) e um potente desencadeador de resposta imunológica inata. Este lipídio, quando liberado, se liga a receptores específicos de macrófagos, células B e outras, estimulando a produção e liberação de citocinas de fase aguda, além de ativar via alternativa do complemento. Como consequência da ativação da resposta imune e inflamatória, têm-se febre, leucopenia, hipotensão, trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada, diminuição da circulação periférica e choque. Sintomas usualmente observados nas infecções por bactérias gram-negativas (PODSCHUN; ULLMANN, 1998; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

O espaço periplasmático é um compartimento, no qual são encontradas diferentes enzimas de degradação como proteases, fosfolipases, lipases, collagenases, hialuronidases, proteases e β -lactamases. As proteínas porinas formam poros que permitem a passagem de

metabólitos e antimicrobianos hidrofílicos (MADIGAN et al., 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Em geral, as bactérias patogênicas caracterizam-se por sua capacidade de transmissão e aderência, bem como invasão das células e tecidos, toxigenicidade e capacidade de escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Neste aspecto, as *Enterobacteriaceae* possuem muitos fatores que determinam a sua virulência, ou seja, a sua habilidade em causar doenças (BROOKS et al., 2012).

Alguns desses fatores são comuns a todos os membros da família e outros são específicos de determinadas cepas. Muitas apresentam a capacidade de produzir exotoxinas que danificam de forma considerável os tecidos, como aquelas associadas às doenças diarréicas (enterotoxinas). Todas, porém, produzem endotoxina (lipídio A) (MADIGAN et al., 2010).

As enterobactérias utilizam ainda de vários mecanismos para aderir e colonizar as diferentes superfícies, como: flagelos, fímbrias, pili, cápsula e adesinas altamente especializadas. Essas estruturas também constituem mecanismos de escape das defesas do hospedeiro e auxiliam no processo de formação de biofilmes microbianos, os quais aumentam a capacidade de sobrevivência bacteriana (PODSCHUN; ULLMANN, 1998; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Os flagelos (peritríquios) conferem motilidade às bactérias e são altamente antigênicos (antígeno H). Algumas das respostas imunológicas à infecção são dirigidas contra as proteínas que os constituem (flagelina). O pili participa do processo de transferência de plasmídios através da conjugação bacteriana (pili conjugativo ou sexual) e também desencadeia formação de anticorpos. A cápsula, por sua vez, protege as enterobactérias da fagocitose. Isto ocorre porque os antígenos capsulares hidrofílicos repelem a superfície hidrofóbica das células fagocíticas (PODSCHUN; ULLMANN, 1998; BROOKS et al., 2012).

Algumas espécies produzem bacteriocinas, como a colicina produzida por *E. coli* e a marcescina produzida por *S. marcescens*. Essas são proteínas bactericidas de alto peso molecular ativas contra outras cepas de mesma espécie ou de espécies relacionadas (BROOKS et al., 2012).

Apesar de o trato intestinal ser o habitat natural das *Enterobacteriaceae*, estas podem ser encontradas em outros reservatórios (local onde um agente infeccioso habita, multiplica-se e do qual depende primariamente sua sobrevivência) (FERNANDES; RIBEIRO FILHO; BARROSO, 2000). Pele, trato genital, trato respiratório e cavidade bucal também podem constituir sítios de colonização e fontes primárias de disseminação (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Em estudo realizado com crianças atendidas em creches, a prevalência de portadores nasais de BGN foi de 8,9% em um total de 1.192 crianças. Nesta investigação, as enterobactérias mais frequentemente isoladas foram *Enterobacter aerogenes* (24,5%), *Klebsiella pneumoniae* (16,0%) e *Escherichia coli* (10,4%) (LIMA et al., 2009).

Condições como hospitalização, resposta imunológica comprometida, hábitos de higiene inadequados, redução da salivagem e dos movimentos naturais de mastigação favorecem a colonização e proliferação de enterobactérias na cavidade bucal (AMARAL; CORTÊS; PIRES, 2009). Há ainda a hipótese de que a incidência desses micro-organismos na boca também esteja relacionada à presença de coliformes na água e nos alimentos (SEDGLEY; SAMARANAIKE, 1994).

Além de reservatório local, estudos apontam que o portador de enterobactérias na cavidade bucal é fator predisponente e agravante para doenças invasivas (GOMES-FILHO; PASSOS; CRUZ, 2010). Algumas pesquisas, por exemplo, associam enterobactérias bucais com o desenvolvimento de doenças respiratórias, como a pneumonia (AZARPAZHOOH; LEAKE, 2006; GOMES-FILHO; PASSOS; CRUZ, 2010). Determinados fatores de

virulência estariam envolvidos na modificação das superfícies mucosas do trato respiratório, promovendo a aderência e colonização dos patógenos, e a consequente aspiração dessas bactérias para o pulmão (GOMES-FILHO; PASSOS; CRUZ, 2010).

Enterobacter e *Klebsiella*, quando presentes na cavidade bucal, são capazes de agravar o quadro de doença periodontal. Sabe-se ainda que estas bactérias podem dificultar os tratamentos convencionais e causar super-infecção, particularmente, após terapia antimicrobiana sistêmica (SANTOS et al., 2002). Outras enterobactérias, porém, como *Escherichia*, *Citrobacter*, *Serratia* e *Pantoea* também têm sido isoladas da boca e associadas a quadros de infecção (JORGE, 2007).

Investigação realizada na década de 90 evidenciou que 51,0% dos pacientes odontológicos atendidos em uma instituição de ensino estavam colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae*. A espécie mais comum foi *Enterobacter cloacae* (31,0%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (18,3%) (SANTOS; JORGE, 1998). Em pesquisa desenvolvida com pacientes HIV positivos, das 43 enterobactérias isoladas da saliva 79,1% pertenciam ao gênero *Enterobacter* (ROCHA; REIS; PIMENTA, 2006).

As enterobactérias estão envolvidas em quase todas as infecções adquiridas. Muitas são agentes de infecções do trato urinário, do trato respiratório, do sistema nervoso central, além de infecções da corrente sanguínea. Outras são reconhecidas como importantes enteropatógenos, por causarem preferencialmente infecções gastrointestinais (ANVISA, 2004; BROOKS et al., 2012).

Pacientes imunocomprometidos ou debilitados são altamente suscetíveis às infecções por estes micro-organismos, especialmente após colonização por cepas exógenas ou após procedimentos invasivos nos quais as mucosas são traumatizadas (ANVISA, 2007b; WINN et al., 2008). Para as IrAS, as enterobactérias de maior relevância clínica e epidemiológica são:

Escherichia, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Pantoea*, *Hafnia*, *Providencia* e *Morganella* (MARRA et al., 2006; SUN et al., 2012).

E. coli é o membro mais conhecido e investigado. Apresenta um amplo espectro de patogenicidade e tem sido associada a várias doenças infecciosas. As principais infecções incluem a do trato urinário, de feridas, pneumonias e meningites em recém-nascidos. Algumas cepas podem causar ainda quadros de gastroenterites por diferentes mecanismos (WINN et al., 2008; BROOK et al., 2012).

O gênero *Klebsiella* é bem conhecido como agente oportunista de pneumonia grave. *K. pneumoniae* é a espécie isolada com maior frequência de amostras clínicas e pode ser encontrada na orofaringe de até 6,0% dos indivíduos saudáveis e em até 20,0% dos indivíduos hospitalizados. Esta colonização pode ser fonte de infecção pulmonar, particularmente, em alcólatras, diabéticos e portadores de doença pulmonar crônica (PODSCHUN; ULLMANN, 1998; WINN et al., 2008).

O gênero *Enterobacter* inclui 16 espécies. Estas causam um largo espectro de infecções hospitalares como pneumonias, infecção de feridas e do trato urinário, além de meningites e abscessos cerebrais. *E. cloacae*, *E. sakasaki* e *E. aerogenes* são as mais comuns. *E. gergoviae*, têm sido isolada com frequência do trato respiratório e do sangue (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Já o gênero *Citrobacter* é constituído por 11 espécies. Algumas como *C. freundii* e *C. koseri* podem ser encontradas na garganta e na cavidade nasal. Outras, como *C. amalonaticus*, são encontradas predominante nas fezes. Essas enterobactérias são patógenos reconhecidos, especialmente, em indivíduos comprometidos pela idade ou procedimentos invasivos (BROOK et al., 2012).

Espécies de *Proteus* provocam especialmente infecções de vias urinárias, de feridas e do trato respiratório em pacientes debilitados. A rápida motilidade conferida pela presença de

flagelos peritríquios é uma característica relevante do gênero e contribui para a invasão dos tecidos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

O gênero *Serratia* inclui sete espécies de importância clínica para o homem, sendo *S. marcescens* o membro mais conhecido como oportunista hospitalar. Essa bactéria é pigmentada e está frequentemente associada a uma variedade de infecções humanas, sobretudo meningite infantil, infecção do trato urinário e de feridas, pneumonias, endocardites e sepse. Pacientes com neoplasias e viciados em narcóticos são os indivíduos mais suscetíveis (IVANOVA et al., 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Pantoea é um gênero recentemente descrito (1989) e a espécie característica é *P. agglomerans*. Essa bactéria foi anteriormente denominada de *Enterobacter agglomerans* e pode ser isolada do solo, água, feridas, sangue e urina (WINN et al., 2008).

Hafnia alvei é a única espécie do gênero. Pode ser isolada de feridas, abscessos, urina, escarro, sangue e outros. Todas as cinco espécies de *Providencia* podem ser isoladas das fezes. Há relatos do envolvimento desses micro-organismos em surtos de infecção do trato urinário. *Morganella morganii* é espécie típica do gênero e constitui causa de infecção do trato urinário e de feridas (WINN et al., 2008).

2.4.1 Relevância das *Enterobacteriaceae* para as infecções relacionadas à assistência à saúde

Os membros da família *Enterobacteriaceae* estão entre os principais agentes de infecção associadas à assistência à saúde, particularmente, entre indivíduos imunocomprometidos. A colonização assintomática ocorre antes do estabelecimento da infecção e os micro-organismos podem ter origem na microbiota autóctone ou serem carregados por fontes externas (FERNANDES; FILHO, 2000; AL-ZAROUNI et al., 2008).

Vários estudos consideram as infecções causadas por estes agentes como um problema emergente. Atualmente, as enterobactérias e os BGN não-fementadores representam o principal desafio das UTIs, em função das altas taxas de resistência aos antimicrobianos de última geração disponíveis (MARRA et al., 2006; ANVISA, 2007b; SUN et al., 2012).

O projeto de vigilância *SENTRY*, realizado por um período de três anos em hospitais brasileiros, mostrou que de um total de 3.728 isolados obtidos de pacientes com infecção hospitalar em diferentes sítios (corrente sanguínea, trato urinário, tecidos moles e ferida cirúrgica), o agente microbiano mais comum foi o *S. aureus* (22,8%), seguido pela *E. coli* (13,8%), *P. aeruginosa* (13,3%) e *K. pneumoniae* (8,5%) (SADER et al., 2001).

Carvalho e Filho (2008), ao analisarem a etiologia das infecções do trato urinário em pacientes hospitalizados em uma UTI, verificaram que as enterobactérias foram responsáveis por 48,0% dos episódios. Segundo este estudo, *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. foram os micro-organismos mais prevalentes.

Dados apresentados pelo programa *Brazilian SCOPE* concluíram que os BGN foram responsáveis por 58,5% dos 2.563 episódios de infecção da corrente sanguínea investigados. *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. e *Proteus* spp. foram as enterobactérias mais comuns (MARRA et al., 2011). Estudo sobre colonização identificou que as enterobactérias mais frequentemente isoladas de *swab* anal provenientes de pacientes hospitalizados em uma unidade cardíaca de terapia intensiva foram *K. pneumoniae* (34,1%) e *E. coli* (21,95%) (VASQUES et al., 2011).

As enterobactérias têm predileção por locais úmidos e são altamente resistentes as variações de temperatura. No ambiente da assistência à saúde, essas características favorecem a sua sobrevivência e multiplicação em pias, panos de chão, roupas, medicamentos abertos e vegetais (ANVISA, 2007b). O contato direto com estas superfícies pode contaminar as mãos e

os uniformes dos trabalhadores dos serviços de saúde (FIJAN; SOSTAR-TURK; CENCIC, 2005).

Coelho Neto (2010) encontrou, por exemplo, uma prevalência de 45,5% de enterobactérias em 198 superfícies hospitalares avaliadas (maçaneta, mesa de cabeceira, colchão). As espécies isoladas com maior frequência foram *Serratia* spp. (53,3%), *Citrobacter* spp. (30,0%) e *E. coli* (10,0%). Todas as enterobactérias isoladas foram detectadas nos colchões investigados.

Pacientes e trabalhadores colonizados ou infectados, bem como artigos hospitalares contaminados (estetoscópio, termômetro, torniquetes, nebulizadores, umidificadores, circuito de respirador e outros) também são apontados como reservatórios e fontes destas bactérias. Nestes casos, a transmissão de enterobactérias pode se dar por contato direto, através das mãos dos trabalhadores de saúde ou da projeção de gotículas. E por contato indireto, através dos artigos contaminados (ANVISAa, 2007; ANVISA, 2007b).

Pesquisa sobre microbiota das mãos desenvolvida em uma maternidade pública, com 16 trabalhadores de saúde e 15 mães de recém-nascidos, identificou a presença de enterobactérias em 54,8% dos sujeitos participantes. Foram isoladas *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *Enterobacter* spp., *H. alvei*, *Serratia* spp. e *Arizona* spp. (PRADO-PALOS et al., 2009).

Para enterobactérias, os fatores de risco associados à infecção ou colonização incluem: longa permanência hospitalar, uso de antimicrobianos, internação em UTI, gravidade da doença de base e deficiência imunológica, queimaduras graves ou cirurgias extensas, uso de procedimentos invasivos (MARTINS et al., 2006; ANVISA, 2007b).

2.5 RESISTÊNCIA BACTERIANA NO CONTEXTO DAS INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é um evento dinâmico e está diretamente relacionado à existência de genes que codificam diferentes mecanismos bioquímicos, os quais impedem a ação das drogas. Esses genes podem fazer parte naturalmente do código genético do micro-organismo, como resultado de um mecanismo de autoproteção (resistência natural ou intrínseca). Ou serem adquiridos por mutação ou transferência de material genético (resistência adquirida) (ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007; TAVARES, 2009).

Embora já existente no início da época pré-antibiótica, a resistência bacteriana era um evento pouco frequente. Com o desenvolvimento de novos antimicrobianos, sobretudo na década de 80, e a emergência desses na medicina e na indústria, o fenômeno da resistência tornou-se um problema mundialmente conhecido. Inicialmente, o uso clínico destes fármacos produziu uma redução das taxas de morbi-mortalidade de várias doenças, porém, o uso abusivo no tratamento e profilaxia das infecções favoreceu a seleção e a disseminação de micro-organismos resistentes (COLOMBO et al., 2009; TAVARES, 2009).

A pressão seletiva exercida pelos antimicrobianos promove um desequilíbrio ecológico nas populações bacterianas. Os micro-organismos sensíveis são eliminados e os resistentes sobrevivem e se desenvolvem nos espaços anteriormente ocupados. Este fato, aliado a transferência de genes de resistência entre agentes patogênicos e não patogênicos, tornou o isolamento de bactérias multirresistentes (BMR) uma tendência dos últimos anos (ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007; ISTURIZ, 2008).

Como consequência direta deste processo de seleção, vários antimicrobianos têm se tornado menos ativos, reduzindo as opções terapêuticas e aumentando o impacto clínico das doenças infecciosas na saúde pública. Na maioria das vezes, a infecção por patógenos multirresistentes têm manifestação clínica semelhante à infecção por patógenos sensíveis,

entretanto, existe um aumento da morbidade e mortalidade, com sérias implicações econômicas, sociais e políticas (ISTURIZ, 2008; D'AGATA et al., 2012).

Na atualidade, a resistência antimicrobiana é descrita em praticamente todas as espécies de bactérias. Com frequência, estes micro-organismos utilizam mais de uma estratégia para evitar a ação dos antimicrobianos. E essa ação conjunta de múltiplos mecanismos tem produzido um acentuado aumento dos padrões de resistência (CANOA et al., 2008; TAVARES, 2009).

Diante desse desafio, muitos esforços têm sido realizados no intuito de minimizar o uso indiscriminado de antimicrobianos e, conseqüentemente, o surgimento e disseminação de fenótipos de resistência. Neste sentido, o governo brasileiro por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária criou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 20, de 5 de maio de 2011, a qual estabelece critérios para a dispensação de medicamento à base de substâncias antimicrobianas (BRASIL, 2011).

Além disso, a indústria farmacêutica tem se empenhado no desenvolvimento de novos fármacos como opções terapêuticas para o combate de micro-organismos multirresistentes. Dentre os novos antimicrobianos com ação contra *Enterobacteriaceae* multirresistentes estão a ceftobiprole e ceftarolina (cefalosporinas de 5ª geração), a tigeciclina (gliciliclina), ertapenem e doripenem (carbapenem) (QUEIROZ et al., 2012).

Em geral, denomina-se resistência simples quando o micro-organismo é resistente a uma só droga e multirresistência quando o micro-organismo é simultaneamente resistente a duas ou mais classes de antimicrobianos. Há ainda os pan-resistentes, os quais são definidos como micro-organismos com resistência comprovada, *in vitro*, a todos os antimicrobianos (SIEGEL et al., 2007; TAVARES, 2009; BRASIL, 2010).

As bactérias multirresistentes agentes de colonização ou de IrAS são: *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* resistentes ou intermediários

à vancomicina (VRSA/VISA), *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE) e os BGN produtores de β -lactamases. Entre esses últimos estão as *Enterobacteriaceae* e os não-fermentadores como *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp. (SIEGEL et al., 2007; GALES et al., 2009; BRASIL, 2010; QUEIROZ et al., 2012).

A emergência de BMR é, particularmente, preocupante no ambiente da assistência à saúde, onde o uso de substâncias antimicrobianas é realizado de maneira indiscriminada. Contribuem para este cenário a grande capacidade adaptativa dos micro-organismos, a presença de pacientes suscetíveis e a adesão insuficiente dos trabalhadores às medidas de precaução-padrão (CANOA et al., 2008; D'AGATA et al., 2012).

Nas instituições de saúde, a emergência de BMR pode ocorrer por meios de indivíduos colonizados/infectados como pacientes, trabalhadores do serviço, visitantes e acompanhantes, os quais também constituem os principais reservatórios e fontes. Outra forma de emergência se dá como resultado da pressão seletiva exercida sobre a microbiota local. Já a transmissão de BMR ocorre usualmente por contato direto ou indireto, sendo o contato direto com trabalhadores colonizados/infectados a principal via (ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007; NCIH, 2009).

Muitos fatores predispõem o paciente à colonização/infecção por BMR, entre eles: hospitalização prolongada; internação em setores onde a presença de micro-organismos multirresistentes é frequente, como as UTIs; internação em leito próximo a paciente com BMR; paciente submetido à terapia prolongada com antimicrobianos, sobretudo de largo espectro; entre outros (NCIH, 2009).

Certamente, não é possível evitar o surgimento de resistência aos antimicrobianos, pois este processo faz parte da evolução natural dos micro-organismos. Porém, muito pode ser feito para evitar a transmissão e a disseminação desses agentes no ambiente da assistência à saúde. Entre as estratégias adotadas para controle estão a identificação dos possíveis

portadores/reservatórios de BMR e a adoção de precauções de barreira (NCIH, 2009; BRASIL, 2010; CDC, 2012).

Programas de vigilância da emergência de micro-organismos patogênicos e resistentes aos antimicrobianos também são apontados como ferramenta importante para a prevenção e controle. O monitoramento dos índices de resistência e o conhecimento acerca do perfil microbiológico dos micro-organismos locais são fundamentais para avaliar o cenário de cada instituição, bem como detectar a disseminação de novos patógenos (COLOMBO et al., 2009; BRASIL, 2010; CDC, 2012).

2.5.1 *Enterobacteriaceae* e a produção de β -lactamases

Nos últimos anos, as *Enterobacteriaceae* têm-se apresentado resistentes a uma variedade de antimicrobianos tradicionalmente empregados na prática médica. O aumento da resistência está relacionado principalmente ao uso frequente de antimicrobianos e à facilidade com que esses micro-organismos adquirem resistência por mutação, conjugação, transposição e indução (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; THOMSON, 2010).

Este perfil de resistência tem sido observado, especialmente, no ambiente hospitalar, onde têm sido descritos surtos de infecção por enterobactérias multirresistentes. Um fator agravante nesse cenário tem sido a emergência de cepas produtoras de β -lactamases, as quais constituem o mecanismo mais importante de resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos (MOLAND et al., 2006; VASQUES et al., 2011).

As β -lactamases são enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, impossibilitando a atividade bactericida do fármaco. Os β -lactâmicos interferem na síntese de peptídeoglicano, comprometendo a integridade da parede celular e produzindo lise osmótica da célula. Pertencem a este grupo de fármacos as penicilinas, cefalosporinas, carbapenens e monobactâmicos (ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007; DHILLON; CLAR, 2012).

Além de causar resistência aos β -lactâmicos, a produção de β -lactamases pode interferir na sobrevivência dos micro-organismos sensíveis ao fármaco. Isso acontece quando a bactéria produtora da enzima está presente em um sítio de microbiota mista, como a orofaringe. Devido à inativação da droga, os micro-organismos sensíveis a ela também permanecem viáveis (TAVARES, 2009; THOMSON, 2010).

Já foram descritos mais de 300 tipos de β -lactamases e novas enzimas continuam sendo reconhecidas, como a NDM (*New Delhi* metallo- β -lactamase) (CASTANHEIRA et al., 2011). Ao longo dos anos, vários esquemas de classificação foram propostos o que contribuiu para a falta de sistematização no estudo da enzima (TAVARES, 2009).

As β -lactamases foram primeiramente classificadas por um esquema proposto por Jack e Richmond (1970) e expandido por Richmond e Sykes (1973). Posteriormente, Ambler (1980) propôs uma classificação baseada nas características moleculares das β -lactamases (sequência de aminoácidos e local ativo da enzima), sendo designadas quatro classes: A, B, C e D. Bush (1989) propôs um esquema com base nas características funcionais de quatro grupos (1, 2, 3 e 4).

Uma nova reorganização foi proposta por Bush, Jacoby e Medeiros (1995). Essa agrupou as enzimas em subgrupos para melhor caracterizar a sua diversidade de substrato e a sua capacidade de inibição pelo ácido clavulânico ou pelo EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético). Esse esquema é o mais aceito e utilizado atualmente (MENDES et al., 2005).

As β -lactamases são codificadas por genes situados em cromossomos ou em sítios extra-cromossômicos, como plasmídios e transposons. Podem ser produzidas de modo constitutivo (independe de um agente indutor) ou induzido (depende de um agente indutor). A resistência aos β -lactâmicos irá depender da quantidade de enzima produzida, da habilidade em hidrolisar o antimicrobiano em questão e da velocidade com que o fármaco penetra na membrana externa (MENDES et al., 2005; ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Nas *Enterobacteriaceae*, assim como em todas as bactérias gram-negativas, estas enzimas se localizam no espaço periplasmático, o que favorece sua concentração e potencializa a sua função catalítica. Além disso, os genes que as codificam estão sujeitos a mutações que ampliam a atividade enzimática e são facilmente transferidos a outros micro-organismos, contribuindo assim para a disseminação da resistência (MENDES et al., 2005; THOMSON, 2010)

Entre as *Enterobacteriaceae*, as β -lactamases de maior relevância clínica e epidemiológica são: β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível, β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL) e *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC). Essas enzimas são frequentemente pesquisadas tanto por sua frequência quanto por seu espectro de ação e impacto sobre as infecções (MOLAND et al., 2006; CDC, 2012; CHEN; ANDERSON; PATERSON, 2012).

2.5.1.1 β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível

Enterobacteriaceae dos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia* (grupo CESP) e *Morganella morganii* são produtoras de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível, a qual constitui um mecanismo intrínseco para esses micro-organismos. A enzima AmpC pertence à classe molecular C e ao grupo funcional 1, e é capaz de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos (BUSH; JACOBY; MEDEIROS, 1995; JACOBY, 2009).

Inibidores de β -lactamase (ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam) não apresentam atividade satisfatória sobre a enzima AmpC. Por outro lado, carbapenens, cefalosporinas de 4ª geração (cefpiroma e cefepime), aminoglicosídeos e quinolonas são habitualmente ativos contra enterobactérias produtoras de AmpC (JACOBY; WALSH; WALKER, 2006).

Nas instituições de saúde, sua prevalência é variável podendo ser encontradas taxas de até 22,7% (MOHAMUDHA; HARISH; PARIJA, 2010). Em muitas unidades de cuidados intensivos têm sido relatados surtos por enterobactérias produtoras de AmpC induzível. Estes casos têm se destacado, particularmente, pela dificuldade de tratamento decorrente do perfil de multirresistência dos isolados envolvidos (BAGATTINI et al., 2004).

A enzima AmpC produzida pelo grupo CESP e outras enterobactérias tem origem cromossômica e sua expressão se dá de forma induzível, ou seja, ocorre quando o micro-organismo for exposto a um agente indutor (β -lactâmico). Para as enterobactérias os principais agentes indutores são ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de espectro reduzido e, especialmente, cefoxitina, imipinem e meropenem, os quais constituem potentes indutores (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; JACOBY, 2009).

A resistência induzida é variável com a concentração da droga indutora. Isso significa que alguns antimicrobianos só demonstram atividade de indução em altas concentrações. Outros, como a cefoxitina e o imipinem, são indutores em concentrações subinibitórias (ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007; TAVARES, 2009).

É importante ressaltar que os agentes indutores também sofrem a ação da enzima, gerando a seleção de bactérias resistentes. Com exceção dos carbapenens, que apesar de fortes indutores são estáveis à ação enzimática. A enzima inibe não só a ação do antimicrobiano indutor, mas gera resistência cruzada aos demais β -lactâmicos. O conhecimento da resistência cruzada é importante para evitar a terapêutica associada de drogas do mesmo grupo químico ou de drogas que sofrem o mesmo mecanismo de resistência (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; TAVARES, 2009).

Para o grupo CESP, a produção de AmpC usualmente se dá em baixos níveis e é regulada pelo gene *ampC*, o qual se encontra reprimido pelo gene regulador *ampD*. O aumento da produção enzimática ocorre por meio de dois mecanismos principais, indução ou

mutação (HANSON; SANDERS et al., 1999; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; MENDES et al., 2005).

No fenômeno genético da indução, o antimicrobiano indutor interage com o gene repressor (gene *ampD*), promovendo a desrepressão do gene *ampC* e ativando mecanismos de aumento da síntese enzimática. Quando o agente indutor é removido a produção de AmpC retorna a níveis basais e o micro-organismo recupera a sensibilidade (HANSON; SANDERS et al., 1999; MENDES et al., 2005; OPLUSTIL et al., 2010).

