

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

SANDRA REGINA BIN SILVA

Higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados
ou colonizados com acinetobacter

Maringá
2014

SANDRA REGINA BIN SILVA

Higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados
ou colonizados com acinetobacter

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.
Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Celso Luiz Cardoso.

Maringá
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

S586h Silva, Sandra Regina Bin
Higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados ou colonizados com acinetobacter. / Sandra Regina Bin Silva. -- Maringá, 2014.
64 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Celso Luiz Cardoso.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2014.

1. Higienização das mãos - Hospital. 2. Higienização das mãos - Pacientes infectados - Colonizados - *Acinetobacter* spp. 4. Higienização de mãos - Antissépticos. I. Cardoso, Celso Luiz, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 21.ed. 613

ECSL-001567

FOLHA DE APROVAÇÃO

SANDRA REGINA BIN SILVA

Higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados
ou colonizados com acinetobacter

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Celso Luiz Cardoso
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Bronharo Tognim
Universidade Estadual de Maringá

Prof^a. Dr^a. Magda Lucia Félix de Oliveira
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 28 de março de 2014.

Local de defesa: Sala 112 – B, Bloco T 20, Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos Bruno e Clara,
minhas motivações para
continuar sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me abençoar em todos os momentos da vida, me fortalecendo para superar as dificuldades nas horas incertas.

A Nossa Senhora, por me amparar em seu seio maternal nas horas de angustia e solidão e por me abrandar as veredas.

A meus pais, por me ensinarem o valor do cuidado, pelo amor, apoio e incentivo incondicional durante toda minha vida e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem nas dificuldades. Amo vocês.

Aos meus filhos, motivo e sentido da minha vida, por suportarem minha ausência e mesmo assim permanecerem firmes ao meu lado. Amo vocês.

Ao meu esposo, pela presença constante. Você é o meu sol. Obrigada.

A todos os meus familiares, que estiveram sempre comigo, vocês serão sempre o meu esteio e meu porto seguro.

Ao meu orientador, Prof. Celso Luiz Cardoso, por acreditar em mim e me mostrar os caminhos da ciência, pelo exemplo de dedicação ao ensino, pela paciência em me ensinar os segredos da microbiologia. Imensamente obrigada.

A Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, pelo alto nível de seu corpo docente.

A Diretoria de Enfermagem do Hospital Universitário Regional de Maringá pelo apoio e incentivo.

Aos colegas e amigos do Hospital Universitário Regional de Maringá, que sempre me incentivaram, em especial a equipe de enfermagem da UTI-Adulto, sem vocês teria sido muito mais difícil o caminho.

Ao meu colega Dario Bordas Garcia, pelo apoio, amizade e companheirismo durante toda esta etapa de minha vida. A minha gratidão e meu carinho.

Aos voluntários de pesquisa, meus colegas de trabalho que de maneira fantástica colaboraram com suas mãos, meu especial obrigada, sempre estarão no meu coração.

Aos pacientes, minha razão de sempre querer saber mais para melhor atendê-los. Obrigada pela confiança ao longo destes anos.

Aos professores e funcionários do Setor de Microbiologia (Bloco I-90) por fazerem mais agradáveis os meus dias, pelo incentivo nas horas difíceis, pela colaboração e amizade. Obrigada de todo coração.

Aos bolsistas e alunos que foram indispensáveis no desenvolvimento dos experimentos.

EPÍGRAFE

Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que triste os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!

(Mario Quintana)

Higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados ou colonizados com *Acinetobacter*.

RESUMO

Introdução. A higienização das mãos é a ação primária no controle das infecções causadas por patógenos hospitalares multirresistentes. Entretanto, a eficácia dos agentes comumente utilizados na higienização das mãos tem sido pouco investigada na prática hospitalar.

Objetivo. Comparar a eficácia do sabão líquido não medicamentoso, clorexidina, álcool etílico e álcool gel na higienização das mãos contaminadas com *Acinetobacter* spp.

Métodos. O estudo foi realizado com 12 pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp. multirresistentes, internados na Unidade de Terapia Intensiva Adulto de um hospital ensino no período de maio de 2011 a setembro de 2012. O banho de leito e a troca de curativos foram os procedimentos escolhidos no estudo como modelo de contaminação das mãos (N=44). A amostragem das mãos dos profissionais de enfermagem foi feita por impressão e deslizamento dos dedos na superfície ágar MacConkey, nos seguintes momentos: A1, após higiene das mãos antes do procedimento; A2, após calçar luvas; A3, mãos enluvadas após o cuidado; A4, mãos enluvadas após a higienização com os produtos testados; A5, mãos após remoção das luvas; A6, após a higiene final das mãos com água e sabão. As placas com ágar MacConkey foram incubadas em aerobiose na estufa a 37°C durante 24-48 horas. As propriedades morfotintórias das células de pelo menos um tipo diferente de colônia por placa foram investigadas pela coloração de Gram. A identificação e o antibiograma das colônias selecionadas para o estudo foram realizados com auxílio de MicroScan®. Um estudo de laboratório, utilizando um quadrado Latino 5x5, para avaliar a eficácia do sabão, clorexidina, álcool gel e álcool etílico na remoção de um isolado clínico de *A. baumannii* multirresistente das mãos artificialmente contaminadas foi também investigado.