Eventualmente, cepas produtoras de AmpC pelo mecanismos de indução podem expressar sensibilidade à cefoxitina (marcador) no antibiograma por disco-difusão. Isso ocorre quando o micro-organismo ainda não teve contato com algum antimicrobiano indutor. Porém, uma vez instituída a terapia a mesma cepa pode expressar resistência resultando em falha terapêutica. Para esses casos, a detecção de AmpC induzível requer testes especiais de confirmação como o teste fenotípico de disco-aproximação (TAVARES, 2009; OPLUSTIL et al., 2010).

Já no mecanismo de mutação, ocorre uma hiperprodução permanente de β -lactamase AmpC. Esta condição é observada em cepas que perderam o mecanismo genético repressor (gene *ampD*) em decorrência de mutação espontânea (cepas mutantes). Tal fenômeno resulta em produção constante de elevados níveis de β -lactamase AmpC independente da ação de um agente indutor (HANSON; SANDERS et al., 1999; JACOBY, 2009).

Cepas mutantes que hiperproduzem enzima AmpC expressam resistência à cefoxitina no antibiograma e não necessitam de testes especiais de confirmação. Estes micro-organismos têm importante implicação clínica, pois podem ser selecionados a partir de populações de cepas induzíveis durante a terapia com antimicrobianos fracos indutores. A probabilidade de seleção depende do sítio de infecção e da concentração que a droga atinge neste sítio. Desta forma, devido ao risco de seleção de cepas mutantes, o uso de cefalosporinas de 2ª e 3ª

geração deve ser desencorajado para o tratamento dessas enterobactérias (MENDES et al., 2005; ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007).

2.5.1.2 β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL)

ESBL são enzimas de origem plasmidial, não-induzíveis, pertencentes a classe molecular A e ao grupo 2b, capazes de hidrolisar β -lactâmicos de amplo espectro como penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. ESBL são inibidas por inibidores de β -lactamase e não conferem resistência aos carbapenens e às cefamicinas (cefexitina e cefotetan) (BUSH; JACOBY; MEDEIROS, 1995; BRADFORD, 2001; TAVARES, 2009).

A produção de ESBL ocorre predominantemente em *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *E. coli*, mas pode ser observada em outras enterobactérias clinicamente importantes como *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella*. Os tipos de ESBL variam geograficamente e também com relação à eficiência cinética e ao grau de resistência aos diferentes β -lactâmicos. Frequentemente, uma mesma cepa pode carrear múltiplos plasmídios e múltiplas ESBLs. Os tipos mais predominantes são TEM-1, TEM-2, SHV e CTX (BRADFORD, 2001; PATERSON; BONONO, 2005; ROSSI; FURTADO; ANDRADE, 2007).

A emergência de enterobactérias produtoras de ESBL nos serviços de saúde tem grande importância clínica e implicação terapêutica. Isso se deve tanto a extensão de seu espectro que limita as opções terapêuticas, quanto à facilidade de transmissão horizontal desse mecanismo de resistência através dos plasmídios. Outro fator agravante é o fato dos carbapenens serem a classe de primeira escolha para o tratamento das infecções por cepas ESBL positivas (ISTURIZ, 2008; ABREU et al., 2011).

Esta condição contribui para o aumento da prescrição dos carbapenens, uma importante droga de amplo espectro empregada em quadros de infecção grave por

enterobactérias multirresistentes (BRATU et al., 2005). O uso de carbapenens gera pressão seletiva, o que favorece o aparecimento de cepas mais resistentes, como as produtoras de carbapenemases tipo KPC (MEYER; PICOLI, 2011).

Acredita-se que a emergência de cepas ESBL positivas esteja relacionada à pressão seletiva exercida pelo uso de cefalosporinas de amplo espectro. Outras classes de antimicrobianos como aminoglicosídeos e fluorquinolonas podem ser alternativas terapêuticas, dependendo do resultado do antibiograma (ABREU et al., 2011; SCHOEVAERDTS et al., 2011;; VILLEGAS et al., 2011).

Desde 1980, quando foi primeiramente reconhecida, muitos pesquisadores têm investigado a produção de ESBL por agentes de IrAS (RISHI; DHILLON; CLAR, 2012). Pesquisa realizada em hospitais brasileiros, por exemplo, relatou que 9,1% das *E. coli* e 50,3% das *K. pneumoniae* foram produtoras de ESBL (SADER et al., 2001). Marra et al. (2006) analisaram 108 cepas de *K. pneumoniae* isoladas de pacientes com infecção da corrente sanguínea e 51,9% foram produtoras desta enzima. Al-Zarouni et al. (2008) também verificaram que o fenótipo de resistência mais prevalente em enterobactérias isoladas de diferentes espécimes clínicos foi a produção de ESBL.

Dados do estudo multicêntrico SMART (*The Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends*) realizado em 23 hospitais da América Latina e com 1.003 enterobactérias isoladas de infecção intra-abdominal, revelou que 26,8% das *E. coli* e 37,7% das *K. pneumoniae* eram produtoras de ESBL (VILLEGAS et al., 2011).

Schoevaerds et al. (2011) investigaram pacientes colonizados e/ou infectados por *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL e verificaram que a média de hospitalização foi de 23 dias e a taxa de mortalidade de 13,0%. Os autores relataram ainda que entre os pacientes, 65,0% estavam infectados por enterobactérias ESBL positivas e 35,0% eram portadores assintomáticos.

2.5.1.3 *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)

KPC é uma β -lactamase de origem plasmidial produzida por algumas *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Proteus*, *Serratia*, *Salmonella*, *Citrobacter*) e, em especial, por *K. pneumoniae*. Essa enzima apresenta um amplo espectro de ação, sendo capaz de hidrolisar carbapenens, penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos, ou seja, todos os β -lactâmicos (MONTEIRO et al., 2009; CHEN; ANDERSON; PATERSON, 2012).

KPC é uma importante carbapenemase pertencente à classe molecular A e ao grupo 2f. O gene *bla*_{KPC-1} (enzima KPC-1) foi primeiramente identificado em 1996, a partir de um isolado de *K. pneumoniae* do Estado de Carolina do Norte, EUA (YIGIT et al., 2001). Em seguida, novos genes foram sequenciados de modo que já existem 10 variantes genéticas (KPC-2 a KPC-11) (MONTEIRO et al., 2009; CHEN; ANDERSON; PATERSON, 2012). Uma recente correção revelou que KPC-1 e 2 são a mesma enzima. A designação KPC-1, portanto, não é mais utilizada (YIGIT et al., 2001).

Dentre os tipos de enzima, as variantes KPC-2 e KPC-3 são as mais frequentemente associadas aos casos de surto. Os tipos de KPC se diferenciam quanto às propriedades cinéticas e quanto à sua capacidade de hidrolisar os diferentes β -lactâmicos. Apresentam distribuição mundial, porém em algumas regiões a sua produção é considerada endêmica como no nordeste dos EUA, Porto Rico, Grécia, China e Israel (CHEN; ANDERSON; PATERSON, 2012).

Na Colômbia, o primeiro isolado *K.pneumoniae* produtor de KPC foi identificado em 2006 (VILLEGAS et al., 2006). Já no Brasil, a produção de KPC por *K. pneumoniae* foi relatada a partir de 2005 em São Paulo, 2006 em Recife e 2007 no Rio de Janeiro (PAVEZ et al., 2008; MONTEIRO et al., 2009; PEIRANO et al., 2009). A partir de 2008, alguns casos de IrAS por *K.pneumoniae* produtora de KPC começaram a ser relatados em hospitais

brasileiros. No entanto, a produção científica nacional sobre o tema ainda é considerada escassa (BEIRÃO et al., 2011).

Atualmente, a produção de KPC constitui um mecanismo de resistência emergente no contexto da assistência à saúde (BRASIL, 2010). Dados sobre IrAS reportam que, em 2007, 8,0% de todas os isolados de *K.pneumoniae* eram resistentes aos carbapenems (SRINIVASAN; PATEL, 2008).

A pesquisa e vigilância de micro-organismos produtores desta enzima são de grande relevância para limitar sua disseminação e reduzir os índices de morbidade e mortalidade (DIENSTMANN et al., 2010). Relatos de surtos por agentes produtores de KPC são cada vez mais frequentes nas instituições de saúde desde 2001, o que justifica seu monitoramento (MEYER; PICOLI, 2011).

Nos últimos anos, diante do surgimento de novos casos nos centros brasileiros, a ANVISA elaborou uma nota técnica sobre o tema. Essa contempla medidas para identificação, prevenção e controle de IrAS por micro-organismos multirresistentes, especialmente *Enterobacteriaceae* produtoras de KPC (BRASIL, 2010).

Além da resistência aos β -lactâmicos, muitas cepas produtoras da enzima também carregam determinantes genéticos adicionais que conferem resistência a outros antimicrobianos, tais como fluorquinolonas, aminoglicosídeos, cotrimoxazol (ZAGORIANOU et al., 2012). As opções terapêuticas para o tratamento de infecções por enterobactérias KPC positivas são, portanto, limitadas e usualmente exigem o uso de polimixina, uma droga bactericida reconhecida por sua nefrotoxicidade (CHEN; ANDERSON; PATERSON, 2012).

Trabalho brasileiro, realizado com 58 isolados de *K. pneumoniae* oriundos de um hospital de emergência, encontrou duas cepas produtoras de KPC, sendo uma produtora de KPC e ESBL, e a outra de KPC e metallo-beta-lactamase. Ou seja, as cepas isoladas

carreavam mais de um mecanismo de resistência de significativa relevância (MEYER, PICOLI, 2011).

Os fatores de risco para a colonização/infecção por enterobactérias produtoras de KPC incluem: a exposição à antibioticoterapia, especialmente, por carbapenens; hospitalização prolongada; permanência em unidade de terapia intensiva; imunossupressão e transplantes de órgãos (CHIA et al., 2010).

A disseminação de enterobactérias produtoras de KPC representa um grande desafio para os gestores da saúde e para os programas de controle de IrAS, particularmente, pelo fato dos carbapenens serem considerados uma das últimas opções de defesa contra infecções por bactérias multirresistentes (QUEIROZ et al., 2012). Entre as intervenções preconizadas pelo CDC para evitar a disseminação de micro-organismos KPC positivos estão: vigilância e tratamento dos indivíduos colonizados ou infectados; triagem dos pacientes de risco; higienização das mãos; uso racional de antimicrobianos e adoção das medidas de precaução padrão (CDC, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o perfil fenotípico de *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar e identificar enterobactérias da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico;
- Determinar as espécies de enterobactérias mais prevalentes na cavidade bucal;
- Avaliar o perfil de suscetibilidade das enterobactérias a diferentes antimicrobianos;
- Caracterizar as enterobactérias segundo a produção fenotípica de enzimas β -lactamases: β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível, β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL) e *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC);
- Determinar a prevalência de trabalhadores colonizados na cavidade bucal por enterobactérias;
- Detectar co-colonização por *Staphylococcus* e *Pseudomonas* em trabalhadores colonizados na cavidade bucal por enterobactérias;
- Descrever o perfil sócio-demográfico, profissional, doença/infecção e comportamental dos trabalhadores colonizados na cavidade bucal por enterobactérias.

4 MÉTODO(S)

4.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

4.1.1 TIPO E LOCAL DO ESTUDO

Esta pesquisa faz parte de um projeto maior de vigilância acerca da colonização dos profissionais de saúde por *Staphylococcus* spp. e bastonetes gram-negativos, intitulado “Micro-organismos isolados na saliva de profissionais de saúde de um hospital oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil”. Estão envolvidos na investigação pesquisadores e estudantes da Faculdade de Enfermagem (FEN/UFG) e do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP/UFG), onde as amostras foram processadas.

Trata-se de um estudo epidemiológico transversal do tipo descritivo, realizado com trabalhadores de um hospital oncológico de grande porte, integrado ao Sistema Único de Saúde (SUS) de Goiânia, Goiás, Brasil. Optou-se por desenvolver a pesquisa neste local por se tratar de um centro de referência para o tratamento do câncer no Centro-Oeste brasileiro e por atender clientes imunocomprometidos tanto pela doença de base, quanto pela terapêutica instituída. Condições que favorecem a colonização por diferentes micro-organismos.

Este hospital é uma instituição privada, de caráter filantrópico, que também desenvolve ações de prevenção e pesquisa na área oncológica. O hospital tem aproximadamente 200 leitos e atende por mês cerca de 28.000 pacientes de todas as idades, sendo a maioria usuários do SUS (ACCG, 2012).

A instituição realiza, em média, 67.000 procedimentos mensais entre: consultas; internações; cirurgias; sessões de quimioterapia e radioterapia; exames anátomo-patológicos, citológicos e de patologia clínica; entre outros serviços. Os pacientes em tratamento são

atendidos por equipe de saúde multidisciplinar, constituída por trabalhadores de várias categorias e especialidades (ACCG, 2012).

4.1.2 ASPECTOS ÉTICO-LEGAIS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEP/ACCG), em 01/04/2009, Protocolo-CEPACCG/040/08 (Anexo A) e atende as diretrizes e normas preconizadas pela Resolução Nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996).

Todos os trabalhadores foram esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa, bem como quanto aos procedimentos de coleta. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A cada sujeito foi atribuído um código alfa-numérico, com vista a preservar o anonimato do participante em todo o processo de investigação.

4.1.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

O número total de trabalhadores das equipes de saúde e de apoio na época da investigação foi de 456. Porém, a população de estudo foi constituída por 294 trabalhadores, incluindo 149 membros da equipe de saúde e 145 da área de apoio. Os 162 trabalhadores não incluídos compreendem aqueles que se recusaram em participar da pesquisa, aqueles que estavam em período de férias ou afastados por problemas de saúde, bem como aqueles que não atenderam aos critérios de inclusão.

A equipe de saúde foi constituída por médicos, enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem, farmacêuticos, físicos, fisioterapeutas, nutricionistas e psicólogos atuantes nos seguintes setores: Centro Cirúrgico (SCC), Controle de Infecção Hospitalar (SCIH), Curativo (SCT), Endoscopia (SED), Postos de Enfermagem (PE), Pronto Atendimento (SPA),

Quimioterapia Adulto e Infantil (SQT), Radioterapia (SRT), Reabilitação e Fisioterapia (SRF), Terapia Intensiva (STI) e Transplante de Medula Óssea (TMO).

Já a equipe da área de apoio foi constituída por trabalhadores dos setores de: Centro de Material e Esterilização (CME), Higienização e Limpeza (SHL), Nutrição e Dietética (SND) e Reprocessamento de Roupas (SRR). Os sujeitos participantes foram listados e codificados a partir de informações obtidas junto à Instituição.

Os trabalhadores foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: pertencer a uma das categorias profissionais citadas; estar atuando profissionalmente, no período do estudo, em um dos setores selecionados. Foram excluídos os trabalhadores que estavam em uso de antimicrobianos ou que o fizeram nos últimos sete dias antecedentes à coleta dos espécimes.

Estes trabalhadores foram selecionados por serem considerados os responsáveis diretos pelos cuidados assistenciais aos clientes, pela remoção da sujidade e contaminação do ambiente, preparo e distribuição de dietas alimentares, bem como pelo reprocessamento de materiais e de roupas utilizadas no hospital. Devido ao contato prolongado com a clientela das unidades que compõem o estudo e aos riscos a que estão expostos no cotidiano de seu trabalho, estes sujeitos tornam-se potenciais portadores e veiculadores de micro-organismos patogênicos.

4.2 PROCEDIMENTOS DE COLETA

A coleta de dados e dos espécimes (saliva) ocorreu no período de maio de 2009 a novembro de 2010 (18 meses). Neste período foram coletadas e processadas aproximadamente 35 amostras de saliva a cada mês. O estudo foi constituído de três etapas: a primeira constituiu-se do convite aos participantes, esclarecimentos acerca da pesquisa e assinatura do TCLE; na segunda etapa foi realizada a aplicação de um formulário (Apêndice

1) referente às características dos trabalhadores; e na terceira etapa ocorreu a coleta das amostras de saliva.

As três etapas foram realizadas no mesmo dia e seguidamente. A aplicação do formulário precedeu a coleta da saliva, com o objetivo de assegurar a codificação correta do trabalhador e do local de atuação. As coletas ocorreram nos três turnos de trabalho (matutino, vespertino e noturno) e de acordo com a rotina do serviço.

4.2.1 COLETA DOS DADOS

A coleta de dados foi orientada pelos pesquisadores e auxiliares de pesquisa, foi realizada individualmente, na forma de entrevista e através da aplicação de um formulário. Esse contempla questões fechadas e abertas. Sua aplicação foi necessária para traçar o perfil dos trabalhadores colonizados. As variáveis investigadas neste estudo foram:

- Sócio-demográficas: gênero e idade;
- Profissionais: categoria profissional, setor de trabalho, jornada semanal de trabalho, emprego em outra instituição de saúde;
- Estado de doença/infecção do trabalhador;
- Comportamentais: uso de máscara como EPI, frequência de troca da máscara, dificuldades para o uso de EPI, uso de antisséptico oral, uso recente de antimicrobianos, uso de antimicrobianos por automedicação, conhecimento sobre micro-organismos multirresistentes, medo em adquirir micro-organismos multirresistentes, gravidade das doenças causadas por micro-organismos multirresistentes.

4.2.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Uma amostra de saliva não-estimulada (0,7 a 1,0 mL) foi coletada de cada participante, totalizando 294 amostras. A coleta foi realizada pelo próprio trabalhador e supervisionada pelos pesquisadores e auxiliares de pesquisa devidamente capacitados.

A saliva não-estimulada foi obtida em repouso, sem nenhuma mastigação ou estímulo gustatório. Para isso, os indivíduos ficaram sentados em posição relaxada, com os cotovelos descansados sobre o joelho e a cabeça abaixada, de modo a permitir que a saliva drenasse passivamente do lábio inferior para o recipiente de coleta (NAUNTOFTE; TENOVUO; LAGERLÖF, 2005). Foram empregados recipientes de plástico (polipropileno), descartáveis, esterilizados, de boca larga e com tampa, os quais estavam devidamente identificados com os dados do participante.

4.3 PROCEDIMENTOS DE TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

Foi realizado seguindo normas preconizadas para o transporte de material biológico (WHO, 2007). As amostras foram enviadas ao Laboratório de Bacteriologia Médica do IPTSP/UFG em caixas de isopor e à temperatura ambiente, não excedendo o prazo de 2 h. Em seguida, as amostras foram imediatamente refrigeradas (2-8°C) e processadas em até 24 h após a coleta (MENDES et al., 2005).

4.4 PROCEDIMENTOS MICROBIOLÓGICOS

Os procedimentos microbiológicos para isolamento, identificação e caracterização dos micro-organismos foram realizados de acordo com técnicas padronizadas e referendadas. Cepas padrão da *American Type Culture Collection* (*Escherichia coli* ATCC® 2592, *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853) foram empregadas como controle de qualidade dos

testes realizados (ANVISA, 2004; OPLUSTIL et al., 2004; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; WINN et al., 2008; CLSI, 2009; OPLUSTIL et al., 2010; CLSI, 2011).

4.4.1 ISOLAMENTO DE *Enterobacteriaceae*

As amostras de saliva foram homogeneizadas (vortex) e alíquotas de 20 µL semeadas em meio de cultura seletivo, ágar MacConkey, seguida de incubação a 35°C por 24-48 h. Para obter colônias bacterianas isoladas e, assim, facilitar a seleção de morfotipos diferentes foi empregada a técnica de esgotamento de alça (estrias) (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

O ágar MacConkey é um meio diferencial e indicado para o isolamento seletivo de enterobactérias e BGN entéricos relacionados. Os sais biliares e o cristal violeta, presentes na sua formulação, inibem o crescimento de bactérias gram-positivas e de algumas gram-negativas exigentes (WINN et al., 2008).

4.4.2 IDENTIFICAÇÃO PRELIMINAR DE *Enterobacteriaceae*

Após incubação, as colônias que se desenvolveram em ágar MacConkey foram previamente identificadas, segundo suas características macroscópicas e microscópicas. Primeiramente, foram observados os aspectos macroscópicos como: tamanho, forma, densidade, consistência, cor, produção de pigmentos, odores característicos e capacidade de fermentação da lactose. Tipicamente, as colônias sugestivas de enterobactérias são secas ou mucóides (cepas encapsuladas), relativamente grandes e de cor cinza-opaco (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

Em ágar MacConkey, as bactérias que metabolizam a lactose produzem colônias com coloração rosa devido a produção de ácidos mistos e a consequente alteração do indicador de pH (vermelho neutro). As enterobactérias produtoras de ácidos fortes formam colônias de cor rosa intenso, circundadas por precipitado difuso (*Escherichia*, *Klebsiella* e *Enterobacter*).

Enterobactérias produtoras de ácidos fracos formam colônias rosa-pálido ou colônias claras com centro rosado (*Citrobacter*, *Providencia*, *Serratia* e *Hafnia*). E aquelas que não fermentam a lactose produzem colônias transparentes ou incolores (*Proteus*, *Edwardsiella*, *Salmonella* e *Shigella*) (WINN et al., 2008).

Em seguida, as colônias sugestivas de enterobactérias foram submetidas à coloração de Gram para análise microscópica: tamanho, forma, disposição e reação de coloração das células. Aquelas que se confirmaram como bastonetes ou cocobacilos gram-negativos foram submetidas aos testes bioquímicos de identificação (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

4.4.3 IDENTIFICAÇÃO DIFERENCIAL DE *Enterobacteriaceae*

A diferenciação das *Enterobacteriaceae* é realizada com base no seu perfil bioquímico. Suas características metabólicas refletem o código genético e podem ser detectadas por uma série de testes bioquímicos e meios de cultura especiais. Desta forma, se faz necessária a realização de testes de triagem e de classificação. Os testes de triagem asseguram que o micro-organismo investigado pertence ao grupo (família *Enterobacteriaceae*) e os de classificação categorizam os isolados dentro dos gêneros e espécies mais comuns (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

As seguintes provas foram realizadas: fermentação de carboidratos em ágar Kligler Ferro; produção de citocromo-oxidase; produção de indol; presença de motilidade; descarboxilação da ornitina, arginina e lisina; utilização de citrato; produção de fenilalanina-desaminase; produção de urease; produção de sulfeto de hidrogênio e teste do vermelho de metila. Para a realização dos testes, os micro-organismos isolados no meio de cultura primário, ágar MacConkey, foram cultivados em ágar nutriente e incubados a 35°C por 18-24 h (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

4.4.3.1 Testes de Triagem

A descrição dos princípios, das técnicas e da interpretação dos testes de triagem a seguir foi realizada segundo Anvisa (2004) e Winn et al. (2008).

- **Fermentação de carboidratos em ágar Kligler Ferro**

O ágar Kligler Ferro (KIA) é um meio de cultura que contém em sua formulação glicose e lactose (relação 1:10). Caracteriza o micro-organismo de acordo com o tipo de reação que pode produzir a partir da fermentação dos carboidratos, produção de gás e sulfeto de hidrogênio. São descritas três tipos gerais de reações (K/K, A/A e K/A).

A colônia em estudo foi semeada na profundidade e na superfície inclinada do meio, e incubada a 35°C por 18-24 h. A incapacidade de fermentação de carboidratos é evidenciada pela reação alcalina na profundidade e na superfície (reação K/K). Este perfil de reação indica que o micro-organismo não pertence à família *Enterobacteriaceae*.

Todas as enterobactérias fermentam glicose com produção de reação ácida, alteração do indicador de pH (vermelho fenol) e mudança de coloração do meio (amarelo). As enterobactérias desenvolvem, portanto, reações A/A ou K/A em ágar KIA. A produção de gás (CO₂), por sua vez, é detectada pela presença de bolhas.

- **Produção de citocromo oxidase**

Esta prova é empregada para identificar micro-organismos que carecem da enzima citocromo oxidase, uma hemoproteína que contém ferro e atua como último elemento de ligação na cadeia respiratória aeróbia, transferindo elétrons ao oxigênio com formação de água. Para este teste, parte da colônia investigada foi transferida com auxílio de um palito de madeira para uma tira de papel de filtro impregnada com o reagente dimetil-*p*-fenilenodiamina 1,0%.

No estado reduzido, o reagente é incolor. Na presença de citocromo oxidase e de oxigênio atmosférico, o reagente é oxidado formando indofenol azul. Uma cor azul escura é então desenvolvida no local de inoculação dentro de 10 segundos. Os membros das *Enterobacteriaceae* são citocromo oxidase negativos e, portanto, não produzem coloração azul.

4.4.3.2 Testes de Classificação

A descrição dos princípios, das técnicas e da interpretação dos testes de classificação a seguir foi realizada segundo ANVISA (2004) e Winn et al. (2008).

- **Produção de indol**

O indol é um dos produtos de degradação do metabolismo do aminoácido triptofano. As bactérias que produzem a enzima triptofanase têm a capacidade de hidrolisar e desaminar o triptofano, com produção de indol, ácido pirúvico e amônia. A prova se baseia na formação de um complexo vermelho quando o indol reage com o ρ -dimetilaminobenzaldeído presente no reativo de Kovacs.

O teste foi realizado a partir da inoculação da colônia bacteriana em profundidade no meio combinado MIO (meio motilidade indol ornitina), o qual foi incubado a 35°C por 40-48 h. Após incubação, adicionou-se aproximadamente cinco gotas do reativo de Kovac ao meio. O desenvolvimento de cor vermelha indica presença de indol e, portanto, produção da enzima triptofanase. A manutenção da cor original do reativo (amarela) indica prova negativa.

- **Presença de Motilidade**

As bactérias se movem por meio de flagelos e o seu número e localização variam entre as espécies. A motilidade bacteriana é uma importante característica e foi observada através

do cultivo do micro-organismo no meio combinado MIO. A realização desse teste ocorreu simultaneamente à prova de produção do indol. A formação de zona difusa de crescimento ou turbidez na linha de inoculação indica a presença de flagelo. Os micro-organismos imóveis crescem limitados à linha de inoculação.

- **Descarboxilação da ornitina, arginina e lisina**

As descarboxilases são enzimas capazes de descarboxilar aminoácidos específicos, originando aminas de reação alcalina. Cada enzima é específica para um aminoácido, sendo a ornitina, arginina e lisina os mais empregados para identificação das enterobactérias.

A conversão da ornitina em putrescina (amina) foi avaliada através do cultivo do micro-organismo no meio combinado MIO (meio motilidade-indol-ornitina), anteriormente citado. Esse teste também foi realizado concomitantemente as provas de produção de indol e motilidade. A putrescina resultante da reação de descarboxilação promove a alcalinização do meio e a alteração do indicador de pH (bromocresol púrpura), com consequente desenvolvimento de coloração púrpura.

A conversão da arginina em citrulina (amina) foi observada pelo cultivo do micro-organismo no caldo Arginina Dihidrolase, seguido de incubação a 35°C por 18-24 h. A formação de citrulina alcaliniza o meio, promove a alteração do indicador de pH (bromocresol púrpura) e o desenvolvimento de coloração púrpura.

Já a conversão da lisina em cadaverina (amina) foi detectada pela inoculação da bactéria no caldo Lisina Descarboxilase, o qual foi incubado a 35°C por 18-24 h. A formação de cadaverina alcaliniza o meio e promove o desenvolvimento de coloração púrpura resultante da alteração do indicador de pH (bromocresol púrpura). A reação negativa de descarboxilase é indicada pela cor amarela do meio em qualquer um dos testes citados.

- **Utilização de citrato**

Algumas bactérias podem obter energia a partir de outras fontes que não a fermentação de carboidratos. Essa prova se baseia na capacidade do micro-organismo em utilizar citrato de sódio como única fonte de carbono para o seu metabolismo. A metabolização do citrato leva à alcalinização do meio pela formação de produtos alcalinos e a consequente mudança de cor do indicador de pH (azul de bromotimol).

A prova foi realizada semeando a bactéria na superfície inclinada do ágar Citrato de Simmons e incubando a 35°C por 24-48 h. O desenvolvimento de cor azul no meio indica a presença de produtos alcalinos e um resultado positivo. A manutenção da cor original do meio (verde) indica resultado negativo.

- **Produção de fenilalanina-desaminase**

A fenilalanina-desaminase é a enzima responsável pela desaminação oxidativa do aminoácido fenilalanina, com formação de ácido fenilpirúvico e amônia. A prova se baseia na detecção de ácido fenilpirúvico, após crescimento do micro-organismo no meio.

A detecção dessa enzima foi realizada semeando a colônia em estudo na superfície inclinada do ágar Fenilalanina e incubando a 35°C por 18-24 h. Após incubação, adicionam-se quatro a cinco gotas do reativo Cloreto Férrico, que na presença de ácido fenilpirúvico leva ao desenvolvimento imediato de coloração verde caracterizando um teste positivo.

- **Produção de urease**

A urease é uma enzima encontrada em muitas espécies bacterianas e que tem a capacidade de hidrolisar uréia, liberando amônia. A produção dessa enzima pode ser observada através do cultivo do micro-organismo em ágar Uréia de Christensen.

A prova foi realizada a partir da inoculação da bactéria na superfície inclinada do meio, seguida de incubação a 35°C por 18-24 h. A amônia produzida reage em solução para formar o carbonato de amônio, resultando na alcalinização do meio e alteração do indicador de pH (vermelho fenol), evidenciada pelo desenvolvimento de coloração vermelha. A cor amarela original do meio indica resultado negativo.

- **Produção de sulfeto de hidrogênio**

Algumas espécies de enterobactérias apresentam a capacidade de liberar enxofre na forma de sulfeto de hidrogênio (H₂S). A detecção de H₂S foi realizada através do ágar Kligler Ferro, concomitantemente a realização da prova de fermentação de carboidratos anteriormente citada. Neste meio, o H₂S é formado a partir do tiosulfato de sódio (fonte de enxofre) e de íons hidrogênio (fermentação dos carboidratos). O indicador presente no meio, sulfato ferroso, reage com o H₂S e forma um precipitado negro insolúvel (sulfeto ferroso). Desta forma, o aparecimento de cor negra no meio indica prova positiva.

- **Teste do Vermelho de Metila**

Esta prova é um teste quantitativo para detectar a produção de ácidos fortes (acético, láctico, fórmico) a partir da glicose e por meio da via de fermentação mista. O vermelho de metila é um indicador de pH que produz mudança de cor a partir de pH ≤ 4,4, ou seja, na presença de grandes quantidades de ácido.

Parte da colônia em estudo foi semeada em caldo MR VP (caldo Glicose Tamponada) e incubada a 35°C por 48-72 h. Ao final deste período de incubação, foram acrescentadas cinco gotas do reativo Vermelho de Metila. O desenvolvimento de cor vermelha na superfície do meio indica prova positiva. O desenvolvimento de cor laranja ou amarela (original) indica resultado negativo.

4.4.4 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus* E *Pseudomonas*

Concomitantemente ao isolamento de *Enterobacteriaceae*, alíquotas de 20µL de saliva também foram semeadas em meios de cultura seletivos para *Staphylococcus* (ágar manitol salgado) e *Pseudomonas* (ágar Cetrimide), seguida de incubação a 35°C por 24-48 h (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

As colônias que se desenvolverem nos meios de cultivo primário foram previamente identificadas segundo suas características macroscópicas e microscópicas. Para a identificação diferencial de *Staphylococcus* foram empregadas as provas de produção das enzimas catalase, coagulase e DNase (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008)

Para as *Pseudomonas* foram realizadas provas de triagem: fermentação de carboidratos em ágar KIA e detecção da enzima citocromo-oxidase. E de classificação: motilidade, crescimento a 42°C, descarboxilação da lisina e arginina, suscetibilidade à polimixina B, produção de pigmentos, produção da enzima DNase (ANVISA, 2004; WINN et al., 2008).

4.4.5 DETECÇÃO DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA

O antibiograma foi empregado para prever o padrão de resposta *in vitro* das enterobactérias à ação de diferentes agentes antimicrobianos. O perfil de suscetibilidade foi avaliado pelo método de disco-difusão em ágar, seguindo recomendações referendadas por *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), Pennsylvania, EUA. Este é um comitê internacional de padronização, amplamente utilizado no Brasil, que desenvolve e publica normas, diretrizes e relatórios consensuais relacionados a técnicas de patologia clínica e atenção à saúde (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

Na ocasião da realização deste estudo e do processamento das amostras, foi adotado o documento vigente na época publicado em 2009. Cepas padrão (*Escherichia coli* ATCC®

2592 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603) foram utilizadas para o controle de qualidade do teste (CLSI, 2009).

4.4.5.1 Execução e Interpretação do Teste

A bactéria já identificada e classificada foi cultivada em ágar nutriente e incubada a 35°C por 18-24 h. Posteriormente, um inóculo bacteriano foi preparado adicionando-se três a cinco colônias, bem isoladas e de mesmo morfotipo, em cinco mL de solução salina estéril, de modo a obter uma turbidez comparável a solução padrão de McFarland 0,5. Isso resultou em uma solução bacteriana aproximada de $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL (CLSI, 2009).

Em seguida, um *swab* estéril foi mergulhado no inóculo bacteriano, com o cuidado de se retirar o excesso, e a suspensão espalhada em toda a superfície seca do ágar Mueller Hinton (técnica de varredura). O procedimento foi repetido por mais duas vezes a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo. E por último, passou-se o *swab* na borda do ágar (CLSI, 2009).

Dentro do prazo máximo de 15 minutos, os discos de papel de filtro impregnados com concentrações preestabelecidas das drogas foram aplicados sob a superfície do ágar. Os discos foram distribuídos com o auxílio de uma pinça e de maneira uniforme, obedecendo a distância aproximada de 24 mm, centro a centro, entre eles. Cada disco foi aplicado individualmente e pressionado levemente de encontro à superfície do ágar. Para esta pesquisa, optou-se colocar oito discos por placa de 150 mm (CLSI, 2009).

Foi avaliado um total de 16 antimicrobianos: amoxicilina-ácido clavulânico 20/10 µg, aztreonam 30 µg, cefepime 30 µg, cefotaxima 30 µg, cefoxitina 30 µg, cefpodoxima 10 µg, ceftazidima 30 µg, ceftriaxona 30 µg, ciprofloxacina 5 µg, gentamicina 10 µg, imipenem 10 µg, levofloxacina 5 µg, meropenem 10 µg, piperacilina-tazobactam 100/10 µg, tetraciclina 30 µg, trimetoprim-sulfametoxazol 25 µg (CLSI, 2009).

Estes fármacos foram selecionados para o estudo por serem os mais frequentemente empregados na prática médica em instituições de saúde. E por estarem entre os agentes aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*), Maryland, EUA, e que devem ser considerados pelos Laboratórios de Microbiologia Clínica para testes de suscetibilidade e relatórios de rotina sobre organismos não fastidiosos (CLSI, 2009).

As placas foram então incubadas a 35°C, em ar ambiente, por 18-24 h. Após o período de incubação, procedeu-se a leitura do diâmetro dos halos de inibição (região onde não há crescimento bacteriano detectável a olho nú). Os halos foram medidos em milímetros (mm) por uma régua, com a placa invertida e a partir da margem mais aparente de ausência de crescimento. Os tamanhos dos halos foram interpretados e os micro-organismos categorizados como resistentes sensíveis ou intermediários aos agentes testados, de acordo com critérios estabelecidos pelo CLSI (CLSI, 2009).

A categoria *sensível* indica que a infecção causada pelo patógeno pode ser tratada, adequadamente, pelo referido agente antimicrobiano e nas doses recomendadas. A categoria *intermediária* indica que a concentração inibitória mínima (CIM) do micro-organismo encontra-se próxima ou excede o nível que o agente antimicrobiano atinge no sangue e tecidos. Esta categoria implica no uso de uma dosagem da droga maior que a normal ou no tratamento adequado da infecção somente em sítios corpóreos onde a droga é fisiologicamente concentrada (CLSI, 2009).

Já na categoria *resistente*, o micro-organismo investigado não é inibido pelo agente antimicrobiano nas concentrações normalmente alcançadas nos regimes terapêuticos e/ou a probabilidade de ocorrência de mecanismos específicos de resistência é maior. Desta forma, eficácia clínica do antimicrobiano está comprometida (CLSI, 2009).

Em geral, há correlação entre o diâmetro do halo de inibição e a CIM, ou seja, a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano. É importante lembrar que o

antibiograma reflete a atividade da droga *in vitro* sobre a bactéria, não considerando aspectos clínicos que acompanham o paciente e o processo infeccioso. Desta forma, seus resultados precisam ser interpretados. Um resultado sensível nem sempre garante sucesso terapêutico e por outro lado um resultado resistente diminui as chances de sucesso clínico (ROSSI; ANDREAZZI, 2005; TAVARES, 2009).

4.4.6 DETECÇÃO FENOTÍPICA DA PRODUÇÃO DE β -LACTAMASES

Entre as *Enterobacteriaceae*, os três tipos de β -lactamases de maior relevância clínica e pesquisados neste estudo foram: β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível, ESBL e KPC.

4.4.6.1 Teste de Produção de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível

As cepas de importância clínica que produzem β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível são o grupo CESP (*Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp.) e *Morganella morganii*. Nos documentos elaborados pelo CLSI não há padronização de provas referentes à produção desta enzima. Os testes fenotípicos disponíveis não estão bem definidos e, habitualmente, são realizados em duas etapas: teste de *screening* (triagem) e teste confirmatório (OPLUSTIL et al., 2004; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; OPLUSTIL et al., 2010).

Nesta investigação, a pesquisa de AmpC foi realizada para todos os isolados identificados como grupo CESP. *Escherichia coli* ATCC® 25922 foi utilizada como controle-negativo (OPLUSTIL et al., 2004; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; OPLUSTIL et al., 2010).

- **Teste de *Screening***

A triagem para produção de enzima AmpC Induzível foi realizada através do antibiograma por disco-difusão, citado anteriormente. O disco de cefoxitina (30 µg) foi empregado como marcador e a leitura do teste baseada na presença de sensibilidade (diâmetro do halo ≥ 18 mm) ou resistência (diâmetro do halo ≤ 14 mm) ao β -lactâmico. A presença de resistência caracterizou o micro-organismo como cepa mutante hiperprodutora de enzima AmpC (OPLUSTIL et al., 2004; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; CLSI, 2009; OPLUSTIL et al., 2010)

- **Teste Confirmatório**

Os isolados que apresentaram sensibilidade à cefoxitina foram submetidos ao teste confirmatório por disco aproximação (Figura 1). Para a realização do teste um inóculo bacteriano equivalente à escala padrão de McFarland 0,5 foi preparado e semeado na superfície do ágar Mueller Hinton, seguindo a mesma técnica descrita para o antibiograma (OPLUSTIL et al., 2004; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; OPLUSTIL et al., 2010).

Em seguida, um disco de cefoxitina (30 µg) foi colocado no centro da placa, distante 20 mm (centro a centro) de um disco de ceftriaxona (30 µg) e de um disco de ceftazidima (30 µg). A placa foi incubada a 35°C por 18-24 h. A cefoxitina funciona como um indutor da enzima AmpC e a leitura foi considerada positiva quando houve achatamento do halo ao redor do disco da ceftriaxona e/ou ceftazidima (Figura 2) (OPLUSTIL et al., 2004; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; OPLUSTIL et al., 2010).

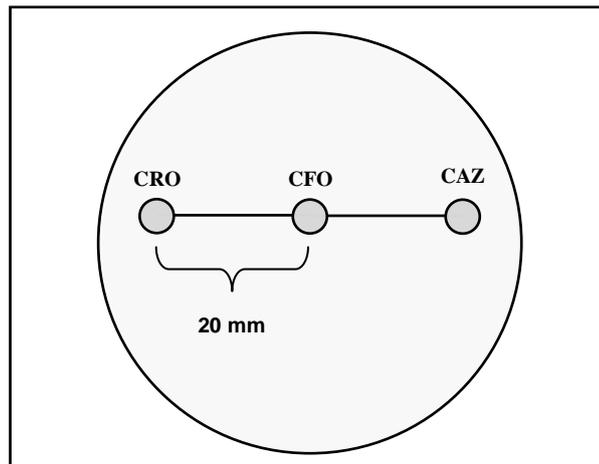


Figura 1 - Representação esquemática do teste de disco aproximação para detecção fenotípica de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível. CRO: ceftriaxona; CFO: cefoxitina; CAZ: ceftazidima.

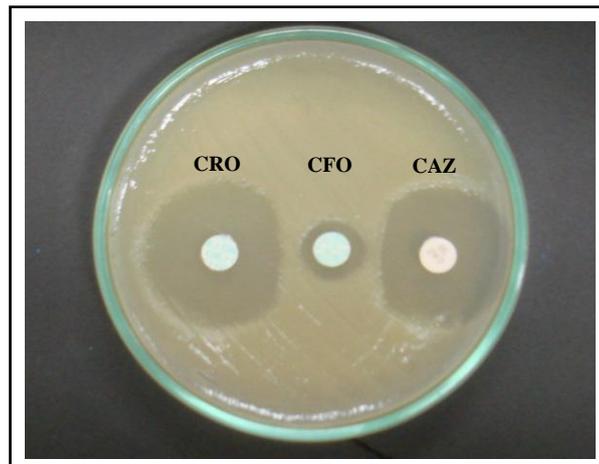


Figura 2 - Teste de disco aproximação positivo para a produção de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível. CRO: ceftriaxona; CFO: cefoxitina; CAZ: ceftazidima.

4.4.6.2 Teste de Produção de β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL)

Até o momento, o CLSI padronizou a metodologia de detecção fenotípica da produção de ESBL somente para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*. A

identificação de ESBL em outros gêneros da família *Enterobacteriaceae* ainda não está definida (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

Desta forma, todos os isolados que foram identificados como pertencentes a uma destas espécies bacterianas foram submetidos ao teste. Na rotina, se faz necessária a realização de duas etapas: teste de *screening* e confirmatório.

- **Teste de *Screening***

A triagem do fenótipo ESBL foi realizada pelo antibiograma por disco-difusão, anteriormente descrito, através de cinco substratos que atuaram como marcadores: aztreonam 30 µg, cefotaxima 30 µg, cefpodoxima 10 µg, ceftazidima 30 µg e ceftriaxona 30 µg. O uso de mais de um agente é sugerido para aumentar a sensibilidade do teste. A leitura foi baseada na medida dos halos de inibição obtidos (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

Suspeitou-se de cepa produtora de ESBL quando foram encontradas zonas com os seguintes diâmetros: ≤ 27 mm para aztreonam, ≤ 27 mm para cefotaxima, ≤ 17 mm para cefpodoxima, ≤ 22 mm para ceftazidima ou ≤ 25 mm para ceftriaxona (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

- **Teste Confirmatório**

Os isolados que apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos empregados no teste de *screening* foram submetidos ao teste confirmatório por disco aproximação. O teste de disco aproximação ou *double disc synergism* é um dos métodos sugeridos para confirmar a produção de ESBL. Para esta metodologia, uma suspensão bacteriana comparável à solução padrão de McFarland 0,5 foi preparada e semeada na superfície do ágar Mueller Hinton, seguindo a mesma técnica descrita para o antibiograma

(THOMSON; SANDERS, 1992; PIE'BOJI et al., 2005; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; GARREC, et al., 2011).

Em seguida, um disco de amoxicilina-ácido clavulânico (20 µg/10 µg) foi colocado no centro da placa e a 20 mm (centro a centro) de um disco de aztreonam (30 µg) e outro de ceftazidima (30 µg). A placa foi incubada a 35°C por 18-24 h. O teste foi considerado positivo quando houve aumento ou distorção do halo de inibição (zona fantasma - *ghost zone*) entre qualquer antimicrobiano marcador e o disco de amoxicilina-ácido clavulânico (THOMSON; SANDERS, 1992; PIE'BOJI et al., 2005; ROSSI; ANDREAZZI, 2005; GARREC, et al., 2011).

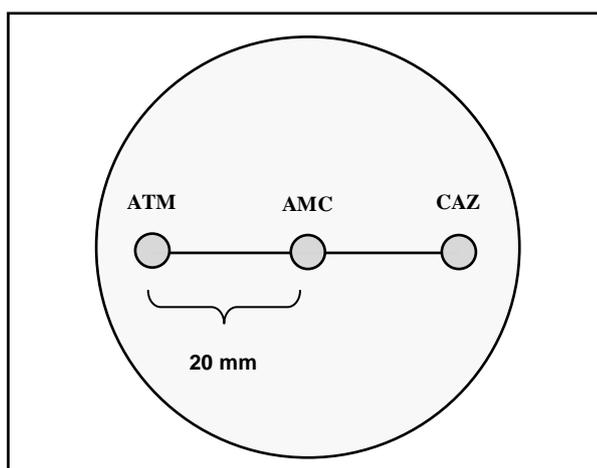


Figura 3 - Representação esquemática do teste de disco aproximação para detecção fenotípica de ESBL. ATM: aztreonam; AMC: amoxicilina-ácido clavulânico; CAZ: ceftazidima.

4.4.6.3 Teste de Produção de *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)

As metodologias utilizadas para o rastreamento de KPC são diversificadas. A identificação fenotípica desta enzima se dá, preferencialmente, por meio do antibiograma por disco-difusão (*screening*) e do teste de Hodge Modificado (confirmatório). A recomendação destas duas metodologias se dá pela sensibilidade e especificidade > 90% observada na

detecção de carbapenemase tipo KPC. *K. pneumoniae* ATCC® 700603 foi empregada como controle-negativo (BRATU, et al., 2005; ANDERSON, et al., 2007; CLSI; 2009, 2011).

- **Teste de Screening**

A triagem para a possível produção de KPC foi realizada através do antibiograma por disco-difusão. *Enterobacteriaceae*, principalmente *Klebsiella pneumoniae*, com resistência a alguma cefalosporinas de terceira geração (ceftazidima, ceftriaxona ou cefotaxima) e a algum carbapenem (imipenem ou meropenem), foram indicadas ao teste de Hodge modificado. Os pontos de corte utilizados para interpretação dos halos de inibição foram: ≤ 14 mm para ceftazidima, ≤ 13 mm para ceftriaxona, ≤ 14 mm para cefotaxima, ≤ 13 mm para imipenem e meropenem (CLSI, 2009).

- **Teste Confirmatório**

Para a realização do teste de Hodge Modificado, um inóculo de *E. coli* ATCC® 25922 correspondente a escala padrão 0,5 de McFarland é preparado e semeado na superfície do ágar Müeller-Hinton, conforme procedimentos de rotina preconizados para o antibiograma disco-difusão (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

No centro da placa é colocado um disco de meropenem 10 μ g. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, três a cinco colônias recém-cultivadas (24 h) da amostra teste são semeadas do centro do disco de imipenem até a periferia da placa de Petri, de modo a delinear uma linha imaginária de 20 a 25 mm. Deve-se ter o cuidado para não tocar o disco do β -lactâmico. Da mesma maneira também é semeada a cepa controle *K. pneumoniae* ATCC® 700603 (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

Após incubação à 35°C por 16 a 20 h, o teste é considerado positivo quando há crescimento da cepa de *E. coli* ATCC® 25922 no halo de inibição do meropenem (distorção

do halo de inibição). A amostra de *E. coli* ATCC® 25922 é sensível ao β -lactâmico, e este crescimento no halo só é possível quando a amostra teste produz enzima que inativa o meropenem, ou seja, é carbapenemase-positiva. Não é observada distorção do halo quando a amostra *K. pneumoniae* ATCC® 700603 é semada. Se positivo para o teste de Hodge Modificado, o micro-organismo deve ser confirmado molecularmente quanto à produção de carbapenemases tipo KPC (CLSI, 2009; CLSI, 2011).

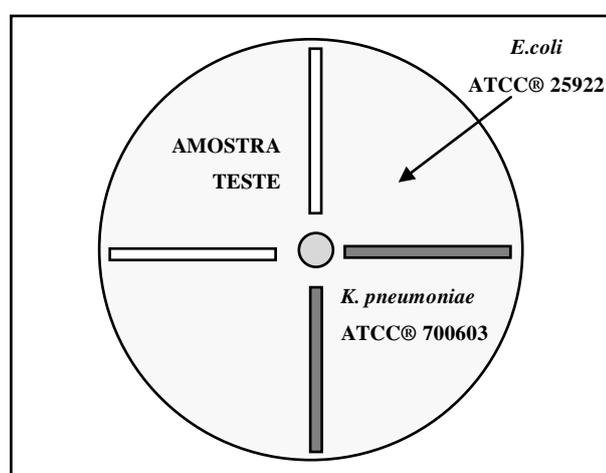


Figura 4 - Representação esquemática do teste de Hodge Modificado para detecção fenotípica de KPC.

4.4.7 ARMAZENAMENTO

Uma vez isolada, identificada e caracterizada cada enterobactéria foi cultivada em ágar nutriente e incubada a 35°C por 18-24 h para armazenamento. Este foi realizado com o auxílio de *swab* estéril e inoculação da colônia bacteriana em quatro tubos tipo *ependorf* (1,5 mL) contendo caldo *Trypic Soy* (TSB) adicionado de 20% de glicerol. Os tubos foram estocados em freezer a - 20°C e - 80°C (OPLUSTIL et al., 2004; WINN et al., 2008; OPLUSTIL et al., 2010).

4.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados dos trabalhadores foram codificados, organizados no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) para Windows (versão 18.0) e analisados por meio de estatística descritiva.

5 RESULTADOS/PUBLICAÇÕES

5.1 ARTIGO 1

Título: *Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico

Autores: Lara Stefânia Netto de Oliveira LEÃO-VASCONCELOS, Ana Beatriz Mori LIMA, Dayane de Melo COSTA, Larissa Oliveira ROCHA-VILEFORT, Ana Cláudia Alves de OLIVEIRA, Nádia Ferreira GONÇALVES, José Daniel Gonçalves VIEIRA, Fabiana Cristina PIMENTA, Marinésia Aparecida PRADO-PALOS

Revista: Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Medicina II – Qualis B2)

***Enterobacteriaceae* ISOLADAS DA CAVIDADE BUCAL DE TRABALHADORES DE UM HOSPITAL ONCOLÓGICO**

Lara Stefânia Netto de Oliveira LEÃO-VASCONCELOS (1), Ana Beatriz Mori LIMA (2), Dayane de Melo COSTA (3), Larissa Oliveira ROCHA-VILEFORT (3), Ana Cláudia Alves de OLIVEIRA (4), Nádia Ferreira GONÇALVES (5), José Daniel Gonçalves VIEIRA (1), Marinésia Aparecida PRADO-PALOS (3)

SUMMARY

Research workers of health services as reservoirs and disseminators of pathogenic bacteria has been reported as strategy for prevention and control of HAIs. In this sense, the oral cavity represent important site of colonization and research. This study aimed to consider the presence of *Enterobacteriaceae* in the oral cavity of workers of an oncology hospital of the Midwest Brazilian, as well as characterize the phenotypic profile of the isolates. From May/2009 to November/2010 was collected a saliva sample of 294 workers belonging to the health teams and support. The procedures were performed second countersigned microbiological techniques. Among the participants, 55 (18.7%) were colonized by *Enterobacteriaceae* in the oral cavity. Were isolated 64 bacteria including species potentially pathogenic. The most prevalent specie was *Enterobacter gergoviae* (17.2%). The highest rates of resistance were observed for β -lactams and 48.4% of isolates were considered multiresistants. For enterobacteria surveyed, producing ESBL and KPC was negative. However, among the 43 isolates of group CESP, 51.2% were producers of β -lactamase AmpC by induction and 48.8% mutants hyper producers. It is considered worrying the high prevalence of carriers of *Enterobacteriaceae* and phenotypic profile of isolates, especially due to multiresistance and production of β -lactamase AmpC.

KEYWORDS: Carriage; *Enterobacteriaceae*; Multidrug-resistant; Beta-lactamases.

(1) Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Rua 235 s/n, Setor Universitário, 74605-050 Goiânia, Goiás, Brasil.

(2) Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros/LACEN, Secretaria do Estado de Goiás, Rua SC1 299, Parque Santa Cruz, 74860-270 Goiânia, Goiás, Brasil.

(3) Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Rua 227 s/n, Setor Universitário, 74605-080 Goiânia, Goiás, Brasil.

(4) Departamento de Biomedicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Rua 232 nº 128, Setor Universitário, 74605-010 Goiânia, Goiás, Brasil.

(5) Hospital de Urgências de Goiânia, Secretaria do Estado de Goiás, Avenida 31 de março s/n, Setor Pedor Ludovico, 74.820-200 Goiânia, Goiás, Brasil.

INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IrAS) são transmissíveis e resultam da interação de múltiplos fatores, os quais atuam diferentemente na cadeia de infecção⁹. Neste contexto, os trabalhadores dos serviços de saúde têm sido apontados como possíveis disseminadores de micro-organismos patogênicos para o ambiente hospitalar e extra-hospitalar^{17,29}.

Em seu cotidiano, estes trabalhadores estão expostos a vários riscos e agravos à saúde como áreas de insalubridade, contato com pessoas doentes e agentes biológicos diversos. Tais fatores, associados ao tempo de permanência na instituição, ao tipo de atendimento prestado e a falta de adesão às medidas de biossegurança, os tornam suscetíveis à colonização por diferentes micro-organismos, incluindo bactérias entéricas como as *Enterobacteriaceae*^{9,32}.

Uma vez colonizados, a condição de portador se estabelece e estes indivíduos passam a atuar diretamente na cadeia de transmissão das IrAs como reservatório e fonte de agentes infecciosos. A disseminação de micro-organismos para o ambiente e para hospedeiros suscetíveis aumenta o risco de infecção e a ocorrência de surtos^{9,29}.

Diante disso, a investigação de trabalhadores dos serviços de saúde como portadores de bactérias patogênicas e multirresistentes tem sido referida como estratégia de prevenção e controle das IrAS. A maioria dos estudos disponíveis relata que as IrAS estão associadas, principalmente, à veiculação microbiana por meio das mãos e da cavidade nasal dos trabalhadores^{4, 11, 19}. Entretanto, além desses, a colonização de outros sítios anatômicos também contribui para a disseminação de patógenos^{9, 15, 35}.