Resultados. Houve crescimento bacteriano em 15% (76/528) das placas usadas na amostragem das mãos. A partir do estudo preliminar (morfologia colonial e Gram) 119 colônias típicas, suspeitas de pertencerem a *Acinetobacter* e atípicas foram selecionadas para identificação. *Acinetobacter baumannii* contribuiu com 66 (55%) dos isolados, *Enterobacteriaceae* com 28 (23%), *Pseudomonas aeruginosa* com 16 (13%), *Acinetobacter* spp. com 7 (6%) e outros com 2 (1,6%). Em A3, *A. baumannii* foi detectado em 42 das 44 (95,45%) amostragens. Em A4, o álcool gel removeu *A. baumannii* das mãos enluvadas após o cuidado de 11 (92%) pacientes, o álcool etílico e o sabão, em 10 (83%) pacientes e a

clorexidina em apenas dois (17%) dos 12 pacientes. Em A5, foram isolados *Acinetobacter* spp. em duas (4,5%) das 44 amostragens. O estudo de laboratório mostrou que o álcool gel e o álcool etílico apresentaram maior eficácia do que a clorexidina e o sabão na remoção de *A. baumannii* das mãos artificialmente contaminadas ($P < 0,05\%$).

Conclusão. Os resultados mostraram que o álcool gel, o álcool etílico e o sabão foram os produtos mais efetivos na remoção de amostras multirresistentes de *A. baumannii* das mãos contaminadas na prática hospitalar. O estudo de laboratório confirmou a superioridade do álcool gel e álcool etílico na antissepsia das mãos artificialmente contaminadas com *A. baumannii* multirresistente.

Palavras-chave: *Acinetobacter* spp.; antissépticos; higiene das mãos; sabão.

Hand hygiene in the care of patient infected or colonized with *Acinetobacter*.

ABSTRACT

Introduction. Hand hygiene is a primary action in the control of infections caused by multidrug-resistant nosocomial pathogens. However, the efficacy of agents commonly used in hand hygiene in hospital practice has been little investigated.

Objectives. To compare the efficacy of hand hygiene with plain liquid soap, chlorhexidine, ethyl alcohol and alcohol gel for removing *Acinetobacter* spp from contaminated hands.

Methods. The study was carried out with 12 patients admitted to the ICU of a teaching hospital, colonized or infected with multidrug-resistant *Acinetobacter* spp, from May 2011 to September 2012. Bed bath and changing of bandages were the care procedures chosen for the study as the experimental model of hand contamination (N=44). Hand sampling was made by gentle pressure and slipping of fingers on a MacConkey agar plate surface, on the following moments: A1, after hand hygiene before the care procedure; A2, with gloves on; A3, with gloves on after the care procedure; A4, with gloves on after hand hygiene with the products tested; A5, hands after gloves removal; A6, after final hand hygiene with water and soap. The plates with MacConkey agar were incubated at 37°C, in aerobiosis, during 24-48 hours. Morphologic and staining properties of the cells of at least one different type of colony per plate were investigated by the Gram's stain method. The identification and antibiogram of the colonies selected for study were performed by the MicroScan® identification system. A laboratory study, using a Latin square 5x5, to assess the efficacy of soap, chlorhexidine and alcoholic preparations for removing a clinical isolate of a multidrug-resistant *A. baumannii* from artificially contaminated hands, was also performed.

Results. There was bacterial growth in 15% (76/528) of the plates used for the hand sampling. From the preliminary study (colonial morphology and Gram's stain) 119 typical and atypical colonies were selected for identification. *Acinetobacter baumannii* contributed with 66 (55%) of the isolates, *Enterobacteriaceae* with 28 (23%), *Pseudomonas aeruginosa* with 16 (13%), *Acinetobacter* spp with 7 (6%), and others with 2 (1.6%). In A3, *A. baumannii* was detected in 42 of the 44 (95.45%) samplings. In A4, alcohol gel removed *A. baumannii* from gloved hands after contact with 11 (92%) patients, ethyl alcohol and soap did it after contact with 10 (83%) patients, and chlorhexidine in only two (17%) out of 12 patients. In A5, *Acinetobacter* spp were isolated in two (4.5%) out of 44 samplings. The laboratory study showed that

alcohol gel and ethyl alcohol presented greater efficacy than chlorhexidine and soap for removing *A. baumannii* from hands artificially contaminated ($p < 0.05\%$).

Conclusion. The results showed that alcohol gel, ethyl alcohol and soap were the most effective products in removing multidrug-resistant *A. baumannii* isolates from contaminated hands in hospital practice. The laboratory study confirmed the superiority of alcohol gel and ethyl alcohol in the antiseptics of hands contaminated with multidrug-resistant *A. baumannii*.

Keywords: *Acinetobacter* spp; antiseptics, hand hygiene; soap.