A cavidade bucal representa um importante sítio de investigação, pois suas características anatômicas e fisiológicas as tornam um local propício à proliferação

microbiana^{12, 21}. A partir da cavidade bucal, os micro-organismos podem se disseminar para outros sítios, serem aspirados através das secreções orofaríngeas ou transmitidos por meio de gotículas de saliva provenientes da fala, tosse, espirro ou respiração^{9,12}.

De acordo com os relatos de literatura, o agente de colonização mais pesquisado entre trabalhadores de instituições de saúde é o *Staphylococcus aureus*^{4, 11, 29}. Pesquisas sobre a colonização por bactérias gram-negativas, especialmente *Enterobacteriaceae*, são consideradas escassas e a relevância dos portadores no contexto da saúde pública precisa ser conhecida.

Enterobacteriaceae representa uma família de bastonetes gram-negativos (BGN) que têm se destacado no ambiente da atenção à saúde pela variedade de infecções graves que pode causar e pelos elevados índices de resistência aos antimicrobianos³⁵. Um fator agravante neste cenário tem sido a emergência de cepas produtoras de β -lactamases, as quais constituem o mecanismo mais importante de resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos^{8,33}.

Mediante a escassez tanto de investigações sobre a temática, quanto de conhecimentos acerca da colonização da cavidade bucal de trabalhadores dos serviços de saúde por *Enterobacteriaceae* é que esta pesquisa foi delineada. O presente estudo teve o objetivo de analisar a presença de *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico, bem como caracterizar o perfil fenotípico dos isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Tipo e Local de Estudo: Trata-se de um estudo epidemiológico transversal do tipo descritivo, realizado com trabalhadores de um hospital oncológico de grande porte, referência para o tratamento do câncer. Esta unidade atende, por mês, uma média de 28.000

pacientes, predominantemente usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), e realiza 67.000 procedimentos entre: consultas, internações, cirurgias, tratamento, exames, entre outros.

A pesquisa foi realizada no período de maio/2009 a novembro/2010 e faz parte de um estudo maior de vigilância acerca da colonização de trabalhadores dos serviços de saúde por micro-organismos patogênicos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (Protocolo-CEPACCG/040/08). Todos os trabalhadores foram esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa, bem como quanto aos procedimentos de coleta. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

População de estudo: A população de estudo foi constituída por 294 trabalhadores, incluindo 149 membros da equipe de saúde e 145 da área de apoio. A equipe de saúde foi constituída por médicos, enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem, farmacêuticos, físicos, fisioterapeutas, nutricionistas e psicólogos. Estes trabalhadores atuavam nos seguintes setores: Centro Cirúrgico, Controle de Infecção Hospitalar, Curativo, Endoscopia, Postos de Enfermagem, Pronto Atendimento, Quimioterapia Adulto e Infantil, Radioterapia, Reabilitação e Fisioterapia, Terapia Intensiva e Transplante de Medula Óssea.

A equipe da área de apoio foi constituída por trabalhadores dos setores de Centro de Material e Esterilização, Higienização e Limpeza, Nutrição e Dietética, e Reprocessamento de Roupas. Os participantes foram listados e codificados a partir de informações obtidas junto à instituição.

Estes trabalhadores foram escolhidos por serem considerados os responsáveis diretos pelos cuidados assistenciais aos pacientes, pela remoção da sujidade e contaminação do ambiente, preparo e distribuição de dietas alimentares, bem como pelo reprocessamento de materiais e de roupas utilizadas no hospital.

Os trabalhadores foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: pertencer a uma das categorias profissionais citadas; estar atuando profissionalmente, no período do estudo, em um dos setores escolhidos. Foram excluídos os trabalhadores que estavam em uso de antimicrobianos ou que o fizeram nos últimos sete dias antecedentes à coleta dos espécimes.

Procedimentos de coleta: O estudo foi constituído de três etapas: a primeira compreendeu no convite aos participantes, esclarecimentos acerca da pesquisa e assinatura do TCLE; na segunda etapa foi realizada a aplicação de um formulário referente às características sócio-demográficas, profissionais, de doença/infecção e comportamentais do trabalhador; e na terceira etapa ocorreu a coleta das amostras de saliva não-estimulada¹⁸. As três etapas foram realizadas no mesmo dia e seguidamente.

Coleta e Processamento das Amostras: Uma amostra de saliva não-estimulada (0,7 a 1,0 mL) foi coletada de cada participante em recipientes de plástico (polipropileno) descartáveis e esterilizados, totalizando 294 amostras. A coleta foi realizada pelo próprio trabalhador e supervisionada pelos pesquisadores e auxiliares de pesquisa¹⁸. As amostras foram homogeneizadas (vortex) e alíquotas de 20 µL semeadas em meio de cultura seletivo, ágar MacConkey, seguida de incubação a 35°C por 24-48 h³⁵.

Os procedimentos microbiológicos foram realizados de acordo com técnicas padronizadas. Cepas padrão da *American Type Culture Collection* (*Escherichia coli* ATCC® 2592 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603) foram empregadas como controle de qualidade dos testes realizados.

Isolamento e Identificação das *Enterobacteriaceae*: As bactérias isoladas foram previamente identificadas, segundo as características macroscópicas e microscópicas de suas colônias. A diferenciação das espécies foi realizada por uma série de testes bioquímicos de triagem e de classificação³⁵.

Perfil de Suscetibilidade Antimicrobiana: O perfil de suscetibilidade dos isolados foi avaliado pelo método de disco-difusão em ágar (antibiograma), seguindo recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Pennsylvania, EUA⁵. Os micro-organismos que apresentaram resistência a duas ou mais classes diferentes de antimicrobianos, simultaneamente, foram considerados multirresistentes²⁸.

Um total de 16 antimicrobianos foi avaliado, incluindo: amoxicilina-ácido clavulânico, aztreonam, cefepime, cefotaxima, cefoxitina, cefpodoxima, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem, piperacilina-tazobactam, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol⁵.

Deteção Fenotípica da Produção de β -lactamases: Os três tipos de β -lactamases pesquisados foram: β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível, β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL) e *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC). Os testes fenotípicos foram realizados em duas etapas, *screening* e confirmatório, segundo técnicas padronizadas.

A triagem (*screening*) dos fenótipos de resistência foi conduzida pelo antibiograma por disco-difusão, através do emprego de drogas marcadoras⁵. A produção de AmpC e ESBL foi confirmada pelo teste de disco-aproximação²² e de KPC pelo teste de Hodge Modificado⁵.

Processamento e Análise dos resultados: Os dados dos trabalhadores foram codificados, organizados no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) para Windows (versão 18.0) e analisados por meio de estatística descritiva.

RESULTADOS

Trabalhadores colonizados: Durante o período de realização da pesquisa (18 meses), 55 (18,7%) sujeitos estavam colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae*, sendo 36 (24,2%) trabalhadores de saúde e 19 (13,1%) da área de apoio. Dentre os indivíduos colonizados, 49,1% (27/55) albergavam enterobactérias com perfil de multirresistência antimicrobiana, 90,9% (50/55) albergavam apenas uma espécie de enterobactérias e 9,1% (5/55) de duas a três espécies simultaneamente, ou seja, estavam colonizados por multiespécies de *Enterobacteriaceae*.

Isolados bacterianos: Foram isoladas 64 enterobactérias de diferentes gêneros e espécies (Tabela 1). Os gêneros mais comuns foram *Enterobacter* (46,9%), *Klebsiella* (18,8%) e *Citrobacter* (17,2%), enquanto que a espécie mais prevalente foi *Enterobacter gergoviae* (17,2%). Bactérias potencialmente patogênicas também foram isoladas como *Klebsiella pneumoniae* (12,5%), *Klebsiella oxytoca* (6,2%), *Escherichia coli* (6,2%) e *Serratia marcescens* (3,1%).

Tabela 1 - Distribuição das espécies de *Enterobacteriaceae* (n=64) isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico. Goiânia, Goiás, 2009-2010

Micro-organismo	Isolados (f)	Total (%)
<i>Enterobacter gergoviae</i>	11	17,2
<i>Enterobacter sakasaki</i>	08	12,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	08	12,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	08	12,5
<i>Citrobacter koseri</i>	07	10,9
<i>Pantoea agglomerans</i>	05	7,8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	04	6,2
<i>Escherichia coli</i>	04	6,2
<i>Enterobacter cloacae</i>	03	4,7
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	02	3,1
<i>Citrobacter freundii</i>	02	3,1
<i>Serratia marcescens</i>	02	3,1
Total	64	100

Perfil de Suscetibilidade Antimicrobiana: O perfil de suscetibilidade das enterobactérias aos 16 antimicrobianos está apresentado na tabela 2, 57,8% (37/64) dos isolados foram resistentes a amoxicilina-ácido clavulânico, 45,3% (29/64) a cefoxitina, 15,6% (10/64) a tetraciclina e 10,9% (7/64) a cefpodoxima. Verificou-se ainda que todas (100,0%) as enterobactérias foram sensíveis à cefepime, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, levofloxacina e meropenem.

Tabela 2. Perfil de Suscetibilidade Antimicrobiana de *Enterobacteriaceae* (n=64) isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico. Goiânia, Goiás, 2009-2010

Antimicrobianos	S	I	R	Total R
	Isolados (f)			(%)
Amoxicilina-ácido clavulânico	18	9	37	57,8
Cefoxitina	35	0	29	45,3
Tetraciclina	53	1	10	15,6
Cefpodoxima	49	8	7	10,9
Trimetoprim-sulfmetoxazol	61	1	2	3,1
Ceftazidima	63	0	1	1,6
Ceftriaxona	63	0	1	1,6
Piperacilina tazobactam	63	0	1	1,6
Cefotaxima	63	1	0	0
Aztreonam	63	1	0	0
Cefepime	64	0	0	0
Ciprofloxacina	64	0	0	0
Gentamicina	64	0	0	0
Imipenem	64	0	0	0
Levofloxacina	64	0	0	0
Meropenem	64	0	0	0

Quarenta e dois (65,6%) isolados apresentaram algum tipo de resistência, sendo que 31 (48,4%) foram resistentes a duas ou mais classes de antimicrobianos, caracterizando perfil de multirresistência. Dentre esses, 6,4% (2/31) apresentaram resistência a três e 6,4% (2/31) a quatro classes diferentes, simultaneamente.

Produção fenotípica de β -lactamases: Neste estudo, a produção fenotípica de β -lactamase AmpC Cromossômica Induzível foi pesquisada entre os 43 (67,2%) isolados identificados como grupo CESP (*Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp.). Todos foram positivos para a produção de AmpC, porém estes microorganismos apresentaram diferentes mecanismos. Vinte e dois (51,2%) isolados foram sensíveis à cefoxitina (marcador) e positivos para o teste confirmatório (disco aproximação) de produção da enzima, caracterizando um mecanismo de indução. Enquanto que 21 (48,8%) isolados apresentaram resistência à cefoxitina, indicando a presença de cepas mutantes que hiperproduzem enzima AmpC (Tabela 3).

A pesquisa de β -lactamase de Espectro Ampliado (ESBL) foi realizada para os 16 (25,0%) isolados identificados como *E. coli* e *Klebsiella* spp., porém nenhum foi produtor da enzima. Todas as enterobactérias (100,0%) foram negativas para a produção de carbapenemase tipo KPC (Tabela 3).

Tabela 3. β -lactamases produzidas por *Enterobacteriaceae* (n=64) isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico. Goiânia, Goiás, 2009-2010

Enzimas	Isolados avaliados	Isolados positivos	Total
	(f)	(f)	(%)
KPC	64	0	0
AmpC induzível/indução	43	22	51,2
AmpC induzível/mutação	43	21	48,8
ESBL	16	0	0

KPC: *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase; ESBL: β -lactamase de Espectro Ampliado

DISCUSSÃO

Grande parte das infecções relacionadas à assistência à saúde é de origem endógena e de ação preventiva difícil, porém o número de infecções evitáveis é significativo, especialmente aquelas resultantes da transmissão cruzada de micro-organismos⁹. Desta forma, a problemática envolvendo a colonização de trabalhadores dos serviços de saúde por bactérias patogênicas e multirresistentes está em evidência^{4, 17}.

No âmbito dos serviços de saúde, a equipe multidisciplinar merece atenção especial, pois está na base da assistência prestada aos pacientes. A equipe de apoio, por sua vez, mantém a infraestrutura necessária ao funcionamento hospitalar³⁴. Estes trabalhadores podem disseminar micro-organismos e a sua identificação como possíveis reservatórios e fontes de agentes infecciosos consiste em uma importante medida de prevenção e controle das IrAS⁶.

Porém, estudos sobre cavidade bucal e bactérias gram-negativas de relevância clínica e epidemiológica são raros na literatura. Apesar de limitados, estes estudos são de grande relevância para o controle da disseminação microbiana e, conseqüentemente, das taxas de infecção. A cavidade bucal pode servir de potencial reservatório de *Enterobacteriaceae*, as quais são veiculadas para o ambiente e para indivíduos suscetíveis através da saliva. Tal fato se torna ainda mais importante quando se considera o ambiente hospitalar, pois esse é o local onde mais ocorrem infecções por *Enterobacteriaceae*^{12, 35}.

Ressalta-se que a condição de portador também é prejudicial à própria saúde do trabalhador. Diante de alguma situação de desequilíbrio dos mecanismos de defesa, os micro-organismos endógenos podem desencadear infecções graves^{9, 35}. Albergar enterobactérias na cavidade bucal é fator predisponente e agravante para muitas doenças infecciosas bucais e sistêmicas^{10, 26}.

No presente estudo, a prevalência de colonização da cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* foi de 18,7%. Entretanto, ao se analisar os grupos de trabalhadores, individualmente, constatou-se que 24,2% dos trabalhadores da área de saúde e 13,1% da área de apoio eram portadores.

Os índices de colonização apresentados são inferiores aos observados em alguns estudos envolvendo cavidade bucal. Pesquisa semelhante realizada com 278 membros da equipe de saúde de um hospital universitário encontrou uma taxa de colonização por BGN (enterobactérias e/ou não-fermentadores) de 69,8%²⁰. Em investigações com indivíduos imunocomprometidos, a presença de *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal variou de 32,5% a 60,7%^{13, 21}. Já em outra pesquisa a taxa de colonização da cavidade bucal por enterobactérias e/ou *Pseudomonas* spp. foi de 51,0%²⁴.

Apesar da prevalência encontrada ter sido inferior, essa pode ser considerada elevada e de grande relevância, pois *Enterobacteriaceae* são micro-organismos entéricos que não habitam normalmente a cavidade bucal¹². Esta família de coliformes tem como habitat natural o trato intestinal dos homens e animais, estando entre os principais agentes de IrAS, sendo responsáveis por uma variedade de doenças clinicamente importantes como infecções do trato urinário, trato respiratório, de ferida, sistema nervoso central, corrente sanguínea³⁵.

Dentre os sujeitos colonizados, a maior prevalência foi observada para a equipe de saúde (24,2%) em comparação a equipe de apoio. Este dado pode ser justificado pelo fato destes trabalhadores serem os responsáveis pelos cuidados assistenciais e por estarem frequentemente expostos ao contato direto e indireto com pacientes e agentes biológicos. Além disso, muitos destes trabalhadores exercem atividades em outras instituições de saúde, o que favorece a colonização por agentes diversos, incluído bactérias multirresistentes³².

A colonização é um processo dinâmico, que está na dependência de vários fatores³⁵. Condições como hospitalização, resposta imunológica comprometida, hábitos de

higiene inadequados, redução da salivação e dos movimentos naturais de mastigação favorecem a colonização e proliferação de *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal¹. Há ainda a hipótese de que a incidência destes micro-organismos na boca também esteja relacionada à presença de coliformes na água e nos alimentos²⁷.

Outro fator preocupante, é que 9,1% dos portadores estavam colonizados por espécies diferentes de enterobactérias. Em estudo realizado com equipe de saúde de um hospital escola, 49,2% dos trabalhadores estavam multicolonizados por BGN²⁰. A grande diversidade microbiana da cavidade bucal reflete, entre outros fatores, a presença do biofilme dentário, o qual possibilita condições especiais de sobrevivência e crescimento¹⁴. Além disso, as propriedades anatômicas e físico-químicas da cavidade bucal as tornam um ecossistema altamente complexo, heterogêneo e distinto de todos os outros^{12, 21}.

Com relação à caracterização fenotípica dos micro-organismos isolados, as bactérias mais comuns foram *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*, e a espécie mais prevalente *Enterobacter gergoviae* (17,2%). Em pesquisa com trabalhadores da saúde os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* também foram descritos como os mais frequentes na cavidade bucal²⁰. Dados semelhantes foram reportados em estudo, no qual *Enterobacter cloacae* (31,0%) foi a enterobactéria mais isolada entre indivíduos em tratamento odontológico, seguida de *Klebsiella pneumoniae* (18,3%)²⁴.

As espécies de enterobactérias isoladas nesta investigação são patógenos hospitalares oportunistas, que eventualmente podem ser encontrados na cavidade bucal e em amostras subgengivais de indivíduos saudáveis^{24, 26, 35}. Foram isoladas bactérias (*Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*) conhecidas por sua virulência e capacidade de causar infecções graves³⁰.

A espécie *E. gergoviae* pode ser isolada de fontes ambientais, bem como do trato respiratório, trato urinário e do sangue de seres humanos. Este micro-organismo é causa

comum de bacteremias nosocomias. Sua presença na cavidade bucal constitui fator de risco a infecções como a periodontite severa do adulto e a pneumonias^{24, 26, 35}.

As maiores taxas de resistência foram observadas para o grupo dos β -lactâmicos: amoxicilina-ácido clavulânico (57,8%), cefoxitina (45,3%) e cefpodoxima (10,9%) (Tabela 2). Os β -lactâmicos constituem os antimicrobianos mais tradicionalmente empregados no tratamento de infecções. O aumento da resistência em bactérias gram-negativas se deve a produção de enzimas β -lactamases^{28, 31}, como constatado neste estudo.

Taxas elevadas de resistência as quinolonas, aminoglicosídeos e beta-lactâmicos têm sido relatadas em várias instituições^{23, 30}. Porém, observam-se nesta pesquisa que todos os isolados foram sensíveis as quinolonas (ciprofloxacina e levofloxacina), gentamicina, cefepime e aos carbapenens (imipenem, e meropenem). Estudo que avaliou a suscetibilidade antimicrobiana de enterobactérias isoladas da cavidade bucal também encontrou 100,0% de sensibilidade a quinolona²⁵.

A sensibilidade as quinolonas e aminoglicosídeos representa um dado importante. Estes fármacos são drogas de escolha para o tratamento de uma variedade de infecções por bastonetes gram-negativos, incluindo infecções respiratórias por isolados produtores de β -lactamase AmpC²³.

A cefepime, por sua vez, também é ativa contra cepas produtoras de β -lactamase AmpC, representando a terapêutica de primeira escolha contra este tipo de micro-organismo²³. Já os carbapenens representam um grupo de antimicrobiano de amplo espectro, empregado, especialmente, em quadros de infecção grave por enterobactérias multirresistentes³.

Dos trabalhadores pesquisados, 49,1% estavam colonizados por enterobactérias multirresistentes. Isolados com perfil de multirresistência corresponderam a 48,4% do total de enterobactérias, sendo que alguns (6,4%) foram resistentes a quatro classes distintas de antimicrobianos. Este resultado pode ser considerado de grande preocupação por se tratar de

agentes de colonização isolados de portadores saudáveis. Como consequência deste perfil, vários antimicrobianos tornam-se menos ativos, reduzindo as opções terapêuticas e aumentando o impacto clínico das doenças infecciosas⁷.

Nos últimos anos, as *Enterobacteriaceae* têm-se apresentado resistentes a uma variedade de antimicrobianos. O aumento da resistência está relacionado principalmente ao uso frequente de antimicrobianos e à facilidade com que estes micro-organismos adquirem resistência^{22, 31}. Este perfil tem sido observado, particularmente, no ambiente hospitalar, onde são descritos surtos de infecção por enterobactérias produtoras de β -lactamases^{8, 33}.

Com relação às β -lactamases de importância clínica, não foram observadas a produção fenotípica de ESBL e KPC. Porém, dentro o grupo CESP, todos os isolados foram produtores de β -lactamases AmpC. O aumento da produção se deu de maneira diferente entre os isolados, por mecanismo de indução e mutação.

No grupo de bactérias produtoras de AmpC, 51,2% dos isolados foram sensíveis à cefoxitina (marcador) no antibiograma e confirmados, posteriormente, quanto a produção de β -lactamases AmpC. Isso significa que esses isolados só expressam resistência quando forem expostos a um antimicrobiano indutor (indução), ou seja, quando a terapêutica for instituída. Nestes casos, pode ocorrer falha terapêutica durante a vigência do tratamento²³.

Por outro lado, 48,8% dos isolados CESP foram resistentes à cefoxitina no antibiograma e considerados, portanto, cepas mutantes. Este tipo de isolado hiperproduz permanentemente β -lactamases AmpC como resultado de uma mutação³¹. Tal fenômeno resulta na produção constante de elevados níveis de β -lactamase AmpC independente da exposição a um agente indutor. *Enterobacteriaceae* mutantes podem ser selecionadas a partir de populações de cepas induzíveis durante a terapia com antimicrobianos fracos indutores²³.

A enzima β -lactamase AmpC pertence à classe molecular C e ao grupo funcional 1, não sofre ação de inibidores de β -lactamase, é de expressão induzível e produzida em

baixas quantidades (mecanismo intrínseco) pelo grupo CESP. Cepas produtoras de AmpC são intrinsecamente resistentes às penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos³¹.

Nas instituições de saúde, sua prevalência é variável podendo ser encontradas taxas de até 22,7%¹⁶. Em muitas unidades de cuidados intensivos têm sido relatados surtos por *Enterobacteriaceae* produtoras de AmpC induzível, os quais se destacam pela dificuldade de tratamento decorrente do perfil de multirresistência dos isolados².

Desta forma, considera-se que, neste estudo, a prevalência de portadores de *Enterobacteriaceae* entre os trabalhadores da instituição investigada foi elevada e que o perfil fenotípico dos isolados foi bastante preocupante, pois se trata de agentes de colonização multirresistentes e produtores de β -lactamase AmpC.

Acredita-se que a detecção de *Enterobacteriaceae* multirresistentes na cavidade bucal dos trabalhadores que atuam nesta instituição permitirá rastrear e identificar os portadores, bem como conhecer o perfil dos micro-organismos colonizantes, monitorar a emergência de resistência e de novos patógenos. Além disso, espera-se que os resultados possam contribuir com subsídios para identificação de rotas de contaminação e, conseqüentemente, de agravos ocasionados por estes agentes. Tais informações ainda são úteis ao aperfeiçoamento das práticas do cuidado em saúde, tendo em vista a qualidade de vida do trabalhador, do usuário do serviço e da comunidade em geral, em consonância com os princípios da segurança.

RESUMO

***Enterobacteriaceae* isoladas da cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico do Centro-Oeste brasileiro**

Investigação de trabalhadores dos serviços de saúde como reservatórios e disseminadores de bactérias patogênicas têm sido referida como estratégia de prevenção e controle das infecções relacionadas à assistência à saúde. Neste sentido, a cavidade bucal representa importante sítio de colonização e investigação. Este estudo buscou avaliar a presença de *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal de trabalhadores de um hospital oncológico do Centro-Oeste brasileiro,

bem como caracterizar o perfil fenotípico dos isolados. De maio/2009 a novembro/2010 foi coletada uma amostra de saliva de 294 trabalhadores pertencentes às equipes de saúde e de apoio. Os procedimentos microbiológicos foram realizados segundo técnicas referendadas. Dentre os participantes, 55 (18,7%) estavam colonizados por *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal. Foram isoladas 64 bactérias, incluindo espécies potencialmente patogênicas. A espécie mais prevalente foi *Enterobacter gergoviae* (17,2%). As maiores taxas de resistências foram observadas para os β -lactâmicos e 48,4% dos isolados foram considerados multirresistentes. Para as enterobactérias pesquisadas, a produção de ESBL e KPC foi negativa. Porém, dentre os 43 isolados do grupo CESP, 51,2% foram considerados produtores de β -lactamase AmpC por indução e 48,8% mutantes hiperprodutores. Considera-se a prevalência de portadores de *Enterobacteriaceae* elevada e o perfil fenotípico dos isolados preocupante, especialmente pela multirresistência e produção de β -lactamases AmpC.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e contou com a consultoria científica no preparo do manuscrito da Dr^a. Fabiana Cristina Pimenta, pesquisadora do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), Georgia, EUA.

REFERÊNCIAS

1. AMARAL, S. M.; CORTÊS, A. D. E. Q.; PIRES, F. R. Nosocomial pneumonia: importance of the oral environment. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Brasília, v. 35, p. 1116-1124, 2009.
2. BAGATTINI, M.; CRISPINO, M.; GENTILE, F.; BARRETTA, E.; SCHIAVONE, D.; BOCCIA, M.C; TRIASSI, M.; ZARRILLI, R. A nosocomial outbreak of *Serratia marcescens* producing inducible Amp C-type beta-lactamase enzyme and carrying antimicrobial resistance genes within a class 1 integron. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 56, p. 29-36, 2004.
3. BRATU, S.; LANDMAN, D.; ALAM, M.; TOLENTINO, E.; QUALE, J. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. *Antimicrobial Agents Chemother*, Washington, v. 49, n. 3, p.776- 778, 2005.
4. CARVALHO, M. J.; PIMENTA, F. C.; HAYASHIDA, M.; GIR, E.; SILVA, A. M.; BARBOSA, C. P.; CANINI, S. R. M. S.; SANTIAGO, S. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* in the saliva of health professionals. *Clinics*, São Paulo, v. 64, n. 4, p. 295-302, 2009.
5. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard*. CLSI Document M02-A10. Tenth Edition. Pennsylvania: CLSI, 2009. v. 29.