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulo I) e da publicação científica (Capítulo II):

American Journal of Infection Control (AJIC)

(manuscrito 1) disponível em:

<http://www.elsevier.com/journals/ajic-american-journal-of-infection-control/0196-6553/guide-for-authors>

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I	14
1.1. Higiene das Mãos	14
1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i>	16
1.3. Justificativas.....	17
1.4. Objetivos.....	18
1.5. Referências.....	19
2. CAPÍTULO II	21
2.1. Manuscrito: Eficácia do sabão, clorexidina e álcool na higienização das mãos contaminadas no cuidado de pacientes infectados ou colonizados com <i>Acinetobacter</i> spp.	21
2.1.1. Página Título	22
2.1.2. Resumo	23
2.1.3. Introdução	27
2.1.4. Métodos	28
2.1.5. Resultados.....	38
2.1.6. Discussão	41
2.1.7. Referências.....	46
2.1.9. Anexo 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido 1.....	61
2.1.10. Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido 2.....	62
3. CAPÍTULO III	63
3.1. Conclusões.....	64
3.2. Perspectivas futuras.....	64

1. CAPÍTULO I

1.1. HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS

A higienização das mãos é considerada o procedimento isolado mais importante na prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde (i.e., infecções hospitalares) porque muitas destas infecções são causadas por microrganismos transmitidos pelas mãos contaminadas dos profissionais da saúde, principalmente quando a higiene das mãos é omitida, negligenciada ou realizada com produtos inadequados (BOYCE & PITTET, 2002; BRASIL, 2009; WHO, 2009).

No Brasil, as recomendações do Ministério da Saúde para a higienização das mãos nos serviços de saúde preconizam a lavagem das mãos durante 40 a 60 segundos com água e sabão líquido não medicamentoso (i.e., higienização simples das mãos) ou com antissépticos associados a detergentes, conhecidos como agentes degermantes, como por exemplo, clorexidina, povidona-iodo (i.e., higienização antisséptica das mãos); ou com preparações alcoólicas por 20 a 30 segundos (i.e., fricção antisséptica das mãos) (BRASIL, 2007, 2009).

As mãos são consideradas adequadamente higienizadas quando são friccionadas em todas as suas faces, espaços interdigitais, articulações, unhas, extremidades dos dedos e punhos (BRASIL, 2009). Para isso, a técnica deve ser realizada em uma sequência de sete passos, incluindo: (1) fricção das palmas das mãos entre si; (2) fricção da palma da mão direita contra o dorso da mão esquerda (e vice-versa), entrelaçando os dedos; (3) fricção das palmas das mãos entre si com os dedos entrelaçados; (4) fricção do dorso dos dedos de uma mão com a palma da mão oposta (e vice-versa), segurando os dedos; (5) fricção do polegar direito, com o auxílio da palma da mão esquerda (e vice-versa), utilizando movimento circular; (6) fricção das polpas digitais e unhas da mão esquerda contra a palma da mão direita (e vice-versa), fazendo um movimento circular; (7) fricção do punho esquerdo com auxílio dos dedos e palma da mão direita (e vice-versa), com movimentos circulares (BRASIL, 2007).

Atualmente, os produtos a base de álcool são os agentes preferidos para a antisepsia das mãos porque eles reduzem a contagem bacteriana das mãos de forma mais eficaz do que o sabão comum e antisséptico degermante. Apresentam maior facilidade de uso, requerem menos tempo de ação e causam menos irritação e ressecamento da pele do que a lavagem com água e sabão. Entretanto, quando as mãos estiverem visivelmente sujas ou contaminadas com proteínas ou fluidos orgânicos, elas obrigatoriamente devem ser lavadas com água e sabão ou

com preparação antisséptica degermante, porque o álcool não tem efeito na remoção de sujidade ou matéria orgânica (VOSS & WIDMER, 1997; BOYCE & PITTET, 2002; PITTET & BOYCE, 2003; BRASIL 2009; WHO, 2009).

A higiene das mãos é a ação primária para reduzir as infecções relacionadas à assistência à saúde e a transmissão cruzada (i.e., a transferência de microrganismos entre pacientes) de patógenos hospitalares multirresistentes. A via de transmissão de patógenos de um paciente a outro através das mãos dos profissionais da saúde requer uma sequência de eventos que ocorre em cinco etapas: (i) os microrganismos estão presentes na pele do paciente ou são encontrados em fomites no ambiente de assistência imediatamente próximo ao paciente; (ii) os microrganismos devem, obrigatoriamente, ser transferidos para as mãos dos profissionais da saúde; (iii) os microrganismos precisam sobreviver nas mãos dos profissionais da saúde por pelo menos vários minutos; (iv) a higiene ou antissepsia das mãos realizada pelos profissionais da saúde deve, obrigatoriamente, ser inadequada ou omitida completamente, ou o agente usado para a higiene das mãos ser inapropriado; (v) as mãos dos profissionais da saúde precisam entrar em contato direto com outro paciente, ou com um fomite em contato direto com o paciente (PITTET *et al.*, 2006; WHO, 2009).