6. COLOMBO, A. L.; JANINI, M.; SALOM, R.; MEDEIROS, E. A. S.; WEY, S. B.; PIGNATARI, A. C. C. Surveillance programs for detection and characterization of emergent pathogens and antimicrobial resistance. Results from the Division of Infectious Diseases, UNIFESP. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v. 81, n. 3, p. 571-587, 2009.
7. D'AGATA, E. M. C.; HORN, M. A.; RUAN, S.; WEBB, G. F.; WARES, J. R. Efficacy of Infection Control Interventions in Reducing the Spread of Multidrug-Resistant Organisms in the Hospital Setting. *Plos One*, California, v. 7, n. 2, p. 1-11, 2012.
8. DROPA, M.; BALSALOBRE, L. C.; LINCOPAN, N.; MAMIZUKA, E. M.; MURAKAMI, T.; CASSETTARI, V. C.; FRANCO, F.; GUIDA, S. M.; BALABAKIS, A. J.; PASSADORE, L. F.; SANTOS, S. R.; MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H. Extended-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolated in a public hospital in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 51, n. 4, p. 203-209, 2009.
9. FERNANDES, A. T.; FILHO, N. R.; BARROSO, E. A. R. Conceito, Cadeia Epidemiológica das Infecções Hospitalares e Avaliação Custo-Benefício das Medidas de Controle. In: FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; FILHO, N. R. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. Cap. 10.
10. GOMES-FILHO, I. S.; PASSOS, J. S.; CRUZ, S. S. Respiratory disease and the role of oral bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, Norway, v. 2, p. 5811, 2010.
11. HAMDAN-PARTIDA, A.; SAINZ-ESPUÑES, T.; BUSTOS-MARTÍNEZ, J. Characterization and Persistence of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from the Anterior Nares and Throats of Healthy Carriers in a Mexican Community. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 48, n. 5, p. 1701-1705, 2010.
12. JORGE, A. O. C. *Microbiologia Bucal*. 3. ed. São Paulo: Santos, 2007. p. 112.
13. JÚNIOR, E. G. J.; NAKANO, V.; WAHASUGUI, T. C.; CABRAL, F. C.; GAMBA, R.; AVILA-CAMPOS, M. J. Occurrence of yeasts, enterococci and other enteric bacteria in subgingival biofilm of HIV-positive patients with chronic gingivitis and necrotizing periodontitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 39, p. 257-261, 2008.
14. KOLENBRANDER, P. E.; PALMER, R. J. J. R.; PERIASAMY, S.; JAKUBOVICS, N. S. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature Reviews Microbiology*, London, v. 8, p. 471-480, 2010.
15. LIMA, A. B. M.; LEÃO, L. S. N. O. ; OLIVEIRA, L. S. C.; PIMENTA, F. Nasopharyngeal Gram-negative bacilli colonization in Brazilian children attending day-care centers. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.40, p.1032-1035, 2009.
16. MOHAMUDHA, P. R.; HARISH, B. N. ; PARIJA, S. C. AmpC beta lactamases among Gram negative clinical isolates from a tertiary hospital, South India. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.41, n. 3, p. 596-602, 2010.

17. MOURA, J. P.; PIMENTA, F. C.; MIYEKO, H.; CRUZ, E. D. A.; CANINI, S. R. M. S.; GIR, E. A colonização dos trabalhadores de enfermagem por *Staphylococcus aureus*. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, Ribeirão Preto, v.19, n. 2, p. 325-331, 2011.
18. NAUNTOFTE, B.; TENOVUO, J.; LAGERLÖF, F. Secreção e Composição da Saliva. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. *Cárie Dentária: A Doença e seu Tratamento Clínico*. 1. ed. São Paulo: Livraria Santos, 2005. Cap. 2.
19. NOGUERAS, M.; MARINSALTA, N.; ROUSSELL, M.; NOTARIO, R. Importance of hand germ contamination in health-care workers as possible carriers of nosocomial infections. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 149-152, 2001.
20. PRADO-PALOS, M. A.; GIR, E.; LIMA, A. B. M.; LEÃO, L. S. N. O; PIMENTA, F. C. Prevalência de bastonetes Gram-negativos isolados da saliva de trabalhadores da saúde. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, Goiânia, v.13, n.4, p. 730-734, 2011.
21. ROCHA, C. G. B. B.; REIS, C.; PIMENTA, F. C. Contagem e identificação de microrganismos na saliva de portadores do vírus da imunodeficiência humana antes e após higienização e bochecho com anti-sépticos. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 125-133, 2006.
22. ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. *Resistência Bacteriana: Interpretando o Antibiograma*. 1. ed. Editora: Atheneu, 2005. p.182.
23. ROSSI, F.; FURTADO, G. H.; ANDRADE, S. S. *Medidas de Prevenção e Controle da Resistência Microbiana e Programa de Uso Racional de Antimicrobianos em Serviços de Saúde*. 1. ed. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2007, p. 180.
24. SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal humana. *Revista de Odontologia da UNESP*, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 473-484, 1998.
25. SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Sensibilidade "In Vitro" de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae Isoladas da Cavidade Bucal Humana a Agentes Antimicrobianos. *PGRO - Pós-Graduação em Revista-Odontologia*, São José dos Campos, v. 2, n. 1, p.40-44, 1999.
26. SANTOS, S. S. F.; LOBERTO, J. C. S.; MARTINS, C. A. P.; JORGE, A. O. C. Prevalence and *in vitro* sensibility of the Enterobacteriaceae and pseudomonads isolated from the oral cavity and periodontal pockets in patients with chronic periodontitis. *PGRO-Pós-Graduação em Revista-Odontologia*, São José dos Campos, v.5, n.2, p. 74-83, 2002.
27. SEDGLEY, C. M.; SAMARANAIAKE, L. P. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, Massachusetts, v.23, p.104-113, 1994.
28. SIEGEL, J. D.; RHINEHART, E.; JACKSON, M.; CHIARELLO, L. Management of multidrug resistant organisms in health care settings, 2006. *American Journal of Infection Control*, New York, v. 35, n. 10, p. 165-193, 2007.

29. SILVA, E. C. B. F.; SAMICO, T. M.; CARDOSO, R. R.; RABELO, M. A.; BEZERRA NETO, A. M.; MELO, F. L.; LOPES, A. C. S.; ACA, I. S.; MACIEL, M. A. V. Colonização pelo *Staphylococcus aureus* em trabalhadores de enfermagem de um hospital escola de Pernambuco. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 132-137, 2012.
30. SUN, J.; HU, L. F.; WANG, M.; SHI, W.; XU, X. H.; CHENG, J.; MA, T.; LUO, X. M.; WANG, Z. X.; YE, Y.; LI, J. B. Clinical investigation for infections caused by Enterobacteriaceae in intensive care unit of Anhui, China. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 16, n.1, p. 109-110, 2012.
31. THOMSON, K. S. Extended-Spectrum-Lactamase, AmpC and Carbapenemase Issues. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 48, n. 4, p. 1019-1025, 2010.
32. VALLE, A. R. M. C.; FEITOSA, M. B. F.; ARAÚJO, V. M. D.; MOURA, M. E. B.; SANTOS, A. M. R.; MONTEIRO, C. F. S. Representações sociais da biossegurança. *Escola Anna Nery Revista de Enfermagem*, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 304-309, 2008.
33. VASQUES, M. R. G.; BELLO, A. R.; LAMAS, C. C.; CORREA, J.; PEREIRA, J. A. A. β -lactamase producing enterobacteria isolated from surveillance swabs of patients in a cardiac intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v.15, n.1, p. 28-33, 2011.
34. VEIGA, A. R. *Condições de trabalho, fatores de risco e problemas de saúde percebidos pelo trabalhador de enfermagem hospitalar*. 2007. 120f . Dissertação (Mestrado em Enfermagem)- Faculdade de Enfermagem, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.
35. WINN, W. C.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; KONEMAN, E. W.; PROCOP, G. W.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WOODS, G. L. *Koneman, Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1565.

5.2 ARTIGO 2

Título: Trabalhadores de um hospital oncológico colonizados por *Enterobacteriaceae*: isolamento bacteriano e perfil dos colonizados

Autores: Lara Stefânia Netto de Oliveira LEÃO-VASCONCELOS, Ana Beatriz Mori LIMA, Dayane de Melo COSTA, Larissa Oliveira ROCHA-VILEFORT, Ana Cláudia Alves de OLIVEIRA, José Daniel Gonçalves VIEIRA, Fabiana Cristina PIMENTA, Marinésia Aparecida PRADO-PALOS.

Revista: Revista Ciências & Saúde Coletiva (Medicina II – Qualis B3)

TRABALHADORES DE UM HOSPITAL ONCOLÓGICO COLONIZADOS POR
***Enterobacteriaceae*: ISOLAMENTO BACTERIANO E PERFIL DOS COLONIZADOS**

WORKERS OF AN ONCOLOGY HOSPITAL COLONIZED BY *Enterobacteriaceae*:
BACTERIAL ISOLATION AND PROFILE OF CARRIERS

LSNO Leão-Vasconcelos¹, ABM Lima², DM Costa³, LO Rocha-Vilefort³, ACA Oliveira⁴,
JDG Vieira¹, MA Prado-Palos³

¹Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Rua 235 s/n,
Setor Universitário, 74605-050 Goiânia, Goiás, Brasil.

²Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros/LACEN, Secretaria do Estado
de Goiás, Rua SC1 299, Parque Santa Cruz, 74860-270 Goiânia, Goiás, Brasil.

³Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Rua 227 s/n, Setor Universitário,
74605-080 Goiânia, Goiás, Brasil.

⁴Departamento de Biomedicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Rua 232 nº 128,
Setor Universitário, 74605-010 Goiânia, Goiás, Brasil.

Abstract *The health care environment presents innumerable risks making it an insalubrious place, propitious to colonization and development of infections. Inserted in this scenario are the workers of health services, which are vulnerable to the condition of carrier of pathogenic bacteria, like Enterobacteriaceae. The aim of this study was to detect the presence of Staphylococcus and Pseudomonas in saliva of workers of the oncologic hospital colonized by Enterobacteriaceae in the oral cavity, as well as to characterize their socio-demographic profile, professional, disease/ infection and behavioral. The collection of saliva and microbiological analyzes were performed by standard techniques. Data collection was conducted through a questionnaire. A total of 55 professional was colonized by Enterobacteriaceae and 56.4% (31/55) of subjected also harbored in the oral cavity Staphylococcus or Pseudomonas. The data presented showed alarming realities for the context of health care and worker health. It is considered that these results contribute with important subsidies for programs to prevention and control of infection, because knowledge of carrier status reduces the risk of transmission of microorganisms.*

Key words *Workers, Carrier, Enterobacteriaceae, Pathogens, Profile*

Resumo *O ambiente da assistência à saúde apresenta inúmeros riscos que o torna um local insalubre, propício à colonização e ao desenvolvimento de infecções. Inseridos neste cenário estão os trabalhadores dos serviços de saúde, os quais são vulneráveis à condição de portadores de bactérias patogênicas, como as Enterobacteriaceae. O objetivo deste estudo foi detectar a presença de Staphylococcus e Pseudomonas na saliva de trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por Enterobacteriaceae, bem como caracterizar o seu perfil sócio-demográfico, profissional, de doença/infecção e comportamental. A coleta de saliva e as análises microbiológicas foram realizadas por técnicas padronizadas. A coleta de dados por meio da aplicação de formulário. Um total de 55 trabalhadores estava colonizado por Enterobacteriaceae, sendo que 56,4% (31/55) dos sujeitos também albergavam na cavidade bucal Staphylococcus ou Pseudomonas. Os dados apresentados revelaram realidades preocupantes para o contexto da assistência à saúde e saúde do trabalhador. Considera-se que estes resultados contribuem com subsídios importantes para os programas de prevenção e controle de infecção, pois o conhecimento do estado de portador reduz os riscos de transmissão de micro-organismos.*

Palavras-chaves *Trabalhador, Portador, Enterobacteriaceae, Patógenos, Perfil*

Introdução

O ambiente da assistência à saúde apresenta inúmeros riscos que o torna um local insalubre, propício ao processo de colonização e ao desenvolvimento de infecções por diferentes micro-organismos^{1, 2, 3}. Inseridos neste cenário estão os trabalhadores dos serviços de saúde. Esses, em função de uma combinação de fatores, estão vulneráveis à condição de portadores de bactérias patogênicas e multirresistentes, como as *Enterobacteriaceae*^{4, 5}.

Contribuem para esta condição o contato com pessoas, enfermidades e agentes biológicos diversos; o tempo de permanência na instituição; o tipo de atendimento prestado e o emprego de práticas indevidas inerentes à atividade profissional, como a falta de adesão às medidas de biossegurança^{2, 3, 6}.

Os trabalhadores uma vez colonizados passam a atuar na cadeia de transmissão das infecções relacionadas à assistência à saúde (IrAS) como reservatório e fonte natural de agentes infecciosos^{7, 8, 9}. Devido a sua relevância para a cadeia de transmissão das IrAS, os trabalhadores dos serviços de saúde têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, bem como dos programas de segurança no cuidado do paciente^{10, 11}.

Devido à possibilidade de proliferação de vários agentes bacterianos e de transmissão de micro-organismos por meio da saliva, a cavidade bucal têm se destacado como importante sítio de investigação^{12, 13, 14}. A eliminação de patógenos por meio da saliva favorece a disseminação dos mesmos para o ambiente e para outros indivíduos, incluindo pacientes, acompanhantes, visitantes e trabalhadores^{15, 16}. Além de reservatório local, estudos apontam que a colonização da cavidade bucal pode trazer agravos à própria saúde do trabalhador ao constituir fator predisponente a várias doenças, incluindo as de caráter invasivo^{14, 17}.

Estudos sobre cavidade bucal e *Enterobacteriaceae* ainda são raros na literatura, porém de grande relevância para as IrAS. *Enterobacteriaceae* são bactérias gram-negativas que vêm se destacando pela capacidade de causar infecções graves em indivíduos debilitados e pela multirresistência aos antimicrobianos^{18, 19}.

Considerando o impacto das IrAS na qualidade da assistência hospitalar e na saúde pública, as políticas de saúde têm sido voltadas, principalmente, ao desenvolvimento de programas de prevenção e controle destas infecções. Sabe-se que o controle de infecção nos serviços de saúde representa um grande desafio para os gestores, mas possível de ser realizado. E para isso, as questões acerca da colonização e do perfil do trabalhador colonizado devem ser melhor investigadas^{14, 20, 21, 22}.

Diante da escassez de pesquisas sobre o tema e da sua relevância para a saúde dos usuários e dos trabalhadores dos serviços de saúde, é que esta pesquisa foi desenvolvida. Este estudo teve por objetivo detectar a presença de *Staphylococcus* e *Pseudomonas* na saliva de trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae*, bem como caracterizar o seu perfil sócio-demográfico, profissional, de doença/infecção e comportamental.

Método

Tipo e Local de Estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico transversal do tipo descritivo, realizado com trabalhadores de um hospital oncológico de grande porte, referência para o tratamento do câncer e integrado ao Sistema Único de Saúde (SUS). A coleta de dados e dos espécimes (saliva) ocorreu no período de maio de 2009 a novembro de 2010 (18 meses).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do hospital, Protocolo-CEPACCG/040/08. Todos os trabalhadores foram esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa, bem como quanto aos procedimentos de coleta. Aqueles que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

População de Estudo

Participaram da pesquisa 294 trabalhadores, incluindo 149 membros da equipe de saúde e 145 da área de apoio. A equipe de saúde foi constituída por médicos, enfermeiros, técnicos e auxiliares de enfermagem, farmacêuticos, físicos, fisioterapeutas, nutricionistas e psicólogos.

Estes trabalhadores atuavam no Centro Cirúrgico (SCC), Controle de Infecção Hospitalar (SCIH), Curativo (SCT), Endoscopia (SED), Postos de Enfermagem (PE), Pronto Atendimento (SPA), Quimioterapia Adulto e Infantil (SQT), Radioterapia (SRT), Reabilitação e Fisioterapia (SRF), Terapia Intensiva (STI) e Transplante de Medula Óssea (TMO). Já a equipe da área de apoio foi constituída por trabalhadores do Centro de Material e Esterilização (CME), Higienização e Limpeza (SHL), Nutrição e Dietética (SND) e Reprocessamento de Roupas (SRR).

Os trabalhadores foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: pertencer a uma das categorias profissionais citadas; estar atuando

profissionalmente, no período do estudo, em um dos setores escolhidos. Foram excluídos os trabalhadores que estavam em uso de antimicrobianos ou que o fizeram nos últimos sete dias antecedentes à coleta dos espécimes.

Procedimento de Coleta dos Dados

A coleta de dados foi realizada individualmente, na forma de entrevista e por meio da aplicação de um formulário. As variáveis investigadas neste estudo incluíram características sócio-demográficas (gênero e idade), profissionais (categoria trabalhador, setor de trabalho, jornada semanal de trabalho, emprego em outra instituição de saúde), estado de doença/infecção do trabalhador e comportamentais (uso de máscara como EPI, frequência de troca da máscara, dificuldades para o uso de EPI, uso de antisséptico bucal, uso recente de antimicrobianos, uso de antimicrobianos por automedicação, conhecimento sobre micro-organismos multirresistentes, medo em adquirir micro-organismos multirresistentes, gravidade das doenças por micro-organismos multirresistentes).

Análises Microbiológicas

Para identificar os indivíduos colonizados por *Enterobacteriaceae*, bem como isolar *Staphylococcus* e *Pseudomonas*, uma amostra de saliva não-estimulada (0,7 a 1,0 mL) foi coletada de cada participante totalizando 294 análises²³. As amostras foram homogeneizadas (vortex) e alíquotas de 20µL semeadas em meios de cultura seletivos para os agentes bacterianos pesquisados (ágar MacConkey e ágar manitol salgado), seguida de incubação a 35°C por 24-48 h. Os procedimentos microbiológicos de isolamento e identificação das bactérias foram realizados de acordo com técnicas padronizadas¹⁹.

Processamento e Análise dos Dados

Os dados dos trabalhadores foram codificados, organizados no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) para Windows (versão 18.0) e analisados por meio de estatística descritiva.

Resultados

Isolamento Bacteriano

Participaram da investigação 294 trabalhadores, porém a população de estudo foi constituída por 55 (18,7%) sujeitos colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae*. Destes, 36 (65,5%) pertenciam à equipe de saúde e 19 (34,5%) à equipe de apoio.

Com relação às análises microbiológicas da saliva, foi observado que 56,4% (31/55) dos trabalhadores colonizados também albergavam na cavidade bucal *Staphylococcus* e/ou *Pseudomonas*. Destes, 20,0% (11/55) estavam colonizados simultaneamente por dois ou mais micro-organismos pesquisados.

Foram isoladas 44 bactérias, sendo 23 *Staphylococcus* coagulase-negativos (CoNS), 19 *Staphylococcus aureus*, 1 *Pseudomonas aeruginosa* e 1 *Pseudomonas stutzeri* (Tabela 1). *S.aureus* e CoNS foram encontrados na saliva de 32,7% (18/55) dos trabalhadores, enquanto que *P. aeruginosa* e *P. stutzeri* em 1,8% (1/55), respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Bactérias isoladas da saliva de trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* (n=55). Goiânia, Goiás, 2009-2010

Bactérias	Micro-organismo		Trabalhador	
	f	%	f	%
<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos	23	52,3	18	32,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	43,2	18	32,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	2,3	1	1,8
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	2,3	1	1,8

Perfil dos Trabalhadores Colonizados por *Enterobacteriaceae*

Na tabela 2, estão distribuídas as características dos trabalhadores segundo as variáveis sócio-demográficas e profissionais do estudo. Foi observado que dentre os sujeitos colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* houve predomínio de indivíduos do gênero masculino (65,4%) e de adultos maiores de 40 anos (41,8%). A idade mínima foi de 23 anos e a máxima de 62 anos.

Em relação à categoria profissional, verificou-se que 52,7% (29/55) dos trabalhadores colonizados eram técnicos de enfermagem, 23,6% (13/55) auxiliares de limpeza, 5,5% (3/55) médicos e 1,8% (1/55) instrumentadores cirúrgicos. Estes trabalhadores estavam distribuídos em 16 setores da instituição, incluindo setores assistenciais e de apoio.

O setor de higienização e limpeza (23,6%) contemplou o maior número de trabalhadores colonizados, seguido dos postos de enfermagem (18,2%), do setor de curativos e nutrição/dietética (9,1%). Alguns dos trabalhadores colonizados (7,3%) atuavam no centro cirúrgico e um (1,8%) no setor de transplante de medula óssea. Muitos trabalhadores (41,8%) permaneciam na instituição 40 horas ou mais na semana, enquanto que 27,3% mantinham emprego em outras instituições de saúde.

Tabela 2 – Caracterização dos trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* (n=55), segundo variáveis sócio-demográficas e profissionais. Goiânia, Goiás, 2009-2010

Variáveis	f	%
Gênero		
Masculino	36	65,4
Feminino	19	34,5
Idade (anos)		
> 40	23	41,8
31-40	21	38,2
≤ 30	11	20,0
Categoria Profissional		
Técnico de Enfermagem	29	52,7
Auxiliar de Limpeza	13	23,6
Médico	3	5,4
Copeiro	3	5,4
Instrumentador Cirúrgico	1	1,8
Fisioterapeuta	1	1,8
Físico	1	1,8
Enfermeiro	1	1,8
Auxiliar de Nutrição	1	1,8
Auxiliar de Lavanderia	1	1,8
Auxiliar de Cozinha	1	1,8
Setor de Trabalho		
Setor de Higienização e Limpeza	13	23,6
Postos de Enfermagem	10	18,2
Setor de Nutrição e Dietética	5	9,1
Setor de Curativos	5	9,1
Setor de Quimioterapia Adulto	4	7,3
Setor de Centro Cirúrgico	4	7,3
Setor de Terapia Intensiva	3	5,4
Setor de Reprocessamento de Roupas	2	3,6
Setor de Pronto Atendimento	2	3,6
Transplante de Medula Óssea	1	1,8
Setor de Reabilitação e Fisioterapia	1	1,8
Setor de Radioterapia	1	1,8
Setor de Quimioterapia Infantil	1	1,8
Centro de Material e Esterilização	1	1,8
Setor de Endoscopia	1	1,8
Setor de Controle de Infecção Hospitalar	1	1,8
Jornada de Trabalho (semanal)		
< 40 horas	32	58,2
≥ 40 horas	23	41,8
Trabalho em outra Instituição		
Não	40	72,7
Sim	15	27,3

A condição frequente de doença/infecção dos trabalhadores também foi avaliada nesta investigação. Conforme mostra a tabela 3, muitos apresentavam com frequência quadros infecciosos. Amigdalite (52,7%) foi a infecção mais relatada, seguida de sinusite (40,0%) e faringite (38,2%).

Tabela 3 – Caracterização dos trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* (n=55), segundo o seu estado de doença/infecção. Goiânia, Goiás, 2009-2010

Doença/Infecção	Sim		Não	
	f	%	f	%
Amigdalite	29	52,7	26	47,3
Sinusite	22	40,0	33	60,0
Faringite	21	38,2	34	61,8

Na tabela 4 estão descritas as variáveis comportamentais do estudo. Quanto ao uso de equipamento de proteção individual (EPI), todos os trabalhadores relataram o uso durante o exercício de suas atividades. Porém, 7,3% (4/55) não faziam uso de máscara, 23,6% (13/55) realiza a troca de máscara esporadicamente, enquanto 1,8% (1/55) nunca realizavam a troca. Entre os trabalhadores, 80,0% declararam que o uso de EPI interfere no trabalho e 18,2% que o seu uso é desnecessário.

O uso de antisséptico oral foi observado em 29,1% (16/55) dos trabalhadores e 16,4% (9/55) haviam feito uso recente de antimicrobianos. Muitos trabalhadores (27,3%) utilizavam antimicrobianos sem prescrição médica (automedicação). O fármaco mais citado foi a amoxicilina.

Quando questionados sobre o tema micro-organismos multirresistentes, 14,5% (8/55) disseram não ter conhecimento sobre o assunto. Além disso, 38,2 (21/55) não apresentavam medo em adquirir micro-organismo com este perfil. Para 90,9% (50/55) dos trabalhadores a

gravidade de uma doença causada por agente multirresistente é igual a de outra doença qualquer.

Tabela 4 – Caracterização dos trabalhadores de um hospital oncológico colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* (n=55), segundo variáveis comportamentais. Goiânia, Goiás, 2009-2010

Variáveis	f	%
Uso de Máscara como EPI		
Sim	50	90,9
Não	4	7,3
Não informado	1	1,8
Frequência de Troca da Máscara		
Sempre	36	65,4
Esporadicamente	13	23,6
Não informado	5	9,1
Nunca	1	1,8
Dificuldades para o uso de EPI		
Interfere no trabalho	44	80,0
Acha desnecessário	10	18,2
Desconhecimento da indicação do uso	1	1,8
Uso de Antisséptico Oral		
Não	39	70,9
Sim	16	29,1
Uso recente de Antimicrobianos		
Não	46	83,6
Sim	9	16,4
Uso de Antimicrobiano por Automedicação		
Não	36	65,4
Sim	15	27,3
Não informado	4	7,3
Conhecimento sobre Micro-organismos Multirresistentes		
Sim	47	85,4
Não	8	14,5
Medo de contrair Micro-organismos Multirresistentes		
Sim	33	60,0
Não	21	38,2
Não informado	1	1,8
Gravidade das doenças por Micro-organismos Multirresistentes		
São como quaisquer outras	50	90,9
Estão associadas à maior índice de mortalidade	5	9,1

Neste estudo, as variáveis sócio-demográficas, profissionais, doença/infecção e comportamentais também foram estatisticamente analisadas, considerando o potencial de risco para a colonização dos trabalhadores por *Enterobacteriaceae*. Porém, essas não apresentaram associação com o estado portador de *Enterobacteriaceae*.

Discussão

A colonização da cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* foi detectada em 55 trabalhadores. Na saliva de 56,4% destes trabalhadores foram isoladas outras 44 bactérias de importância clínica. As prevalências de colonização encontradas foram: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase-negativos (32,7%), *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas stutzeri* (1,8%).

Estes dados são inferiores aos observados em outros estudos, fato que pode ser explicado pelo tamanho da amostragem. Prado-Palos et al.²⁴ encontraram, entre trabalhadores de saúde de um hospital universitário, uma prevalência de 69,4% de portadores de *Enterobacteriaceae* e/ou *Pseudomonas* na cavidade bucal. Já em pesquisa com a equipe de enfermagem de um hospital escola, a prevalência de trabalhadores colonizados na cavidade bucal por *S. aureus* foi de 84,7%²⁵. Enquanto que Moura et al.²⁶, em estudo semelhante, encontraram uma prevalência de 41% para a colonização por *S. aureus*.

Apesar de haver diversidade entre os resultados, os dados relatados por esta investigação são considerados elevados e de grande relevância, pois os micro-organismos isolados na saliva dos trabalhadores são reconhecidos como patógenos clássicos, muitos são oportunistas e agentes de infecção nosocomial. Assim como as *Enterobacteriaceae*, estas bactérias possuem vários fatores de virulência, inúmeros mecanismos adaptativos, são resistentes a vários antimicrobianos e não são habitualmente encontradas na cavidade bucal¹⁸,

19, 27.

É importante ressaltar que os trabalhadores estavam multicolonizados, ou seja, além de *Enterobacteriaceae*, albergavam também outras espécies bacterianas de interesse. No âmbito das IrAS, esta informação é um dado bastante preocupante, pois os indivíduos colonizados podem transmitir tais agentes através da saliva. Devido às suas características anatômicas e fisiológicas, a cavidade bucal possui condições adequadas ao crescimento de uma variedade de agentes com potencial patogênico, podendo atuar como reservatório e fonte de infecção^{13,28}.

Em relação ao perfil do trabalhador colonizado por *Enterobacteriaceae*, segundo as características sócio-demográficas e profissionais, destaca-se que o maior número de portadores foi constituído por homens acima de 40 anos. A categoria profissional mais comum foi a de técnico de enfermagem com 52,7% dos colonizados. Dado que merece especial atenção, visto que estes trabalhadores participam da equipe de enfermagem, exercendo atividades de promoção da saúde, prevenção de agravos e de assistência direta ao paciente^{29,30}.

Outros membros da equipe de saúde que exercem importantes atividades na assistência também foram detectados como portadores, entre eles: médicos, enfermeiros e instrumentador cirúrgico. Já na equipe de apoio, a categoria mais comum foi a de auxiliar de limpeza (23,6%). Estes trabalhadores mantêm a infraestrutura necessária ao funcionamento hospitalar e para isso circulam por vários ambientes dos estabelecimentos de saúde e entram em contato com pacientes diversos^{29,30}.

Apesar do setor de higienização/limpeza e os postos de enfermagem concentrarem o maior número de colonizados, muitos portadores atuavam em setores importantes da instituição, como unidade de terapia intensiva, centro cirúrgico e transplante de medula óssea. Estes serviços concentram pacientes debilitados, imunocomprometidos, submetidos a procedimentos invasivos e a terapias imunossupressoras. Condição que se torna ainda mais

preocupante quando se trata de pacientes com câncer e transplantados, os quais são altamente suscetíveis a agentes microbianos. Nestes casos, a presença de um único portador de *Enterobacteriaceae* pode ser considerada fator de risco para os pacientes^{15,26}.

No que se refere à carga horária de trabalho, muitos trabalhadores (41,8%) permaneciam na instituição 40 horas ou mais na semana. Esta é uma preocupação com a saúde ocupacional dos portadores. Os efeitos e o impacto da carga de trabalho sobre a saúde do trabalhador são relatados na literatura⁶. Como se sabe, os serviços de saúde possuem muitas condições insalubres. Quanto maior o tempo de exposição aos riscos, maior é a suscetibilidade aos agravos, entre eles a colonização por micro-organismos patogênicos^{2,3}.

Alguns trabalhadores (27,3%) possuíam um segundo emprego em outra instituição de saúde. Este fato contribui para a transmissão cruzada de micro-organismos entre instituições e para a emergência de novos patógenos. Os agentes infecciosos podem variar entre os serviços de saúde, pois sua presença está diretamente relacionada ao tipo de atendimento prestado, ao tipo de clientela atendida, a diversidade de enfermidades tratadas e a quantidade de pessoas circulantes^{31,32}.

Quadros frequentes de doença/infecção foram relatados entre os portadores, como amigdalites, sinusites e faringites, sendo o primeiro o mais frequente. Esta condição pode ser explicada pelo fato da presença de *Enterobacteriaceae* e de outras bactérias na cavidade bucal ser considerada fator de risco ao desenvolvimento de várias doenças infecciosas, incluindo as de vias aéreas¹³.

As variáveis comportamentais revelaram realidades preocupantes. Alguns portadores de *Enterobacteriaceae* (18,2%) declararam o uso de EPI como desnecessário à sua atividade, 7,3% não faziam o uso de máscara como medida de precaução, 23,6% realizavam a troca de máscara esporadicamente e 1,8% nunca trocava. Os EPIs são medidas necessárias para interromper a cadeia de transmissão de agentes infecciosos, especialmente os

multirresistentes. A máscara, por exemplo, é essencial para evitar a disseminação de micro-organismos a partir de gotículas de saliva e secreções respiratórias. Além disso, as máscaras descartáveis conferem proteção por tempo limitado, sendo o procedimento de troca uma medida de biossegurança¹⁵.

O uso de antissépticos orais foi observado em 29,1% dos trabalhadores. Estes agentes químicos são empregados para reduzir o número de micro-organismos na cavidade bucal. Porém, muitos deles não apresentam boa atividade sobre bactérias gram-negativas, como as *Enterobacteriaceae*¹⁶. O uso recente de antimicrobiano e a prática da automedicação também foram observados. Substâncias antimicrobianas contribuem para o aumento da resistência bacteriana, pois possui um papel selecionador. Indivíduos em uso de antimicrobianos são mais suscetíveis à colonização e infecção por bactérias multirresistentes³³.

A desinformação sobre micro-organismos multirresistentes foi comum entre os portadores. É importante lembrar que a categoria profissional de colonizados mais frequente foi a de técnicos de enfermagem, os quais prestam assistência direta ao paciente. Conforme os dados obtidos, alguns trabalhadores demonstraram falta de conhecimento teórico-prático do assunto e, até mesmo, comportamento de negligência. Esta condição desperta a atenção de todos os profissionais envolvidos com o controle de infecção e com a saúde do trabalhador, especialmente os gestores dos estabelecimentos de saúde, para a necessidade de programas de capacitação e atualização.

Considera-se que os resultados desta pesquisa contribuem com informações importantes para os programas de prevenção e controle das IrAs. Os dados apresentados são de grande relevância para o tema, pois pouco se conhece acerca da colonização e do perfil dos trabalhadores colonizados por *Enterobacteriaceae*.

O rastreamento e identificação do estado portador permite a elaboração de medidas preventivas que reduzem a transmissão e disseminação de micro-organismos nos serviços de

saúde. É importante lembrar que a instituição investigada atende pacientes portadores de doença maligna, os quais são altamente suscetíveis a quadros de infecção. A vigilância ativa dos portadores auxilia, por exemplo, na redução dos casos de colonização e infecção dos pacientes³⁴. Conhecer o perfil do trabalhador colonizado permite o estabelecimento de programas específicos direcionados à problemática da colonização, ao mesmo tempo em que contribui para a proteção ocupacional do trabalhador.

Agradecimentos

Este trabalho recebeu o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e contou com a consultoria científica no preparo do manuscrito da Dr^a. Fabiana Cristina Pimenta, pesquisadora do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), Georgia, EUA.

Referências

1. Cavalcante NJF, Pereira N. A. Saúde Ocupacional. In: Fernandes AT, Fernandes MOV, Filho NR. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu; 2000. p. 1287-00.
2. Valle ARMC, Feitosa MB, Araújo VMD, Moura MEB, Santos AMR, Monteiro CFS. Representações sociais da biossegurança por trabalhadores da enfermagem de um serviço de emergência. *Esc Anna Nery Rev Enferm* 2008; 12(2):304-09.
3. Dancer SJ. The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection. *J Hosp Infect* 2000; 73(4):378-85.
4. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control* 2007; 35(10):165-93.
5. Colombo AL, Janini M, Salomão R, Medeiros EAS, Wey SB, *et al*. Surveillance programs for detection and characterization of emergent pathogens and antimicrobial resistance. Results from the Division of Infectious Diseases, UNIFESP. *An Acad Bras Ciênc* 2009; 81(3):571-87.
6. Silva, NR. Fatores determinantes da carga de trabalho em uma unidade básica de saúde. *Rev C S Col* 2011; 16(8): 3393-02.
7. Askarian M, Zeinalzadeh A, Japoni A, Alborzi A, Memish ZA. Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *Int J Infect Dis* 2009; 13(5):241-47.

8. Moura JP, Gir E, Rosa JO, Belíssimo-Rodrigues F, Cruz EDA, Oliveira ACA, *et al.* Resistência à mupirocina entre isolados de *Staphylococcus aureus* de trabalhadores de enfermagem. *Acta Paul Enferm* 2010; 23(3):399-03.
9. Silva EC, Samico TM, Cardoso RR, Rabelo MA, Bezerra Neto AM, Melo FL, *et al.* Colonização pelo *Staphylococcus aureus* em trabalhadores de enfermagem de um hospital escola de Pernambuco. *Rev Esc de Enferm USP* 2012; 46 (1):132-37.
10. World Health Organization (Who). *Who Guidelines on Hand Higiene in Health Care*. Geneva: Who; 2009.
11. Kilpatrick C, Pittet D. Who save lives: clean your hands global annual campaign. *Infection* 2011; 39 (2):93-5.
13. Jorge AOC. *Microbiologia Bucal*. 3ªed. São Paulo: Santos; 2007.
14. Cruz EDA. *Staphylococcus aureus e Staphylococcus aureus resistente à meticilina em trabalhadores de um hospital universitário: colonização e crenças em saúde* [tese]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2008.
15. Fernandes AT, Filho NR, Barroso EAR. Conceito, Cadeia Epidemiológica das Infecções Hospitalares e Avaliação Custo-Benefício das Medidas de Controle. In: Fernandes AT, Fernandes MOV, Filho NR. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu; 215. p. 215-65.
16. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse AS, Mietzner TA *Microbiologia Médica: de Jawetz, Melnick e Adelberg*. 25ª ed. Porto Alegre: AMG; 2012.
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). *Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes*. Brasília: Anvisa; 2007.
19. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, *et al.* *Koneman, Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*. 6ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
20. Nunkoo B, Pickles H. Infection prevention and control in general practice. *Nurs Stand* 2008; 23(13):44-48.
21. Puccini PT. Perspectivas do controle da infecção hospitalar e as novas forças sociais em defesa da saúde. *Rev C S Col* 2011; 16(7):3043-49.
22. Vilefort LOR. *Staphylococcus sp. em trabalhadores de áreas de apoio de uma instituição oncológica da região Centro-Oeste* [dissertação]. Goiânia (GO): Universidade Federal de Goiás; 2011.
23. Nauntofte B, Tenovuo J, Lagerlöf F. Secreção e Composição da Saliva. In: Fejerskov O, Kidd E. *Cárie Dentária: A Doença e seu Tratamento Clínico*. 1ª ed. São Paulo: Livraria Santos; 2005. p. 7-27.a
24. Prado-Palos MA, Gir E; Lima, ABM; Leão LSNO; Pimenta FC. Prevalência de bastonetes Gram-negativos isolados da saliva de trabalhadores da saúde. *Rev Eletr Enf* 2011; 13(4):730-34.

25. Carvalho MJ, Pimenta FC, Hayashida M, Gir E, Silva AM, Barbosa CP, *et al.* Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* in the saliva of health professionals. *Clinics* 2009; 64(4):295-02.
26. Moura JP, Pimenta FC, Miyeko H, Cruz EDA, Canini SRMS, Gir E. A colonização dos trabalhadores de enfermagem por *Staphylococcus aureus*. *Rev Latino-Am Enfermagem* 2011; 19(2):325-31.
27. Marsh P, Martin MV. *Microbiologia Oral*. 4ª ed. São Paulo: Santos; 2005.
28. Rocha CGBB, Reis C, Pimenta FC. Contagem e identificação de microrganismos na saliva de portadores do vírus da imunodeficiência humana antes e após higienização e bochecho com antissépticos. *Rev Patol Trop* 2006; 35(2):125-33.
28. Ursell LK. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(5):1204-08.
29. Pereira MS, Prado MA, Leão ALM, Souza DN. Avaliação de serviços de apoio na perspectiva do controle de infecção hospitalar. *Rev Eletr Enf* 1999; 1(1):1-10.
30. Veiga AR. *Condições de trabalho, fatores de risco e problemas de saúde percebidos pelo trabalhador de enfermagem hospitalar* [dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2007.
31. Gomes-Filho IS, Passos JS, Cruz SS. Respiratory disease and the role of oral bacteria. *J Oral Microbiol* 2010; 2:5811.
31. Moura MEB, Ramos MN, Sousa CMM, Silva AO, Alves MSCF. Infecção hospitalar no olhar de enfermeiros portugueses: representações sociais. *Texto Contexto Enferm* 2008; 17(4):743-49.
32. Sydnor ERM, Perl TM. Hospital Epidemiology and Infection Control in Acute-Care Settings. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(1):141-73.
33. Tavares W. *Antibióticos e Quimioterápicos para o Clínico*. 2ª. ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009.
34. Alvarez C, Labarca J, Salles M. Prevention strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. *Braz J Infect Dis* [online] 2010; 14(2):107-18.

6 CONCLUSÃO

- Neste estudo foi isolado um total de 64 enterobactérias da cavidade bucal de 294 trabalhadores de um hospital oncológico referência no Centro-Oeste brasileiro.
- A espécie de enterobactéria mais prevalente foi *Enterobacter gergoviae* (17,2%), enquanto que os gêneros mais comuns foram *Enterobacter* (46,9%), *Klebsiella* (18,8%) e *Citrobacter* (17,2%).
- Foram isoladas espécies potencialmente patogênicas como *Klebsiella pneumoniae* (12,5%), *Klebsiella oxytoca* (6,2%), *Escherichia coli* (6,2%) e *Serratia marcescens* (3,1%).
- Dentre as enterobactérias isoladas, 48,4% apresentaram perfil de multirresistência aos antimicrobianos.
- As maiores taxas de resistência foram observadas para o grupo dos β -lactâmicos: 57,8% dos isolados foram resistentes a amoxicilina-ácido clavulânico, 45,3% a cefoxitina e 10,9% a cefpodoxima.
- Todas (100,0%) as enterobactérias foram sensíveis a cefepime, quinolonas, gentamicina e carbapenens.
- Não foi observada a produção fenotípica de ESBL e KPC entre as enterobactérias avaliadas.
- Todos as 43 isolados classificadas como grupo CESP foram produtoras de β -lactamase AmpC, sendo 51,2% por mecanismo de indução e 48,8% mutantes hiperprodutores de enzima.
- A prevalência de trabalhadores colonizados na cavidade bucal por enterobactérias foi 18,7%, sendo de 24,2% entre os trabalhadores da área da saúde e de 13,1% da área de apoio.

- Dentre os trabalhadores colonizados na cavidade bucal por enterobactérias, 56,4% estavam co-colonizados por *Staphylococcus* e/ou *Pseudomonas*. Foram isolados 42 *Staphylococcus* e 2 *Pseudomonas*.
- Com relação ao perfil dos trabalhadores colonizados por enterobactérias houve predomínio de indivíduos masculinos (65,4%) e adultos maiores de 40 anos (41,8%).
- Quanto à categoria profissional destacou-se a de técnicos de enfermagem (52,7%), seguida dos auxiliares de limpeza (23,6%).
- O setor que contemplou o maior número de trabalhadores colonizados foi o de higienização e limpeza (23,6%) e os postos de enfermagem (18,2%).
- Muitos trabalhadores (41,8%) referiram jornada de trabalho ≥ 40 horas e 27,3% apresentavam vínculo de trabalho em outra instituição.
- Quadros frequentes de infecção foram relatados entre os trabalhadores colonizados, sendo a amigdalite a doença mais comum para 52,7% dos portadores.
- No que se refere ao uso de equipamentos de proteção individual, 80,0% declararam que o uso de EPI interfere no trabalho, enquanto que 18,2% consideram o seu uso desnecessário.
- Dentre os portadores de enterobactérias, 7,28% não faziam uso de máscara, 23,6% realizavam a troca de máscara esporadicamente e 1,8% nunca trocava.
- Identificou-se que 29,1% dos trabalhadores colonizados faziam uso de antissépticos bucais, 16,4% haviam feito uso recente de antimicrobianos e 27,3% faziam o uso deste fármaco sem prescrição médica.
- A desinformação sobre micro-organismos resistentes foi comum entre os portadores, 90,9% consideravam a doença causada por estes agentes igual a outra qualquer, 38,2% não tinham medo em adquirir um micro-organismo com este perfil e 14,5% declararam não ter conhecimento sobre o tema.

- Frente aos resultados apresentados pela pesquisa conclui-se que a cavidade bucal é um importante reservatório de enterobactérias.
- Os trabalhadores dos serviços de saúde colonizados na cavidade bucal podem transmitir enterobactérias para indivíduos suscetíveis e para o ambiente hospitalar.
- A presença deste grupo de bactérias na cavidade bucal também contribui para o surgimento de agravos à saúde dos trabalhadores.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As infecções relacionadas à assistência à saúde são doenças transmissíveis, multifatoriais, que podem ter como reservatório de agentes infecciosos os trabalhadores dos serviços de saúde e cuja prevenção e controle representam um grande desafio para os gestores da saúde. Suas elevadas taxas de morbi-mortalidade as tornam um problema grave de saúde pública que necessita de constantes intervenções.

Diante do exposto, novas estratégias para o controle de infecção têm sido propostas, como a investigação de portadores de micro-organismos patogênicos. Considera-se, portanto, que os resultados apresentados por esta pesquisa são inovadores e de grande contribuição para o tema, pois trabalhadores colonizados na cavidade bucal por *Enterobacteriaceae* assumem papel fundamental na cadeia de transmissão desses micro-organismos dentro das instituições de saúde e comunidade.

Na literatura, há pouca produção científica acerca do perfil dos agentes colonizantes e dos indivíduos colonizados. Ao se tratar de bactérias gram-negativas e cavidade bucal este número é ainda mais reduzido. Por ser um tema novo e ainda pouco explorado, acredita-se que os dados gerados contribuem com informações importantes para a instituição de realização do estudo, como também para a pesquisa na microbiologia e na enfermagem em Goiás e em nível nacional.

A prevalência de portadores observada neste estudo, especialmente os portadores de *Enterobacteriaceae* multirresistentes, foi considerada elevada e bastante significativa. Tal achado alerta os gestores e os serviços de controle de infecção para a gravidade do problema e para a necessidade de mais estudos com foco no trabalhador, incluindo a investigação de outros sítios e de outros micro-organismos de relevância para as infecções nosocomiais.

Do ponto de vista microbiológico, as *Enterobacteriaceae* não são habitantes usuais da cavidade bucal, mas se destacam como agentes de infecções graves no ambiente da assistência à saúde. Os resultados obtidos permitiram descrever as características microbiológicas das enterobactérias agentes de colonização, elucidando as espécies e os mecanismos de resistência mais comuns, como a produção de β -lactamases. Estas informações são fundamentais para se conhecer o padrão dos micro-organismos circulantes na instituição investigada, bem como monitorar a emergência de novos patógenos e de resistência aos antimicrobianos.

Ainda foi possível verificar a presença de co-colonização por *Staphylococcus* e *Pseudomonas*. Além de *Enterobacteriaceae*, os trabalhadores também albergavam outras espécies bacterianas de interesse para as infecções nosocomiais. Este dado reforça que a cavidade bucal é um local propício à colonização de uma variedade de agentes com potencial patogênico, podendo atuar como reservatório e fonte de infecção.

Do ponto de vista epidemiológico, o rastreamento e identificação dos portadores, bem como o conhecimento acerca do seu perfil sócio-demográfico, profissional, doença/infecção e comportamental, permitirá a adoção de medidas mais efetivas que reduzam a transmissão e a disseminação de *Enterobacteriaceae* na instituição. Estes dados ainda são úteis ao aperfeiçoamento das práticas de atenção à saúde, tendo em vista os princípios da segurança.

Esta investigação também contribuiu para outras áreas relacionadas, como a saúde ocupacional. O estado portador gera agravos à saúde do trabalhador, uma vez que precede o desenvolvimento de doenças invasivas. Sendo assim, conhecer esta condição deve ser um direito do trabalhador e uma preocupação dos serviços de saúde. A condição de portador deve ser percebida como uma consequência da atividade laboral, mas como algo possível de ser prevenido e controlado por meio de medidas de intervenção. Mas para isso, é preciso antes identificar o problema e as variáveis relacionadas.

As políticas de erradicação do estado portador para trabalhadores das instituições de saúde não estão bem definidas. A prática da descolonização ainda não é um consenso. Porém, recomenda-se que os trabalhadores colonizados, sejam pelo menos inseridos em um programa de controle de infecção, que contemple o treinamento em equipe e o uso das medidas de precaução-padrão.

Conforme relatado por esta pesquisa, a colonização da cavidade bucal de trabalhadores da área da saúde e de apoio por *Enterobacteriaceae* é uma realidade preocupante e pouco esclarecida. Para que a cadeia de transmissão destas bactérias seja interrompida, as taxas de morbi-mortalidade diminuídas e os portadores tratados, muitas investigações ainda necessitam ser realizadas.

A partir dos resultados obtidos, novas questões foram identificadas. Cabe a todos os pesquisadores do tema discutir melhor a problemática, suas causas, consequências e relevância. Certamente, não se pode evitar totalmente os casos de colonização e infecção, bem como a multiplicação microbiana e o surgimento de resistência entre os micro-organismos. Entretanto, muito pode ser feito para diminuir a disseminação de bactérias e a emergência do fenômeno da multirresistência. Entre estas medidas está a vigilância acerca da colonização dos trabalhadores das instituições de saúde por bactérias de importância clínica e epidemiológica.

Apesar das contribuições, considera-se que o estudo apresenta algumas limitações. Este foi realizado em uma única instituição, ou seja, o tamanho da população foi pequeno quando comparado a de outros estudos sobre o mesmo tema. Os resultados refletem a realidade dos trabalhadores da instituição investigada, podendo não ser comum a outros serviços. Os dados sobre os trabalhadores são considerados subjetivos, pois foram obtidos na forma de relatos.

Além disso, não foram realizados testes estatísticos mais elaborados visando a associação dos fatores de risco para a colonização e os achados bacteriológicos. Também não foi realizada a caracterização genotípica das enterobactérias isoladas, para detectar os genes de resistência relacionados à produção de beta-lactamase AmpC, bem como o perfil genotípico de maior circulação entre a população investigada. A caracterização genotípica é uma proposta que faz parte de projetos futuros.

Os resultados apresentados por esta pesquisa serão apresentados aos gestores e à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar da Instituição, e à comunidade acadêmica para que a atenção ao trabalhador portador seja uma prioridade dos serviços de saúde. Esta abordagem pode ajudar, por exemplo, na elaboração de políticas e programas direcionados a problemática da colonização do trabalhador, com ênfase na prevenção e controle.

REFERÊNCIAS

Normas segundo o Guia para Apresentação de Trabalhos Acadêmicos na Universidade Federal de Goiás

AAS, J. A. et al. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 43, n. 11, p. 5721-5732, 2005.

ABREU, A. G. et al. Nosocomial infection and characterization of extended-spectrum β -lactamases-producing Enterobacteriaceae in northeast Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília, v. 44, n. 4, p. 441-446, 2011.

ACCG. Associação de Combate ao Câncer em Goiás. Goiânia, 2012. Disponível em: <http://www.accg.org.br/unidades/hospital-araujo-jorge/sobre-o-hospital-araujo-jorge>. Acesso em: 21 set. 2012.

ACEVEDO, A. C. Saliva and oral health. *Revista da Associação Médica Brasileira (online)*, São Paulo, v. 56, n. 1, p 2010, vol.56, n.1, p. 1-9, 2010.

ALBRICH W.C.; HARBARTH S. Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA? *The Lancet Infectious Disease*, Oxford, v. 8, n. 5, p. 289-01, 2008.

ALVAREZ, C.; LABARCA, J.; SALLES, M. Prevention strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. *The Brazilian Journal Infectious Disease*, Salvador, v. 14, n. 2, p. 107-08, 2010.

AL-ZAROUNI, Mansour et al. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in the United Arab Emirates. *Medical Principle and Practice*, Switzerland, v.17, p.32-36, 2008.

AMARAL, S. M.; CORTÊS, A. D. E. Q.; PIRES, F. R. Nosocomial pneumonia: importance of the oral environment. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Brasília, v. 35, p, 2009. 1116-1124, 2009.

AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of The Royal Society*, London, v. 289, n. 1036, p. 321-33, 1980.

AMERONGEN, A. V. N.; VEERMAN, E. C. I. Saliva – the defender of the oral cavity. *Oral Diseases*, London, v.8, p. 12-22, 2002.

AMES, N. J. et al. Effects of systematic oral care in critically ill patients: a multicenter study. *American Journal of Critical Care*, California, v. 20, n.5, p. 103-114, 2011.

ANDERSON, K. F. et al. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 45, n. 8, p.2723-2725, 2007.

ANVISA a. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. *Higienização das Mãos em Serviços de Saúde*. Brasília, DF, 2007. 52 p.

ANVISA b. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. *Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes*. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2007. 21 p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Detecção e identificação das bactérias de importância médica. In: ____. *Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde*. 1. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. Módulo V.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. *Sítio Cirúrgico: critérios nacionais de infecção relacionada à assistência à saúde*. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2009. 19 p.

ASKARIAN, M. et al. Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi Hospital, Shiraz, Iran. *International Journal of Infectious Diseases*, Oxford, v. 13, n. 5, p. 241-247, 2009.

AZARPAZHOOH, A.; LEAKE, J. L. Systematic review of the association between respiratory diseases and oral health. *Journal of Periodontology*, Chicago, v. 77, p. 1465-1482, 2006.

BAGATTINI, M et al. A nosocomial outbreak of *Serratia marcescens* producing inducible Amp C-type beta-lactamase enzyme and carrying antimicrobial resistance genes within a class 1 integron. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 56, p. 29-36, 2004.

BATISTA, T. F.; RODRIGUES, M. C. S. Vigilância de infecção de sítio cirúrgico pós-alta hospitalar em hospital de ensino do Distrito Federal, Brasil: estudo descritivo retrospectivo no período 2005-2010. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, Brasília, v. 21, n. 2, p. 253-264, 2012.

BEIRÃO, E. M. et al. Clinical and microbiological characterization of KPC producing *Klebsiella pneumoniae* infections in Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 1, n. 1, p.69-73, 2011.

BELLESO M. et al. Triagem para o tratamento ambulatorial da neutropenia febril. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São José do Rio Preto, v. 32, n. 5, p. 402-408, 2010.

BERRY, A. M et al. Systematic Literature Review of Oral Hygiene Practices for Intensive Care Patients Receiving Mechanical Ventilation. *American Journal of Critical Care*, California, v. 16, n.6, p. 552-562, 2007.

BIK, E. M. et al. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. *The ISME Journal*, London, v.4, p. 962-974, 2010.

BRADFORD, P. A. Extended-spectrum-b-lactamases in the 21st century: caracterizacao, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 14, p. 933-951, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 13 de maio de 1998. Seção I, p. 133-135.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica nº 1, de 2010. Medidas para identificação, prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde por microrganismos multirresistentes, Brasília, DF, p. 1-9, outubro. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 20, de 2011. Orientações de procedimentos relativos ao controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação, Brasília, DF, p. 1-5, maio. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196, de 1996. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos, Brasília, DF, p. 1-9, maio. 1996.

BRATU, S. et al. Detection of KPC carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. *Antimicrobial Agents Chemother*, Washington, v. 49, n. 3, p.776-778, 2005.

BROOKS, G. F. et al. *Microbiologia Médica: de Jawetz, Melnick e Adelberg*. 25. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. p. 813.

BUSH, K. Characterization of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 33, n. 3, p. 259–263, 1989.

BUSH, K.; JACOBY, G. A; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 39, n. 6, p. 1211-1233, 1995.

CALLISAYA, H. J.; SARMIENTO, Z.; CHOQUE, C. H. Prevalencia de Portadores Nasales de *Staphylococcus aureus* en el personal de limpieza del Hospital Obrero. *Biofarbo*, La Paz, v. 15, n.1, p.55-60, 2007.

CANOA, M. E. et al. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, Barcelona, v. 26, n. 4, p. 220-229, 2008.

CAREY, A. J.; SAIMAN, L.; POLIN, R. A. Hospital-Acquired Infections in the NICU: Epidemiology for the New Millennium. *Clinics in Perinatology*, Maryland Heights, v. 35, n. 1, p. 223-249, 2008.

CARVALHO, M. J. et al. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* in the saliva of health professionals. *Clinics*, São Paulo, v. 64, n. 4, p. 295-302, 2009.

CARVALHO, R. H.; FILHO, P. P. G. Epidemiologically relevant antimicrobial resistance phenotypes in pathogens isolated from critically ill patients in a brazilian university hospital. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.39, p.623-630, 2008.