Considerando o risco de transmissão de microrganismos durante o cuidado ao paciente, a Organização Mundial da Saúde recomenda que a higienização das mãos dos profissionais da saúde deve ser realizada em cinco momentos (Figura 1): (i) antes do contato com o paciente; (ii) antes da realização de procedimento asséptico; (iii) após risco de exposição a fluidos corporais; (iv) após o contato com o paciente; (v) após contato com áreas próximas ao paciente (WHO, 2009).

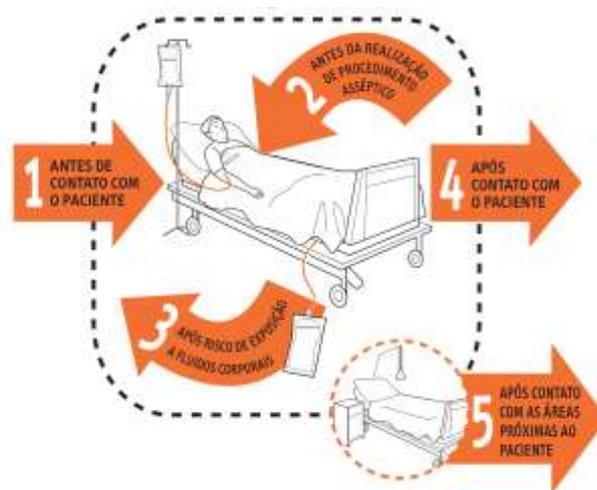


Figura 1. Os cinco momentos para a higienização das mãos (adaptado de Organização Mundial da Saúde – WHO, 2009)

Na prática hospitalar, a contaminação das mãos dos profissionais da saúde pode ocorrer durante o contato direto com o paciente infectado ou colonizado ou por contato indireto com objetos ou equipamentos (e.g., estetoscópio, bomba de infusão, barra protetora da cama) no ambiente próximo ao paciente (BRASIL, 2009; OTTER *et al.*, 2011).

As mãos, assim contaminadas, podem transmitir patógenos hospitalares multirresistentes, tais como estafilococos (“methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”, MRSA), enterococos (“vancomycin-resistant enterococci”, VRE) enterobactérias (amostras produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado –“Expanded spectrum beta-lactamases”, ESBL) e bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Acinetobacter* produtoras de carbapenemases (BOYCE & PITTET, 2002; BRASIL, 2009; OTTER, *et al.*, 2011).

Nas últimas décadas, as bactérias do gênero *Acinetobacter*, particularmente *Acinetobacter baumannii*, tornaram-se importantes patógenos hospitalares devido a crescente frequência e gravidade de infecções causadas em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo e sua ampla resistência aos principais antibióticos usados na prática hospitalar (BERGOGNE-BÉRÉZIN & JOLY-GUILLOU, 1991; BERGOGNE-BÉRÉZIN & TOWNER, 1996; DIJKSHOORN *et al.*, 2007).

1.2. ACINETOBACTER BAUMANNII

O gênero *Acinetobacter* é um bacilo gram-negativo, anaeróbio estrito, não fermentador, catalase positiva, oxidase negativa, imóvel, que isolado do solo, água, vegetais, animais e humanos (HOUANG *et al.*, 2001, ASH *et al.*, 2002). É cultivado a 37°C em laboratório, *in vitro*, apresentando colônias planas, muitas vezes mucóides com 1,5 a 3 mm de diâmetro e de coloração branco-acinzentada. No gênero *Acinetobacter* spp. atualmente são conhecidas 31 espécies, das quais 17 raramente são isoladas de seres humanos (PELEG *et al.*, 2008).

O complexo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* é composto por *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter* genoespécies 3 e 13TU, sendo *Acinetobacter baumannii* a espécie de maior importância clínica. A identificação das diferentes espécies é necessária, pois algumas espécies do complexo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* raramente causam infecção, todavia o *Acinetobacter baumannii* é extremamente patogênico. (PELEG *et al.*, 2008; GIAMARELLOU *et al.*, 2008).

O *Acinetobacter baumannii* é ubiqüitário, sobrevive no ambiente hospitalar por longos períodos e em condições ambientais adversas, sendo encontrado em ventiladores mecânicos,

máquinas de diálise, na pele e mucosas dos profissionais de saúde e dos doentes, desinfetantes, maçanetas das portas e grades das camas (BERNARDS *et al.*, 2004; JOLY-GUILLOU *et al.*, 2005; LANDMAN *et al.*, 2002; FALAGAS *et al.*, 2008; SAALFELDS *et al.*, 2009, SILVA *et al.*, 2012).

A capacidade de sobrevivência destas bactérias por longos períodos de tempo no ambiente hospitalar facilita sua transmissão entre pacientes via equipe de saúde ou materiais inanimados. (GETSCHELL-WHITE *et al.*, 1989; BERGOGNE-BÉRÉZIN & TOWNER, 1996; WENDT *et al.*, 1997).