CASTANHEIRA, M. et al. Antimicrobial Surveillance Program, Indian Hospitals: Report from the SENTRY OXA-181-Producing *Enterobacteriaceae* in 2006-2007. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 55, n. 3, p. 1274-1278, 2011.

CAVALCANTE, N. J. F.; PEREIRA, N. A. Saúde Ocupacional. In: FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; FILHO, N. R. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. Cap. 70.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. *Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*. Georgia: CDC, 2012. p. 29.

CHEN, L. F.; ANDERSON, D. J.; PATERSON, D. L. Overview of the epidemiology and the threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC) resistance. *Infection and Drug Resistance*, New Zealand, v. 5, p. 133-141, 2012.

CHIA, J. H. et al. Development of high-level carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* among patients with prolonged hospitalization and carbapenem exposure. *Microbial Drug Resistance*, New York, v. 16, n. 4, p. 317-325, 2010.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard*. CLSI Document M02-A10. Tenth Edition. Pennsylvania: CLSI, 2009. v. 29.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement*. CLSI Document M100-S21. Pennsylvania: CLSI, 2011. v. 31.

COELHO NETO, G. T. Detecção de enterobactérias em superfícies de uma unidade mista de saúde no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Revista de Investigação Biomédica do Uniceuma*, Maranhão, n.2, p.77-84, 2010.

COLOMBO; A. L. et al. Surveillance programs for detection and characterization of emergent pathogens and antimicrobial resistance. Results from the Division of Infectious Diseases, UNIFESP. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v. 81, n. 3, p. 571-587, 2009.

CRIELAARD, W. et al. Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health. *BMC Medical Genomics*, London, v. 4, n. 22, p. 1-13, 2011.

CRUZ, E. D. A. *Staphylococcus aureus e Staphylococcus aureus resistente à meticilina em trabalhadores de um hospital universitário: colonização e crenças em saúde*. 2008. 188f. Tese (Doutorado em Saúde Pública)-Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

CURTIS, L. T. Prevention of hospital-acquired infections: review of non-pharmacological interventions. *Journal of Hospital Infection*, London, v.69, n.3, p.204-219, 2008.

D'AGATA, E. M. C. et al. Efficacy of Infection Control Interventions in Reducing the Spread of Multidrug-Resistant Organisms in the Hospital Setting. *Plos One*, California, v. 7, n. 2, p. 1-11, 2012.

DANCER, S. J. The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 73, p. 378-385, 2009.

DEFEZ, C. et al. Additional direct medical costs of nosocomial infections: an estimation from a cohort of patients in a French university hospital. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 68, n. 2, p. 130-136, 2008.

DIENSTMANN, R. et al. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) em *Enterobacteriaceae* de ambiente hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, v. 46, n. 1, p. 23-27, 2010.

DURANDO, P. et al. Surveillance of hospital-acquired infections in Liguria, Italy: results from a regional prevalence study in adult and paediatric acute-care hospitals. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 71, n. 1, p. 81-87, 2009.

EDWARDS, J. R. et al. National Healthcare Safety Network (NHSN) report: data summary for 2006 through 2008. *American Journal of Infection Control*, New York, v. 37, n. 10, p. 783-805, 2009.

FERNANDES, A. T.; RIBEIRO FILHO, N. Infecção Hospitalar: desequilíbrio ecológico na interação do homem com sua microbiota. In: FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; FILHO, N. R. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. Cap. 9.

FERNANDES, A. T.; RIBEIRO FILHO, N.; BARROSO, E. A. R. Conceito, Cadeia Epidemiológica das Infecções Hospitalares e Avaliação Custo-Benefício das Medidas de Controle. In: FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; FILHO, N. R. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. Cap. 10.

FIJAN, S.; SOSTAR-TURK, S.; CENCIC, A. Implementing hygiene monitoring systems in hospital laundries in order to reduce microbial contamination of hospital textiles. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 61, p. 30-38, 2005.

FLETCHER, M. Hand hygiene and infection in hospitals: what do the public know; what should the public know? *Journal of Hospital Infection*, London, v.73, n.4, p.397-399, 2009.

FULLER C. et al. The Dirty Hand in the Latex Glove: A Study of Hand Hygiene Compliance When Gloves Are Worn. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Chicago, v. 32, n. 12, p.1194-1199, 2011.

GALES, A. C. et al. Antimicrobial Susceptibility of Gram-Positive Bacteria Isolated in Brazilian Hospitals Participating in the SENTRY Program (2005-2008). *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 13, n. 2, p. 90-98, 2009.

GARREC, H. et al. Comparison of Nine Phenotypic Methods for Detection of Extended-Spectrum-Lactamase Production by *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 49, n. 3, p. 1048-1057, 2011.

GOMES-FILHO, I. S.; PASSOS, J. S.; CRUZ, S. S. Respiratory disease and the role of oral bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, Norway, v. 2, p. 5811, 2010.

- GUIMARÃES, A. C. et al. Óbitos associados à infecção hospitalar, ocorridos em um hospital geral de Sumaré-SP, Brasil. *Revista Brasileira de Enfermagem*, Brasília, v. 64, n. 5, p. 864-869, 2011.
- HAFFAJEE, A. D. et al. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiology and Immunology*, Massachusetts, v. 2, p.196-205, 2008.
- HAMDAN-PARTIDA, A.; SAINZ-ESPUÑES, T.; BUSTOS-MARTÍNEZ, J. Characterization and Persistence of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from the Anterior Nares and Throats of Healthy Carriers in a Mexican Community. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 48, n. 5, p. 1701-1705, 2010.
- HANSON, N. D.; SANDERS, C. C. Regulation of inducible AmpC-lactamase expression among Enterobacteriaceae. *Current Pharmaceutical Design*, Schiphol, v.5, p. 881-894, 1999.
- HIDRON, A. I. et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Chicago, v. 29, n. 11, p. 996-1011, 2008.
- HORAN, T. C.; ANDRUS, M.; DUDECK, M. A. CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *American Journal of Infection Control*, New York, v. 36, n. 5, p. 309-332, 2008.
- HUGOSON, A.; NORDERYD, O. Has the prevalence of periodontitis changed during the last 30 years? *Journal of Clinical Periodontology*, Massachusetts, v. 35, p. 338-345, 2008.
- ISTURIZ, R. Global resistance trends and the potential impact on empirical therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Maryland Heights, v. 32, n. 4, 2008.
- IVANOVA, D. et al. Extended-spectrum b-lactamase-producing *Serratia marcescens* outbreak in a Bulgarian hospital. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 70, p. 60-65, 2008.
- JACK, G. W.; RICHMOND, M. H. Comparative amino acid contents of purified beta-lactamases from enteric bacteria. *FEBS Letters*, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 30-32, 1970.
- JACOBY, G. A. AmpC β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 22, p.161-182, 2009.
- JACOBY, G. A.; WALSH, K. E.; WALKER, V. J. Identification of extended-spectrum, AmpC and carbapenem-hydrolyzing-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* by disk tests. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 44, n. 6, p. 1971–1976, 2006.
- JORGE, A. O. C. *Microbiologia Bucal*. 3. ed. São Paulo: Santos, 2007. p. 112.
- KILPATRICK, C; PITTET , D. Who save lives: clean your hands global annual campaign. *Infection*, New York, v. 39, p. 93-95, 2011.
- KLEVENS R. M. et al. Estimating Health Care-Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals, 2002. *Public Health Report*, Washington, v. 122, n. 2, p. 160-166, 2007.

- KOLENBRANDER, P. E. et al. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance. *Nature Reviews Microbiology*, London, v. 8, p. 471-480, 2010.
- LEISHMAN, S. J.; DO, H. L.; FORD, P. J. Cardiovascular disease and the role of oral bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, Norway, v. 2, p. 5781, 2010.
- LIMA, A. B. M. et al. Nasopharyngeal Gram-negative bacilli colonization in brazilian children attending day-care centers. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.40, p.1032-1035, 2009.
- LOPES, L. K. O. et al. *Manual de precauções: hospital de doenças tropicais Dr. Anuar Auad*. 1 ed. Goiânia: Editora da PUC Goiás, 2010. 88 p.
- MADIGAN, M. T. et al. *Microbiologia de Brock*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 1160.
- MARKOGIANNAKIS H. A. et al. A Infections in a surgical intensive care unit of a university hospital in Greece. *International Journal of Infectious Diseases*, Oxford, v. 13, p. 145-153, 2009.
- MARRA, A. R. et al. Health and economic outcomes of the detection of *Klebsiella pneumoniae*-produced extended-spectrum- β -lactamase (ESBL) in a hospital with high prevalence of this infection. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v.10, p.56-60, 2006.
- MARRA, A. R. et al. Nosocomial bloodstream infections in brazilian hospitals: analysis of 2,563 bases from a prospective nationwide surveillance study. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, n. 49, v. 5, p. 1866-1871, 2011.
- MARSH, P.; MARTIN, M. V. *Microbiologia Oral*. 4. ed. São Paulo: Santos, 2005. p. 192.
- MARTINS, I. S. et al. Endemic extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* at an intensive care unit: risk factors for colonization and infection. *Microbial Drug Resistance*, New York, v. 12, n.1, p. 50-58, 2006.
- MCLAWS, M. L.; TAYLOR, P. The Hospital Infection Standardised Surveillance (HISS) programme: analysis of a two-year pilot. *Journal of Hospital Infection*, London, v. 53, n. 4, p. 260-268, 2003.
- MENDES, A. V. A.; SAPOLNIK, R.; MENDONÇA, N. Novas diretrizes na abordagem clínica da neutropenia febril e da sepse em oncologia pediátrica. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, v. 83, n. 2, p. 54-63, 2007.
- MENDES, C. M. F. et al. *Microbiologia Clínica: 156 perguntas e respostas*. 1. ed. São Paulo: Sarvier, 2005. p. 346.
- MEURMAN, J. H. Oral microbiota and cancer. *Journal of Oral Microbiology*, Norway, v. 2, p. 5195, 2010.
- MEYER, G.; PICOLI, S. U. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, v. 47, n. 1, p. 25-3, 2011.

- MOHAMUDHA, P. R.; HARISH, B. N. ; PARIJA, S. C. AmpC beta lactamases among Gram negative clinical isolates from a tertiary hospital, South India. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.41, n. 3, p. 596-602, 2010.
- MOLAND, E. S. et al. Prevalence of Newer-Lactamases in Gram-Negative Clinical Isolates Collected in the United States from 2001 to 2002. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 44, n. 9, p. 3318-3324, 2006.
- MONTEIRO, J. et al. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 53, n. 1, p. 333-334, 2009.
- MOURA, J. P. et al. A colonização dos profissionais de enfermagem por *Staphylococcus aureus*. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, Ribeirão Preto, v.19, n. 2, p. 325-331, 2011.
- MOURA, J. P. et al. Resistência à mupirocina entre isolados de *Staphylococcus aureus* de profissionais de enfermagem. *Acta Paulista de Enfermagem*, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 399-403, 2010.
- MOURA, M. E. B. et al. Infecção hospitalar no olhar de enfermeiros portugueses: representações sociais. *Texto & Contexto Enfermagem*, Florianópolis, v. 17, n. 4, p. 743-749, 2008.
- MOURA, M. E. B. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. *Revista Brasileira de Enfermagem*, Brasília, v. 60, n. 4, p. 416-421, 2007.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S; MICHAEL, A. P. *Microbiologia Médica*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 948.
- NAUNTOFTE, B.; TENOVUO, J.; LAGERLÖF, F. Secreção e Composição da Saliva. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. *Cárie Dentária: A Doença e seu Tratamento Clínico*. 1. ed. São Paulo: Livraria Santos, 2005. Cap. 2.
- NCBI. National Center for Biotechnology Information. Maryland, 2012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>. Acesso em: 24 out. 2012.
- NCIH. Núcleo de Controle de Infecção Hospitalar. Hospital Regional de Taguatinga. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. *Controle de bactéria multirresistente*. Distrito Federal: Núcleo de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Regional de Taguatinga, 2009. 16 p.
- NEJAD, S. B. Health-care-associated infection in Africa: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*, Geneva, v. 89, n.10, p. 757-765, 2011.
- NILSSON, P.; RIPA, T. *Staphylococcus aureus* throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 44, n. 9, p. 3334-3339, 2006.
- NOAKES, T. D. et al. Semmelweis and the aetiology of puerperal sepsis 160 years on: an historical review. *Epidemiology & Infection*, Cambridge, v. 136, n. 1, p. 1-9, 2008.

- NUNKOO, B.; PICKLES, H. Infection prevention and control in general practice. *Nursing Standard*, Middlesex, v. 23, n. 13, p. 44-48, 2008.
- OLIVEIRA, A. C.; KOVNER, C. T.; SILVA, R. S. Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, Ribeirão Preto, n.18, v.2, p. 97-104, 2010.
- OLIVEIRA, M. B.; FERNANDEZ, B. P. M. Hempel, Semmelweis e a verdadeira tragédia da febre puerperal. *Scientiae studia/Revista Latino-Americana de Filosofia e História da Ciência*, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 49-79, 2007.
- OPLUSTIL, C. P. et al. *Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica*. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2004. p. 340.
- OPLUSTIL, C. P. et al. *Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2010. p. 530.
- PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended-spectrum b-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Review*, Washington, v. 18, n. 4, p. 657-686, 2005.
- PAVEZ, M. et al. Emergence of carbapenemresistant *Escherichia coli* producing CMY-2-type AmpC betalactamase in Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, United Kingdom, v. 57, n. 12, p. 1590-1592, 2008.
- PEIRANO, G. et al. Carbapenem hydrolyzing β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, London, v. 63, p. 265-268, 2009.
- PEREIRA, M. S. et al. Avaliação de serviços de apoio na perspectiva do controle de infecção hospitalar. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, Goiânia, v.1, n.1, p. 1-10, 1999.
- PIE'BOJI, J. G. et al. Extended-Spectrum-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Yaounde, Cameroon. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 43, n. 7, p. 3273-3277, 2005.
- PINCZOWSKI, H. Radioterapia e Paciente Oncológico. In: FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; FILHO, N. R. *Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área de Saúde*. São Paulo: Editora Atheneu, 2000. Cap. 51.
- PODSCHUN, R.; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 11, n. 4, p. 589-603, 1998.
- PRADO, M. A. *Staphylococcus aureus e Staphylococcus aureus meticilina resistentes, (MRSA) em profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais*. 2006. 186f. Tese (Doutorado em Saúde Pública)-Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.
- PRADO-PALOS, M. A et al. Atuação de enfermagem em Unidades de Terapia Intensiva: implicações para disseminação de micro-organismo multirresistente. *Revista Panamericana de Infectologia*, Montivideo, v. 12, n. 1, p.37-42, 2010.

PRADO-PALOS, M. A et al. Microbiota das mãos de mães e de profissionais de saúde de uma maternidade de Goiânia. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, Goiânia, v. 11, n. 3, p.573-578, 2009.

QUEIROZ, G. M. de et al. Multirresistência microbiana e opções terapêuticas disponíveis. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 132-138, 2012.

RICHMOND, M. H.; SYKES, R. B. The beta-lactamases of gram-negative bacteria and their possible physiological role. *Advances in Bacterial Respiratory Physiology*, Amsterdam, v. 9, p. 31-88, 1973.

RISHI, H.; DHILLON, P.; CLARK, J. ESBLs: A Clear and Present Danger? *Critical Care Research and Practice*, New York, v. 2012, p. 1-11, 2012.

ROCHA, C. G. B. B.; REIS, C.; PIMENTA, F. C. Contagem e identificação de microrganismos na saliva de portadores do vírus da imunodeficiência humana antes e após higienização e bochecho com anti-sépticos. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 125-133, 2006.

RODRÍGUEZ-BAÑO, J. et al. Surveillance and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spanish hospitals. A GEIH-SEIMC and SEMP-SPH consensus document. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, Barcelona, v. 26, n. 5, p. 285-98, 2008.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. *Resistência Bacteriana: Interpretando o Antibiograma*. 1. ed. Editora: Atheneu, 2005. p.182.

ROSSI, F.; FURTADO, G. H.; ANDRADE, S. S. *Medidas de Prevenção e Controle da Resistência Microbiana e Programa de Uso Racional de Antimicrobianos em Serviços de Saúde*. 1. ed. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2007, p. 180.

SACHDEO, A.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Biofilms in the edentulous oral cavity. *The International Journal of Prosthodontics*, Chicago, v. 17, p. 348-356, 2008.

SADER, H. S. et al. Pathogen Frequency and Resistance Patterns in Brazilian Hospitals: Summary of Results from Three Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Brazilian Journal Infection Diseases*, Salvador, v. 5, p.200-214, 2001.

SANTOS, A. M. R. et al. As representações sociais da infecção hospitalar elaboradas por profissionais da enfermagem. *Revista Brasileira de Enfermagem*, Brasília, v. 61, n. 4, p. 441-446, 2008.

SANTOS, S. L. V. et al. Infecções Associadas ao Cuidado em Saúde em um Hospital Oncológico Brasileiro: análise de cinco anos. *Revista Eletrônica Trimestral de Enfermeria*, Murcia, v. 11, n. 1, 2012.

SANTOS, S. S. F. et al. Prevalence and *in vitro* sensibility of the Enterobacteriaceae and pseudomonads isolated from the oral cavity and periodontal pockets in patients with chronic periodontitis. *PGRO - Pós-Graduação em Revista-Odontologia*, São José dos Campos, v.5, n.2, p. 74-83, 2002.

SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Presença de Enterobacteriaceae e Pseudomonadaceae na cavidade bucal humana. *Revista de Odontologia da UNESP*, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 473-484, 1998.

SCHOEVAERDTS, D. et al. Clinical profiles of patients colonized or infected with extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae isolates: a 20 month retrospective study at a Belgian University Hospital. *BMC Infectious Diseases*, London, v. 12, p.11-12, 2011.

SCOTT, R. D. *The direct medical costs of healthcare-associated infections in US hospitals and the benefits of prevention*. Georgia: Centers for Disease Control and Prevention, 2009.

SEDGLEY, C. M.; SAMARANAIK, L. P. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, Massachusetts, v.23, p.104-113, 1994.

SHIMADA, M. H. et al. Emprego de saliva na determinação do risco às doenças periodontais: aspectos microbiológicos e clínicos. *Revista de Odontologia da UNESP*, Araraquara, v. 37, n.2, p. 183-189, 2008.

SIEGEL, J. D. et al. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *American Journal of Infection Control*, New York, v. 35, n. 10, p. 165-193, 2007.

SILVA E. C. B. F. et al. Epidemiological surveillance and susceptibility of *Staphylococcus aureus* among healthcare workers to a reference hospital: a preliminary assessment . *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 69, n.1, p. 126-130, 2010.

SILVA, E. C. B. F. et al. Colonização pelo *Staphylococcus aureus* em profissionais de enfermagem de um hospital escola de Pernambuco. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 132-137, 2012.

SIMOR A. E.; DANEMAN N. *Staphylococcus aureus* decolonization as a prevention strategy. *Infectious Disease Clinics of North America*, Maryland Heights, v. 23, n. 1, p. 133-51, 2009.

SRINIVASAN, A.; PATEL, J. B. Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing organisms: an ounce of prevention really is worth a pound of cure. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, Chicago, v. 29, p. 1107–1109, 2008.

SUN, J. et al. Clinical investigation for infections caused by Enterobacteriaceae in intensive care unit of Anhui, China. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 16, n.1, p. 109-110, 2012.

SYDNOR, E. R. M.; PERL T. M. Hospital Epidemiology and Infection Control in Acute-Care Settings. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 24, n.1, p. 141–173, 2011.

TAVARES, W. *Antibióticos e Quimioterápicos para o Clínico*. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009. p. 599.

THOMSON, K. S. Extended-Spectrum-Lactamase, AmpC and Carbapenemase Issues. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 48, n. 4, p. 1019-1025, 2010.

THOMSON, K. S.; SANDERS, C. C. Detection of Extended-Spectrum 3-Lactamases in Members of the Family Enterobacteriaceae: Comparison of the Double-Disk and Three-Dimensional Tests. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, p. 1877-1882, 1992.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 964.

URSELL, L. K. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Colorado, v. 129, n. 5, p. 1204-1208, 2012.

VALLE, A. R. M. C. et al. Representações sociais da biossegurança. *Escola Anna Nery Revista de Enfermagem*, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 304-309, 2008.

VASQUES, M. R. G. et al. β -lactamase producing enterobacteria isolated from surveillance swabs of patients in a cardiac intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v.15, n.1, p. 28-33, 2011.

VEIGA, A. R. *Condições de trabalho, fatores de risco e problemas de saúde percebidos pelo trabalhador de enfermagem hospitalar*. 2007. 120f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)-Faculdade de Enfermagem, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

VILEFORT, L. O. R. *Staphylococcus sp. em profissionais de áreas de apoio de uma instituição oncológica da região Centro-Oeste*. 2011. 112f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)-Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

VILLEGAS, M. V. et al. First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 50, n. 8, p. 2880-2882, 2006.

VILLEGAS, M. V. et al. Increasing prevalence of extended-spectrum-betalactamase among Gram-negative bacilli in Latin America – 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, Salvador, v. 15, n. 1, p. 34-39, 2011.

VINCENT, J. L. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *The Journal of the American Medical Association*, Chicago, n. 302, v. 21, p. 2323-2329, 2009.

VONBERG, R. P. et al. How often do asymptomatic healthcare workers cause methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreaks? A systematic evaluation. *Infection Control Hospital Epidemiology*, Chicago, v. 27, n. 10, p.1123-27, 2006.

VOVKO, P. et al. Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term-care facility in Slovenia. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, Chicago, v. 26, n. 21, 2005.

WHO. World Health Organization. *Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2007-2008*. Geneva: WHO, 2007. 26p.

WHO. World Health Organization. *Who Guidelines on Hand Higiene in Health Care. First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safe Care*. Geneva: WHO, 2009. 263p.

WINN, W. C. et al. *Koneman, Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1565.

YIGIT, H. et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 45, n. 4, p. 1151-1161, 2001.

ZAGORIANOU, A. et al. Microbiological and molecular characteristics of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* endemic in a tertiary Greek hospital during 2004–2010. *Eurosurveillance*, Paris, v.17, n. 7, p. 1-7, 2012.

ZAURA, E. et al. Defining the healthy ‘‘core microbiome’’ of oral microbial communities. *BMC Microbiology*, London, v. 9, n. 29, p. 1-12, 2009.

ZILBERSTEIN, B. et al. Clinical sciences digestive tract microbiota in healthy volunteers. *Clinics*, São Paulo, v. 62, n. 1, p. 47-54, 2007.

ANEXOS

Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética

Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo 3 - Normas da Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

Anexo 4 – Normas da Revista Ciência & Saúde Coletiva

PROTOCOLO CEPACCG Nº 048/08

Goiânia, 01/04/2009

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): Prof.ª Dr.ª Maríneia Aparecida do Prado**TÍTULO INICIAL:** *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes (MRSA) em clientes e profissionais de saúde de um hospital oncológico da região centro-oeste.**TÍTULO MODIFICADO:** Microrganismos isolados na saliva de profissionais de saúde e áreas de apoio de um hospital oncológico da Região Centro Oeste do Brasil.**Área Temática:** Grupo III**Local de Realização:** Hospital Araújo Jorge/ACCG.**DOCUMENTOS ANALISADOS:**

1. Adendo ao protocolo, solicitando autorização para que o estudo seja desenvolvido apenas com a participação dos profissionais da saúde, lotados nas diferentes unidades de tratamento ambulatorial para análise (identificar e determinar o perfil de suscetibilidade e fatores de virulência) de outros microrganismos.
2. Protocolo modificado em seus objetivos, metodologia, materiais e métodos e título do estudo.

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás, após o análise, aprova os documentos acima referidos, e os mesmos foram considerados em acordo com os princípios éticos vigentes, estando, portanto, autorizada as modificações propostas.


Dra. Juliana Castro Dourado Pinzi
Coordenadora do CEP/ACCG



ASSOCIAÇÃO DE COMBATE AO CÂNCER EM GOIÁS

(61) 3878-7000 | 3243-7000
Rua 239, nº 206, St. Universitário
Goiânia - Goiás - Brasil - CEP 74.605-070
www.accg.org.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável, em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvidas sobre seus direitos como participante nessa pesquisa você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás, no telefone (62) 32437050.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: Microrganismos isolados na saliva de profissionais de saúde e áreas de apoio de um Hospital Oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil.

Pesquisador Responsável: Profa Dra Marinésia Aparecida Prado Palos.

Telefone para contato: (62) 3209-6280 R.207, (62) 36265967, (62) 81389009, (62) 3209-6108, (62) 3243-7165.

Pesquisadores participantes: Profa Dra Fabiana Cristina Pimenta, Profa Ms Lara Stefania Netto de O. Leão, Profa Dra Adenícia C. Silva e Souza, Profa Dra Anaclara Ferreira Veiga Tipple, Profa Ms Silvana Lima Vieira dos Santos, Profa Ms Regiane Aparecida dos Santos Soares Barreto, Ms. Ana Beatriz Mori Lima, Profa Ms Karina Suzuki, Ms Edgar Berquó Peleja, Enf. Msd. Larissa de Oliveira Rocha. Acadêmicas de iniciação científica: Dayane de Melo Costa, Kelcy Anne Santana e Silva, Nádia Ferreira Gonçalves Ribeiro, Mayara Regina Pereira da Silva, Thays Kato de Souza, Emilli Feirosa de Oliveira, Gabriella Ribeiro de Paula.

A infecção associada aos cuidados em saúde (IACS) pode causar ao cliente pior prognóstico, estadia aumentada, uso de maior número de drogas, entre outras complicações. Dentre os microrganismos com maior predisposição a multirresistência encontram-se bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e alguns fungos. Apesar desse fenômeno ser um grande desafio para a saúde mundial, observa-se que as normas preconizadas pelo Ministério da Saúde, acerca do controle dessa infecção nem sempre são implementadas de forma efetiva. Dentre elas, a adesão às medidas de precaução-padrão pelos profissionais de saúde e das áreas de apoio, destaca-se como umas das mais importantes para o controle de IACS. Entretanto, a obediência desses profissionais a essas medidas, e de maneira habitual a higienização das mãos no cotidiano de seu trabalho, ainda não tem sido valorizadas por alguns profissionais. Por esse motivo, tais microrganismos podem ser disseminados, no ambiente nosocomial, principalmente pelas mãos desses profissionais, agravando, assim, o flagelo das infecções intra e extra-hospitalares. Esse comportamento coloca-os na condição de veiculadores desses microrganismos, favorecendo a disseminação cruzada.

Assim, na condição de docente e controlador de IACS, hoje, devo ter o compromisso de colaborar na formação do profissional consciente, multiplicador e facilitador das ações apreendidas ao longo do tempo, no ensino e na pesquisa. É com essa compreensão que objetivou-se caracterizar a distribuição dos

microrganismos isolados na saliva de profissionais de saúde e áreas de apoio de um Hospital Oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil.

Os resultados dessa pesquisa poderão ser conhecidos pelos telefones de contato acima citados.