O *Acinetobacter baumannii*, também possui uma grande capacidade para adquirir mecanismos de resistência aos antibióticos, o que pode justificar a sua disseminação global. (DIJKSHOORN *et al.*, 2005).

A disseminação de *Acinetobacter baumannii* pelas mãos contaminadas dos profissionais de saúde em surtos de infecção hospitalar tem sido demonstrada em vários estudos (BUXTON *et al.*, 1978; ALLEN & GREEN, 1987; GETSCHELL-WHITE *et al.*, 1989; SAKATA *et al.*, 1989; GO *et al.*, 1994; BERGOGNE-BÉRÉZIN & TOWNER, 1996). *Acinetobacter* spp., com múltipla resistência aos antimicrobianos, também são encontrados como patógenos endêmicos em muitos hospitais (BERGOGNE-BÉRÉZIN & TOWNER, 1996; MANUEL *et al.*, 2003; BARBOLLA *et al.*, 2008; SAALFELD *et al.*, 2009).

No Hospital Universitário de Maringá (HUM), um estudo mostrou que um genótipo de *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenêmicos e sensível apenas a polimixina e tigeciclina é endêmico na Unidade de Terapia Intensiva Adulto (UTI-A), sendo isolado em 12% dos pacientes internados e encontrado nas grades dos leitos, monitor cardíaco, ventilador mecânico, sítios da pele dos pacientes, luvas e objetos utilizados na assistência ao paciente. Este microrganismo ainda persiste na UTI-A, apesar da adoção de medidas de prevenção e controle específicas, com ênfase nas técnicas de desinfecção e antisepsia, higiene das mãos, uso de luvas e critérios rigorosos de isolamento (SAALFELD *et al.*, 2009).

1.3. JUSTIFICATIVA

A higienização das mãos é considerada o procedimento isolado mais importante na prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde (i.e., infecções hospitalares) porque muitas destas infecções são causadas por microrganismos transmitidos pelas mãos contaminadas dos profissionais da saúde, principalmente quando a higiene das mãos é omitida, negligenciada ou realizada com produtos inadequados (BOYCE & PITTET, 2002; BRASIL, 2009; WHO, 2009).

Apesar da importância da higienização das mãos na prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde causadas por *Acinetobacter* spp.; não encontramos na literatura brasileira estudos sobre a ação do sabão, antissépticos degermantes ou de preparações alcoólicas na remoção de *Acinetobacter* spp. das mãos dos profissionais de saúde contaminadas durante a prática do cuidado ao paciente infectado ou colonizado com *Acinetobacter* spp.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. GERAL

Comparar a eficácia do sabão líquido não medicamentoso, clorexidina, álcool etílico e álcool gel na higienização das mãos contaminadas com *Acinetobacter* spp.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar a contaminação das mãos dos profissionais de saúde durante a prática do cuidado ao paciente infectado ou colonizado por *Acinetobacter* spp. em uma unidade de terapia intensiva adulto.

Comparar a eficácia do sabão líquido não medicamentoso, da clorexidina a 2% e de preparações alcoólicas, tendo como princípio ativo o álcool etílico 70% (p/p), na higienização das mãos enluvadas do pessoal de enfermagem durante os cuidados a pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp.

Investigar a contaminação das mãos dos profissionais de saúde, após a remoção das luvas, no cuidado a pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp.

Caracterizar as propriedades morfotintoriais (coloração de Gram) e identificar, através do uso de testes bioquímicos, os gêneros e espécies dos principais isolados bacterianos.

Investigar a susceptibilidade dos isolados clínicos de *Acinetobacter* spp. aos principais agentes antimicrobianos usados na prática hospitalar (antibiograma) e compará-los aqueles isolados das mãos dos profissionais de enfermagem.

Comparar a eficácia do sabão líquido não medicamentoso, da clorexidina a 2% e de preparações alcoólicas, tendo como princípio ativo o álcool etílico 70% (p/p), na higienização das mãos artificialmente contaminadas em laboratório com *Acinetobacter baumannii*.