- ◆ Não há riscos, prejuízos, desconforto, lesões que podem ser provocados pela pesquisa, não havendo necessidade de indenização ou ressarcimento de despesas.
- ◆ Não há benefícios pessoais decorrentes da participação na pesquisa, a participação ajudará na comprovação da hipótese estabelecida.
- ◆ A participação dos sujeitos será apenas na coleta e no preenchimento do questionário, estando garantido o sigilo das informações obtidas e o direito de retirar o consentimento a qualquer momento.

Profª Drª Marinésia Aparecida Prado Palos

Código _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG/ CPF/ n. ° de matrícula _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **Microrganismos isolados na saliva de profissionais de saúde e áreas de apoio de um Hospital Oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil**, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador Profa Dra Marinésia Aparecida Prado Palos sobre os objetivos da pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido o direito de retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Goiânia, _____ / _____ / _____

Assinatura

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

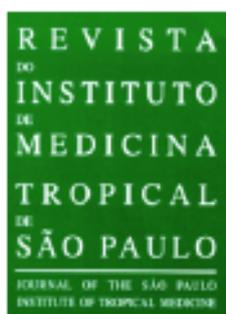
Nome: _____ Assinatura: _____

Setor: _____

Pesquisador (a): Marinésia Aparecida Prado Palos

Coren-Go: 66313

Fone: (62) 3209-6280 R: 207



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Objetivo e política editorial](#)
- [Artigos originais](#)
- [Comunicações, Relatórios preliminares e técnicos e Cartas ao editor](#)
- [Artigos de revisão](#)

ISSN 0036-4665 versão impressa
ISSN 1678-9946 versão online

Objetivo e política editorial

A **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** é publicada integralmente em inglês e é dedicada à pesquisa dos diferentes aspectos das doenças transmissíveis. A revista aceita trabalhos originais apenas em inglês sobre todas as doenças transmissíveis.

Além dos trabalhos originais, cada fascículo pode apresentar comunicações, relatórios preliminares de pesquisa, relatórios técnicos, artigos de revisão, correspondência e outros trabalhos de pesquisadores brasileiros e internacionais. A revista também publica resumos de livros lançados recentemente e enviados para a revista por seus autores ou pela editora, como também relatórios de eventos.

A Comissão Editorial da revista, assim como especialistas brasileiros e internacionais analisam criticamente cada manuscrito de forma rigorosa, com o objetivo de manter o alto padrão da publicação.

Artigos originais

O texto deve ser precedido por um resumo de até 200 palavras, e apresentar as seguintes seções: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências. Todos os artigos devem apresentar resumos em inglês e em português ou espanhol, com título em português ou espanhol. As páginas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos.

As tabelas e ilustrações devem ser mencionadas no texto, assim como deve ser indicada sua posição aproximada à margem do texto. As tabelas devem ter títulos específicos e breves. Desenhos, assim como fotografias, fotomicrografias, micrografias etc., devem ser planejadas para corresponder ao tamanho de uma ou duas colunas de texto. Imagens devem ser enviadas preferencialmente em formato TIF.

Se houverem figuras coloridas o autor será convidado a contribuir com os custos de reprodução.

A lista de referências, incluindo apenas as que realmente foram mencionadas no texto ou nas tabelas, deve ser ordenada alfabeticamente e numerada consecutivamente com algarismos arábicos. A citação da referência no texto deve se reportar a esses números, e apenas excepcionalmente ao autor e ano. A apresentação

deve seguir as seguintes especificações:

Artigos em revistas

Sobrenomes e iniciais de todos os autores, título completo, título da revista, volume, primeira e última páginas e ano de publicação.

Livros

Sobrenomes e iniciais de todos os autores ou editores, título completo, lugar de publicação, editora e ano. Capítulo e páginas citadas. Quando vários trabalhos publicados no mesmo ano pelo mesmo autor ou grupo de autores forem citados, eles devem ser diferenciados através de letras a, b, c.

Comunicações, Relatórios preliminares e técnicos e Cartas ao editor

Esses trabalhos são reservados para a divulgação de novas observações de importância crítica, não devendo exceder duas ou três páginas datilografadas, incluindo as ilustrações e referências.

Relatórios preliminares de pesquisa serão publicados no fascículo seguinte, depois da aprovação pelos revisores.

Artigos de revisão

Serão publicados artigos de revisão a convite da Comissão Editorial, elaborados por pesquisadores que tenham apresentado contribuições substanciais a uma área específica do campo das doenças transmissíveis.

Entretanto, um artigo de revisão pode ser submetido ao Editor, podendo ser publicado depois de julgado apropriado pelos revisores.

Um artigo de revisão deve ser apresentado no mesmo formato de um artigo original, exceto as seções como introdução, material e métodos, resultados e discussão. Contudo, deve apresentar resumos em inglês e em português.

Artigos de revisão, comunicações, relatórios preliminares e técnicos e correspondência publicados em um fascículo recente da revista devem ser usados como modelos para apresentação.

[\[Home\]](#) [\[Sobre esta revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470
05403-000 São Paulo SP - Brazil
Tel. / Fax: +55 11 3062-2174



revimtsp@edu.usp.br

Ciência & Saúde Coletiva INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ISSN 1413-8123 versão impressa
ISSN 1678-4561 versão online

- [Objetivo e política editorial](#)
- [Seções da publicação](#)
- [Apresentação de manuscritos](#)

Objetivo e política editorial

Ciência & Saúde Coletiva publica debates, análises e resultados de investigações sobre um tema específico considerado relevante para a saúde coletiva; e artigos de discussão e análise do estado da arte da área e das subáreas, mesmo que não versem sobre o assunto do tema central. A revista, de periodicidade bimestral, tem como propósitos enfrentar os desafios, buscar a consolidação e promover uma permanente atualização das tendências de pensamento e das práticas na saúde coletiva, em diálogo com a agenda contemporânea da Ciência & Tecnologia.

A revista C&SC adota as "Normas para apresentação de artigos propostos para publicação em revistas médicas", da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas, cuja versão para o português encontra-se publicada na Rev Port Clin Geral 1997, 14:159-174. O documento está disponível em vários sítios na World Wide Web, como por exemplo, www.lcmje.org ou www.apmq.pt/document/71479/450062.pdf. Recomenda-se aos autores a sua leitura atenta.

Seções da publicação

Editorial: responsabilidade do(s) editor(es). Este texto deve ter, no máximo, 3.500 caracteres.

Debate: encomendado pelos editores, trata-se de artigo teórico pertinente ao tema central da revista, que receberá críticas/comentários assinados de até seis especialistas, também convidados, e terá uma réplica do autor principal. O artigo deve ter, no máximo, 40.000 caracteres; os textos dos debatedores e a réplica, máximo de 10.000 caracteres cada um.

Artigos Temáticos: revisão crítica ou resultado de pesquisas de natureza empírica, experimental ou conceitual sobre o assunto em pauta no número temático. Os textos de pesquisa não deverão ultrapassar os 40.000 caracteres; os de revisão, 50.000 caracteres.

Artigos de Temas Livres: não incluídos no conteúdo focal da revista, mas voltados para pesquisas, análises e avaliações de tendências teórico-metodológicas e conceituais da área ou das subáreas. Os números máximos de caracteres são os mesmos dos artigos temáticos.

Opinião: texto que expresse posição qualificada de um ou vários autores ou entrevistas realizadas com especialistas no assunto em debate na revista; deve ter, no máximo, 20.000 caracteres.

Resenhas: análise crítica de livro relacionado ao campo temático da revista, publicado nos últimos dois anos, com, no máximo, 10.000 caracteres. Os autores devem encaminhar à Secretaria da Revista uma reprodução de alta definição da capa do livro resenhado.

Cartas: crítica a artigo publicado em número anterior da revista ou

nota curta, descrevendo criticamente situações emergentes no campo temático (máximo de 7.000 caracteres).

Observação: O limite máximo de caracteres considera os espaços e inclui texto e bibliografia; o resumo/abstract e as ilustrações (figuras e quadros) são considerados à parte.

Apresentação de manuscritos

1. Os originais podem ser escritos em português, espanhol, francês e inglês. Os textos em português e espanhol devem ter título, resumo e palavras-chave na língua original e em inglês. Os textos em francês e inglês devem ter título, resumo e palavras-chave na língua original e em português. Não serão aceitas notas de pé-de-página ou no final do artigo.
2. Os textos têm de ser digitados em espaço duplo, na fonte Times New Roman, no corpo 12, margens de 2,5 cm, formato Word e encaminhados apenas pelo endereço eletrônico (www.cienciaesaudecoletiva.com.br) segundo as orientações do menu Artigos e Avaliações.
3. Os artigos submetidos não podem ter sido divulgados em outra publicação, nem propostos simultaneamente para outros periódicos. Qualquer divulgação posterior do artigo em outra publicação deve ter aprovação expressa dos editores de ambos os periódicos. A publicação secundária deve indicar a fonte da publicação original.
4. As questões éticas referentes às publicações de pesquisa com seres humanos são de inteira responsabilidade dos autores e devem estar em conformidade com os princípios contidos na Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1989, 1996 e 2000).
5. Os artigos devem ser encaminhados com as autorizações para reproduzir material publicado anteriormente, para usar ilustrações que podem identificar pessoas e para transferir direitos de autor e outros documentos que se façam necessários.
6. Os conceitos e opiniões expressos nos artigos, bem como a exatidão e a procedência das citações são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).
7. Os artigos publicados serão de propriedade da revista C&SC, ficando proibida a reprodução total ou parcial em qualquer meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem a prévia autorização da Revista.
8. Os textos são em geral (mas não necessariamente) divididos em seções com os títulos Introdução, Métodos, Resultados e Discussão, às vezes, sendo necessária a inclusão de subtítulos em algumas seções. Os títulos e subtítulos das seções não devem estar organizados com numeração progressiva, mas com recursos gráficos (caixa alta, recuo na margem, etc.).
9. O **resumo/abstract**, com no máximo 1.400 caracteres com espaço (incluindo palavras-chave/key words), deve explicitar o objeto, objetivos, metodologia, abordagem teórica e resultados do estudo ou investigação. Logo abaixo do resumo os autores devem indicar até no máximo seis palavras-chave/key words. Chamamos a atenção para a importância da clareza e objetividade na redação do resumo, que

certamente contribuirá no interesse do leitor pelo artigo, e das palavras-chave, que auxiliarão a indexação múltipla do artigo.

Autoria

1. As pessoas designadas como autores devem ter participado na elaboração dos artigos de modo que possam assumir publicamente a responsabilidade pelo seu conteúdo. A qualificação como autor deve pressupor: a) concepção e o delineamento ou a análise e interpretação dos dados, b) redação do artigo ou a sua revisão crítica, e c) aprovação da versão a ser publicada.

2. No final do texto devem ser especificadas as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo (ex. LM Fernandes trabalhou na concepção e na redação final e CM Guimarães, na pesquisa e na metodologia).

Nomenclaturas

1. Devem ser observadas rigidamente as regras de nomenclatura biológica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas.

2. Devem ser evitadas abreviaturas no título e no resumo.

3. A designação completa à qual se refere uma abreviatura deve preceder a primeira ocorrência desta no texto, a menos que se trate de uma unidade de medida padrão.

Ilustrações

1. O material ilustrativo da revista *C&SC* compreende tabela (elementos demonstrativos como números, medidas, percentagens, etc.), quadro (elementos demonstrativos com informações textuais), gráficos (demonstração esquemática de um fato e suas variações), figura (demonstração esquemática de informações por meio de mapas, diagramas, fluxogramas, como também por meio de desenhos ou fotografias). Vale lembrar que a revista é impressa em uma cor, o preto, e caso o material ilustrativo esteja em cor, será convertido para tons de cinza.

2. O número de material ilustrativo deve ser de, no máximo, cinco por artigo, salvo exceções referentes a artigos de sistematização de áreas específicas do campo temático, quando deverá haver negociação prévia entre editor e autor(es).

3. Todo o material ilustrativo deve ser numerado consecutivamente em algarismos arábicos, com suas respectivas legendas e fontes, e a cada um deve ser atribuído um breve título. Todas as ilustrações devem ser citadas no texto.

4. As tabelas e os quadros devem ser confeccionados no mesmo programa utilizado na confecção do artigo (Word).

5. Os gráficos devem estar no programa Excel, e os dados numéricos devem ser enviados, de preferência, em separado no programa Word ou em outra planilha como texto, para facilitar o recurso de copiar e colar.

6. Os arquivos das figuras (mapa, por ex.) devem ser salvos no (ou

exportados para o) formato Illustrator ou Corel Draw. Estes formatos conservam a informação VETORIAL, ou seja, conservam as linhas de desenho dos mapas. Se for impossível salvar nesses formatos; os arquivos podem ser enviados nos formatos TIFF ou BMP, que são formatos de imagem e NÃO conservam sua informação vetorial, o que prejudica a qualidade do resultado. Se usar o formato TIFF ou BMP, salvar na maior resolução (300 ou mais DPI) e maior tamanho (lado maior = 18cm). O mesmo se aplica para o material que estiver em fotografia. Caso não seja possível enviar as ilustrações no meio digital, deve ser enviado o material original em boas condições para reprodução

Agradecimentos

1. Quando existirem, devem ser colocados antes das referências bibliográficas.
2. Os autores são responsáveis pela obtenção de autorização escrita das pessoas nomeadas nos agradecimentos, dado que os leitores podem inferir que tais pessoas subscrevem os dados e as conclusões.
3. O agradecimento ao apoio técnico deve estar em parágrafo diferente daqueles a outros tipos de contribuição.

Referências

1. As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. No caso de as referências serem de mais de dois autores, no corpo do texto deve ser citado apenas o nome do primeiro autor seguido da expressão *et al.*

2. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos, conforme exemplos abaixo:

ex. 1: ... Outro indicador analisado foi o de Imaturidade do PSF¹¹ ...

ex. 2: ... Como alerta Maria Adélia de Souza⁴, a cidade...

As referências citadas somente nos quadros e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto.

3. As referências citadas devem ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos *Requisitos uniformes para manuscritos apresentados a periódicos biomédicos* (<http://www.lcmjle.org>).

4. Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/>).

5. O nome de pessoa, cidades e países devem ser citados na língua original da publicação.

Exemplos de como citar referências

Artigos em periódicos

1. Artigo padrão (inclua até 6 autores, seguidos de *et al.* se exceder a esse número)

recursos para a saúde: a experiência no Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev C S Col* 2005; 10(2):275-86.

Maximiano AA, Fernandes RO, Nunes FP, Assis MP, Matos RV, Barbosa CGS, et al. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. *Rev C S Col* 2005; 10(2):483-91.

2. Instituição como autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:282-4

3. Sem indicação de autoria

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

4. Número com suplemento

Duarte MFS. Maturação física: uma revisão de literatura, com especial atenção à criança brasileira. *Cad Saúde Pública* 1993; 9(Supl 1):71-84.

5. Indicação do tipo de texto, se necessário

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347:1337.

Livros e outras monografias

6. Indivíduo como autor

Cecchetto FR. *Violência, cultura e poder*. Rio de Janeiro: FGV; 2004.

Minayo MCS. *O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde*. 8ª ed. São Paulo: Hucitec; Rio de Janeiro: Abrasco; 2004.

7. Organizador ou compilador como autor

Bosi MLM, Mercado FJ, organizadores. *Pesquisa qualitativa de serviços de saúde*. Petrópolis: Vozes; 2004.

8. Instituição como autor

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama). *Controle de plantas aquáticas por meio de agrotóxicos e afins*. Brasília: DILIQ/Ibama; 2001.

9. Capítulo de livro

Sarcinelli PN. A exposição de crianças e adolescentes a agrotóxicos. In: Peres F, Moreira JC, organizadores. *É veneno ou é remédio. Agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 43-58.

10. Resumo em Anais de congressos

Kimura J, Shibasaki H, organizadores. Recent advances in clinical neurophysiology. *Proceedings of the 10th International Congress of*

EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

11. Trabalhos completos publicados em eventos científicos

Coates V, Correa MM. Características de 462 adolescentes grávidas em São Paulo. In: *Anais do V Congresso Brasileiro de adolescência*; 1993; Belo Horizonte. p. 581-2.

12. Dissertação e tese

Carvalho GCM. *O financiamento público federal do Sistema Único de Saúde 1988-2001* [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública; 2002.

Gomes WA. *Adolescência, desenvolvimento puberal e sexualidade: nível de informação de adolescentes e professores das escolas municipais de Feira de Santana - BA* [dissertação]. Feira de Santana (BA): Universidade Estadual de Feira de Santana; 2001.

Outros trabalhos publicados

13. Artigo de jornal

Novas técnicas de reprodução assistida possibilitam a maternidade após os 40 anos. *Jornal do Brasil* 2004 Jan 31; p. 12

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. *The Washington Post* 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

14. Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

15. Documentos legais

Lei nº 8.080 de 19 de Setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 1990; 19 set.

Material no prelo ou não publicado

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Engl J Med*. In press 1996.

Cronenberg S, Santos DVV, Ramos LFF, Oliveira ACM, Maestrini HA, Calixto N. Trabeculectomia com mitomicina C em pacientes com glaucoma congênito refratário. *Arq Bras Oftalmol*. No prelo 2004.

Material eletrônico

16. Artigo em formato eletrônico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[about 24 p.]. Available from:

<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Lucena AR, Velasco e Cruz AA, Cavalcante R. Estudo epidemiológico do tracoma em comunidade da Chapada do Araripe - PE - Brasil. *Arg Bras Otolmol* [periódico na Internet]. 2004 Mar-Abr [acessado 2004 Jul 12];67(2): [cerca de 4 p.]. Disponível em:
<http://www.abonet.com.br/abo/672/197-200.pdf>

17. Monografia em formato eletrônico

CDI, clinical dermatology illustrated [CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2ª ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

18. Programa de computador

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

[\[Home\]](#) [\[Sobre esta revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [licença Creative Commons](#)

Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO)
Av. Brasil, 4036 - sala 700 Manguinhos
21040-361 Rio de Janeiro RJ - Brazil
Tel.: +55 21 2290-4893 / 3882-0151



revscol@fiocruz.br

APÊNDICES

Apêndice 1 – Formulário



Universidade Federal de Goiás
Faculdade de Enfermagem
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

Código: _____

Tel. Resid.: _____

Cel: _____

Outro: _____

Título: Microrganismos isolados na saliva de profissionais de saúde e áreas de apoio de um hospital oncológico da Região Centro-Oeste do Brasil.

Data: / /	DTENT copiar
Turno de coleta dos dados: (1) Matutino (2) Vespertino (3) Noturno	TURCD ()

Caracterização da instituição:

HAJ/ACCG (1)	INSTHAJ (1)
Setor de trabalho: (1) CIH (2) SFM (3) DDM (4) SND (5) SPR (6) SEM (7) SPA (8) P1A (9) PIC (10) P2A (12) P3A (13) P3BC (15) SCC (16) PIB (18) SRP (19) SAM (20) SRT (21) SQT (22) SPC (23) SIG (24) SED (25) SRF (26) SQI (27) TMO (28) SHL (29) DEH (30) STI (34) SCT	STTRAB ()

Caracterização do profissional:

Categoria profissional: (1) Médico (2) Enfermeiro (3) Téc. de Enfermagem (4) Aux. de enfermagem (5) Farmacêutico (6) Fisioterapeuta (7) Nutricionista (8) Psicólogo (9) Odontólogo (10) SHL (11) outros: _____	CATPROF () OUTCATPROF copiar
Escolaridade: (1) ≤ Fundamental (2) Médio (3) ≥ Superior	ESCOL ()
Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: ____ anos	DTNASC () IDADE ()
Sexo: (1) Feminino (2) Masculino	SEXO ()
Data admissão na unidade ____/____/____	DTADM ()
Tempo de atuação na instituição: ____ meses	TEMPATUMES
Função Atual _____	FUNAT copiar
Turno de trabalho: (1) Matutino (2) Vespertino (3) Integral diurno (4) Integral noturno	TURTRAB ()
Quantas horas você permanece neste hospital semanalmente? (1) < 40 horas (2) ≥ 40 horas _____	HsTRAB () QHsTRAB ()
Você trabalha em outra instituição de saúde? (1) Não (2) Sim	OUTINST ()
Caso afirmativo, cite o (os) local (is): _____	QOUTINST copiar
Caso afirmativo permanece quantas horas neste(s) serviço(s) semanalmente? (1) < 40 horas (2) ≥ 40 horas _____ (9) Não trabalha em outra instituição de saúde	HsOUTINST () AC40Hs ()

Você apresenta quadros de:

Faringites? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	QDFARIN ()
Amigdalites? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	QDAMIG ()
Simusites? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	QDSINUS ()
Outros:	QOUT copiar

Higiene oral:

Você tem o hábito de escovar os dentes? (1) Não (2) Sim	ESCDENT ()
Caso afirmativo quantas vezes ao dia: (1) ≤ 3 vezes ao dia (2) > 3 vezes ao dia	QESCDENT ()
Você faz uso de anti-séptico oral? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	SEPORAL ()
Caso afirmativo qual(is)? (1) Cepacol (2) Listereline (3) Anapion (4) Plax (5) Outros: _____	QSEPORAL () OUSEPORAL copiar
Quantas vezes ao dia? (1) ≤ 3 vezes ao dia (2) > 3 vezes ao dia (9) Não uso anti-séptico oral	XSEPORAL ()
Você faz uso de prótese dentária? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	PRODENT ()
Caso afirmativo, há quanto tempo?	XPRODENT copiar
Você faz uso de aparelho ortodôntico? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	ORTDENT ()
Caso afirmativo, há quanto tempo?	XORTDENT copiar

Uso de antimicrobiano (ATB)?

Você fez uso de antimicrobianos recentemente? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	USOATB ()
Caso afirmativo:	
Quando? _____	QdUSOATB ()
Qual (is)? _____	QATB ()
Durante quanto tempo? _____	QtATB ()
Você faz uso de antimicrobianos por conta própria? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	ATBPROP ()
Caso afirmativo, com que frequência? (1) Sempre (2) Esporadicamente	QATBPROP ()
Qual (is)? _____	QUAISATB copiar

Uso de corticóides (CTD)?

Você fez uso de corticóide recentemente? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	USOCTD ()
Caso afirmativo:	
Quando? _____	QdUSOCTD ()
Qual (is)? _____	QCTD ()
Durante quanto tempo? _____	QtCTD ()
Você faz uso de corticóide por conta própria? (1) Não (2) Sim (3) Não informado	CTDPROP ()
Caso afirmativo, com que frequência? (1) Sempre (2) Esporadicamente	QCTDPROP ()
Qual (is)? _____	QUAISCTD copiar

Preparo/Administração de ATB

Você prepara e administra antibiótico? (1) Não (2) Sim (3) Não se aplica (4) Não informado	PREATB ()
Caso afirmativo, com que frequência? (1) Sempre (2) Esporadicamente	QdPREATB ()

Considerando o fato de estar cuidando de um cliente portador de microrganismo resistente aos antimicrobianos, faz você higienizar suas mãos com a mesma frequência, de quando realiza o cuidado de um cliente não portador? (1) Não (2) Sim (4) Não informado Por quê? _____	HMMMR () PQHMMMR copiar
---	------------------------------------

Microrganismos multirresistentes

Você tem conhecimento sobre microrganismos resistentes aos antimicrobianos? (1) Não (2) Sim (4) Não informado	CONMMR ()
Caso afirmativo, onde recebeu essas informações? _____ Por quem? _____	INFMMR copiar QUEMMR copiar
Um <i>profissional de saúde</i> colonizado por microrganismo resistente aos antimicrobianos oferece algum risco para a equipe de saúde e para os clientes? (1) Não (2) Sim (4) Não informado	RISCMMR ()
Que tipo de risco? _____	QRISCMMR copiar
Existe algum <i>profissional de saúde</i> mais susceptível a colonização por microrganismo resistente aos antimicrobianos? (1) Não (2) Sim (4) Não informado Caso afirmativo, qual (is)? _____	PROF#MMR () QPROF#MMR copiar
Você tem medo de contrair microrganismo resistente aos antimicrobianos? (1) Não (2) Sim (4) Não informado . Por quê? _____	MEDOMMR () PQMEDOMMR copiar
Como podemos nos prevenir de contrair microrganismos resistentes aos antimicrobianos? _____	COMOPREV copiar
Quanto à gravidade das doenças, como você considera as causadas por microrganismo resistentes aos antimicrobianos? Assinale as alternativas que considerarem corretas: (para conhecimento do digitador: se marcado= não n° 1, se sim marcado = sim n°2, se 4= não informado) (1) são como quaisquer outras (2) são de difícil tratamento (3) estão associadas ao maior índice de mortalidade (4) o tratamento pode ser inexistente (5) outros, cite-os _____	GRAVMMR () OUTGRAVMMR copiar
Descreva as medidas preventivas para diminuir a disseminação de microrganismos, que devem ser empregadas nestas situações: _____ _____ _____	DESCREMEDPREV copiar

Durante a sua jornada de trabalho, você: (para conhecimento do digitador: se marcado= não n° 1, se sim marcado = sim n°2, se 4= não informado) (1) faz uso de anéis (6) faz uso de aliança (10) faz uso de relógio (2) faz uso de pulseiras (7) faz uso de brincos longos (11) faz uso de colar (es) (3) faz uso de unhas grandes (8) faz uso de uniforme limpo (12) faz uso de alimentos (4) tem o hábito de roer as unhas (9) mantém os cabelos presos (5) faz uso do mesmo uniforme que utilizou em outro hospital (13) Faz uso piercing, caso afirmativo, em qual(is) local(is): _____	COMPJTRAB () LOCAPIER copiar
Em sua opinião, o fato de outros profissionais não aderirem eventualmente ou freqüentemente às normas de segurança no trabalho, influencia no seu comportamento e/ou no dos seus colegas? (1) Não (2) Sim (4) Não informado Explique: _____	OUTNAOADE () EXPNAOADE copiar
A adequação às medidas de biossegurança específicas para microrganismos resistentes aos antimicrobianos promove benefícios para você? (1) Não (2) Sim (4) Não informado Explique quais benefícios: _____	BENEFMB () EXPBENF copiar

Quais fatores que facilitam a sua adesão às medidas de biossegurança? _____	FACIADES BIO copiar
Quais fatores que dificultam ou impedem a sua adesão às medidas de biossegurança? _____	DIFIADES BIO copiar
Deseja acrescentar algo? _____ _____	ACRECENT copiar

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

O TCLE foi assinado antes participação no estudo? (1) Sim (2) Não	ASSTCLE ()
Data em que o termo foi assinado: / /	DTTCLE ()
Detalhes do procedimento de assinatura do TCLE (dúvidas esclarecidas, etc) _____	DETCLE copiar

Nome do entrevistador: _____
Assinatura: _____

COLETA DE MATERIAL (SALIVA)

Nº do código do profissional: _____	NCODPROF
Data da coleta: / /	DTCOL ()
Hora da coleta:	HsCOL ()
Quantidade de saliva coletada: _____ ml	MISAL ()

Nome do responsável pela coleta: _____
Assinatura: _____

Nome do digitador: _____