1.5. REFERÊNCIAS

- ALLEN, K.D.; GREEN, H.T. Hospital outbreaks of multi-resistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread ? *J. Hosp. Infect.* Philadelphia, v. 9, p. 110-119, 1987.
- ASH, R.J. *et al.* Antibiotic resistance of gram-negative bacteria in rivers, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 8, p. 713, 2002.
- BARBOLLA, R.E. *et al.* Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* spread in an adultintensive careunit under an endemic setting. *Am.J. Infect.Control.* v.36, p. 444-452, 2008.
- BERGOGNE-BÉRÉZIN, E.; JOLY-GUILLOU, M.L. Hospital infection with *Acinetobacter* spp.: an increasing problem. *J. Hosp. Infect.* Philadelphia, v. 18, Suppl. A, p. 250-255, 1991.
- BERGOGNE-BÉRÉZIN, E; TOWNER, K.J. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 9, p. 148-165, 1996.
- BERNARDS, A.T. *et al.* Persistent *Acinetobacter baumannii*? Look inside your medical equipment. *Infect Control Hosp Epidemiol.* v. 25 (11), p. 1002-1004, 2004.
- BOYCE, J.M; PITTET, D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* Chicago, v. 23, suppl. 12, p. S3-40, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Higienização das mãos em serviços de saúde. Brasília, p. 52, 2007:
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Segurança do paciente – Higienização das mãos.* Brasília. p. 105, 2009.
- BUXTON, A.E. *et al.* Nosocomial respiratory tract infection and colonization with *Acinetobacter calcoaceticus*. Epidemiologic characteristics. *Am. J. Med.*, v 65, p. 507-512, 1978.
- DIJKSHOORN, L. *et al.* Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other acinetobacter spp in faecal samples from non-hospitalised individuals. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 329-332.
- FALAGAS, M.E. *et al.* *Acinetobacter* infections: a growing threat for critically ill patients. *Epidemiol. Infect.*, v.136, p. 1009-1019, 2008.
- GETSCHELL-WHITE, S.I. *et al.* The inanimate environment of an intensive care unit as a potential source of nosocomial bacteria: evidence for long survival of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol* Chicago., v. 10, p. 402-406, 1989.
- GIAMARELLOU, H. *et al.* *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *Inter. J. Antimicrob. Agents.*, v. 32, p. 106-119, 2008.
- GO, S.E. *et al.* Clinical and molecular epidemiology of acinetobacter infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet*, v. 344, p 1329-1332, 1994.
- HOUANG, E.T. *et al.* Epidemiology and infection control implications of *Acinetobacter* spp. in Hong Kong. *J. Clin. Microbiol.*, v 39, p. 228, 2001.
- JOLY-GUILLOU, M.L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin. Microbiol. Infect.*, v. 11, p. 868, 2005.

- LANDMAN D. *et al.* City wide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: the preantibiotic era has returned. *Arch. Intern. Med.*, v 162, p. 1515-1520, 2002.
- MANOEL,R.J. *et al.* Endemic carbapenemresistant *Acinetobacter baumannii* in a London hospital. *J. Antimicrob. Chemother.*,v. 52, p. 141-142, 2003.
- OTTER, J.A.; YEZLI, S.; FRENCH, G.;L. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infection. Control. and Hospital Epidemiol.*, Chicago, v. 32(7),p. 687-699, 2011.
- PELEG, A.Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D.L. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin. Microbiol.*, v.21, p. 538-82, 2008.
- PITTET, D. *et al.* Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. *Lancet. Infect. Dis.*, v. 6, p. 641-652, 2006.
- PITTET, D.; BOYCE, J.M. Revolutionising hand hygiene in health-care settings: guidelines revisited. *Lancet Infect. Dis.*, v. 3, p 269-270, 2003.
- SAALFELD, S. M. S. *et al.* Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Brazilian intensive care unit. *The. Journal of Hospital Infection.*, v. 72, p. 365-368, 2009.
- SAKATA, H. *et al.* H. *Acinetobacter calcoaceticus* biovar *anitratus* septicaemia in a neonatal intensive care unit: epidemiology and control. *J. Hosp. Infect.*, Philadelphia, v. 14, p. 15-22, 1989.
- SILVA, S.R.B.; *et al.* Hand contamination during hospital patient care. *Int J Infect Dis.* v.16 (8), p. e641-2, 2012.
- VOSS, A.; WIDMER, A. F. No time for handwashing!?! Handwashing versus alcoholic rub: can we afford 100% compliance?. *Infect Control Hosp Epidemiol.*, Chicago, v.18, p. 205-208, 1997.
- WENDT, C. *et al.* Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J. Clin. Microbiol.*, v.35, p. 1394-1397, 1997.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge: clean care is safe care. Geneva, WHO, 2009.

CAPÍTULO II – MANUSCRITO

Manuscrito 1: "EFICÁCIA DO SABÃO, CLOREXIDINA E ÁLCOOL NA HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS CONTAMINADAS NO CUIDADO DE PACIENTES INFECTADOS OU COLONIZADOS COM *Acinetobacter* spp."

EFICÁCIA DO SABÃO, CLOREXIDINA E ÁLCOOL NA HIGIENIZAÇÃO DAS MÃOS CONTAMINADAS NO CUIDADO DE PACIENTES INFECTADOS OU COLONIZADOS COM *Acinetobacter* spp.

Autores: Sandra Regina Bin Silva^{a,b}, Márcia Arias Wingeter^b, Dario Bordas Garcia^a, Lourdes Botelho Garcia^a, Maria Cristina Bronharo Tognim^a, Celso Luiz Cardoso^{a,*}

Afiliação: ^a Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo 5790, Campus Universitário, CEP 87020-900 – Maringá, Paraná, Brasil.

^b Hospital Universitário de Maringá, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Mandacaru, 1590, Zona 7, CEP 87083-240 – Maringá, Paraná, Brasil.

***Autor correspondente:** Celso Luiz Cardoso, Laboratório de Microbiologia (Bloco I-90, Sala 116), Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo 5790, Campus Universitário. CEP 87020-900 Maringá, Paraná, Brasil. Telefone: +55 44 3011-4953. Fax: +55 44 3011-4860. E-mail: clcardoso@uem.br

RESUMO

Introdução. A higienização das mãos é a ação primária no controle das infecções causadas por patógenos hospitalares multirresistentes. Entretanto, a eficácia dos agentes comumente utilizados na higienização das mãos tem sido pouco investigada na prática hospitalar.

Objetivo. Comparar a eficácia do sabão líquido não medicamentoso, clorexidina, álcool etílico e álcool gel na higienização das mãos contaminadas com *Acinetobacter* spp.

Métodos. O estudo foi realizado com 12 pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp. multirresistentes, internados na Unidade de Terapia Intensiva Adulto de um hospital ensino no período de maio de 2011 a setembro de 2012. O banho de leito e a troca de curativos foram os procedimentos escolhidos no estudo como modelo de contaminação das mãos (N=44). A amostragem das mãos dos profissionais de enfermagem foi feita por impressão e deslizamento dos dedos na superfície ágar MacConkey, nos seguintes momentos: A1, após higiene das mãos antes do procedimento; A2, após calçar luvas; A3, mãos enluvadas após o cuidado; A4, mãos enluvadas após a higienização com os produtos testados; A5, mãos após remoção das luvas; A6, após a higiene final das mãos com água e sabão. As placas com ágar MacConkey foram incubadas em aerobiose na estufa a 37°C durante 24-48 horas. As propriedades morfotintórias das células de pelo menos um tipo diferente de colônia por placa foram investigadas pela coloração de Gram. A identificação e o antibiograma das colônias selecionadas para o estudo foram realizados com auxílio de MicroScan®. Um estudo de laboratório, utilizando um quadrado Latino 5x5, para avaliar a eficácia do sabão, clorexidina, álcool gel e álcool etílico na remoção de um isolado clínico de *A. baumannii* multirresistente das mãos artificialmente contaminadas foi também investigado.

Resultados. Houve crescimento bacteriano em 15% (76/528) das placas usadas na amostragem das mãos. A partir do estudo preliminar (morfologia colonial e Gram) 119

colônias típicas, suspeitas de pertencerem a *Acinetobacter* e atípicas foram selecionadas para identificação. *Acinetobacter baumannii* contribuiu com 66 (55%) dos isolados, *Enterobacteriaceae* com 28 (23%), *Pseudomonas aeruginosa* com 16 (13%), *Acinetobacter* spp. com 7 (6%) e outros com 2 (1,6%). Em A3, *A. baumannii* foi detectado em 42 das 44 (95,45%) amostragens. Em A4, o álcool gel removeu *A. baumannii* das mãos enluvadas após o cuidado de 11 (92%) pacientes, o álcool etílico e o sabão, em 10 (83%) pacientes e a clorexidina em apenas dois (17%) dos 12 pacientes. Em A5, foram isolados *Acinetobacter* spp. em duas (4,5%) das 44 amostragens. O estudo de laboratório mostrou que o álcool gel e o álcool etílico apresentaram maior eficácia do que a clorexidina e o sabão na remoção de *A. baumannii* das mãos artificialmente contaminadas ($P < 0,05\%$).

Conclusão. Os resultados mostraram que o álcool gel, o álcool etílico e o sabão foram os produtos mais efetivos na remoção de amostras multirresistentes de *A. baumannii* das mãos contaminadas na prática hospitalar. O estudo de laboratório confirmou a superioridade do álcool gel e álcool etílico na antissepsia das mãos artificialmente contaminadas com *A. baumannii* multirresistente.

Palavras-chave: *Acinetobacter* spp.; antissépticos; higiene das mãos; sabão.

ABSTRACT

Introduction. Hand hygiene is a primary action in the control of infections caused by multidrug-resistant nosocomial pathogens. However, the efficacy of agents commonly used in hand hygiene in hospital practice has been little investigated.

Objectives. To compare the efficacy of hand hygiene with plain liquid soap, chlorhexidine, ethyl alcohol and alcohol gel for removing *Acinetobacter* spp from contaminated hands.

Methods. The study was carried out with 12 patients admitted to the ICU of a teaching hospital, colonized or infected with multidrug-resistant *Acinetobacter* spp, from May 2011 to September 2012. Bed bath and changing of bandages were the care procedures chosen for the study as the experimental model of hand contamination (N=44). Hand sampling was made by gentle pressure and slipping of fingers on a MacConkey agar plate surface, on the following moments: A1, after hand hygiene before the care procedure; A2, with gloves on; A3, with gloves on after the care procedure; A4, with gloves on after hand hygiene with the products tested; A5, hands after gloves removal; A6, after final hand hygiene with water and soap. The plates with MacConkey agar were incubated at 37°C, in aerobiosis, during 24-48 hours. Morphologic and staining properties of the cells of at least one different type of colony per plate were investigated by the Gram's stain method. The identification and antibiogram of the colonies selected for study were performed by the MicroScan® identification system. A laboratory study, using a Latin square 5x5, to assess the efficacy of soap, chlorhexidine and alcoholic preparations for removing a clinical isolate of a multidrug-resistant *A. baumannii* from artificially contaminated hands, was also performed.

Results. There was bacterial growth in 15% (76/528) of the plates used for the hand sampling. From the preliminary study (colonial morphology and Gram's stain) 119 typical and atypical colonies were selected for identification. *Acinetobacter baumannii* contributed with 66 (55%)

of the isolates, *Enterobacteriaceae* with 28 (23%), *Pseudomonas aeruginosa* with 16 (13%), *Acinetobacter spp* with 7 (6%), and others with 2 (1.6%). In A3, *A. baumannii* was detected in 42 of the 44 (95.45%) samplings. In A4, alcohol gel removed *A. baumannii* from gloved hands after contact with 11 (92%) patients, ethyl alcohol and soap did it after contact with 10 (83%) patients, and chlorhexidine in only two (17%) out of 12 patients. In A5, *Acinetobacter spp* were isolated in two (4.5%) out of 44 samplings. The laboratory study showed that alcohol gel and ethyl alcohol presented greater efficacy than chlorhexidine and soap for removing *A. baumannii* from hands artificially contaminated ($p < 0.05\%$).

Conclusion. The results showed that alcohol gel, ethyl alcohol and soap were the most effective products in removing multidrug-resistant *A. baumannii* isolates from contaminated hands in hospital practice. The laboratory study confirmed the superiority of alcohol gel and ethyl alcohol in the antiseptics of hands contaminated with multidrug-resistant *A. baumannii*.

Keywords: *Acinetobacter spp*; antiseptics, hand hygiene; soap.

INTRODUÇÃO

A higienização das mãos é considerada o procedimento isolado mais importante na prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde (infecções hospitalares) porque muitos tipos de infecções podem ser causadas por microrganismos transmitidos pelas mãos contaminadas dos profissionais da saúde.^{1,2}

Nas últimas décadas, as bactérias do gênero *Acinetobacter*, particularmente *Acinetobacter baumannii*, tornaram-se importantes patógenos hospitalares devido a crescente frequência e gravidade de infecções causadas em pacientes internados em unidades de tratamento intensivo e a ampla resistência destes microrganismos aos principais antibióticos usados na prática hospitalar.³⁻⁶ Adicionalmente, a capacidade de sobrevivência de *Acinetobacter* spp. por longos períodos no ambiente hospitalar facilita sua transmissão entre pacientes via equipe de saúde ou materiais inanimados.^{4,7,8}

A disseminação de acinetobacter pelas mãos contaminadas dos profissionais de saúde tem sido demonstrada em vários estudos realizados por ocasião de surtos^{4,7,9-12} ou situações endêmicas.¹³⁻¹⁵ Embora a higienização das mãos seja a ação primária no controle das infecções causadas por patógenos hospitalares multirresistentes, nós não encontramos estudos sobre a eficácia de agentes comumente utilizados na higienização das mãos, na remoção de *Acinetobacter baumannii* das mãos dos profissionais da saúde contaminadas na prática hospitalar.

No presente estudo avaliamos o efeito imediato do sabão, clorexidina, álcool gel e álcool etílico na higienização das mãos de profissionais de enfermagem após o cuidado a pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp. multirresistentes. Um experimento de laboratório sobre a eficácia do sabão, clorexidina, álcool gel e álcool etílico na remoção de *Acinetobacter baumannii* multirresistente das mãos artificialmente contaminadas de voluntários humanos foi também investigado.

MATERIAIS E MÉTODOS

EXPERIMENTO I – Estudo prospectivo, conduzido de maio de 2011 a setembro de 2012, na Unidade de Terapia Intensiva Adulto (UTI–A) do Hospital Universitário de Maringá (HUM), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizado na cidade de Maringá, Paraná, Brasil. A UTI–A tem 8 leitos em quartos individuais, com pias e dispensadores de álcool e antisséptico degermante (clorexidina). Os dispensadores estavam localizados a beira do leito do paciente.

Pacientes. Foram incluídos no estudo 12 pacientes adultos internados por mais de 72 horas na UTI–A. Três pacientes estavam colonizados e nove infectados com *Acinetobacter* spp. multirresistentes com base em dados clínicos e laboratoriais.¹⁶ *Acinetobacter* spp. foram isolados de todos os pacientes a partir de diferentes espécimes clínicos (e.g., hemocultura, ponta de cateter, urinocultura, aspirado traqueal, úlcera por pressão, líquido ou líquido peritoneal). Todos os dados da evolução clínica dos pacientes foram obtidos junto ao Serviço de Controle de Infecção Hospitalar do HUM.

Identificação e antibiograma dos isolados clínicos de *Acinetobacter* spp. As colônias dos isolados clínicos, suspeitas de pertencerem ao gênero *Acinetobacter* (i.e., cocobacilos Gram-negativos, não fermentadores de glicose) foram identificadas com auxílio do sistema automatizado BD Phoenix (Phoenix®100 – Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA), utilizando-se painéis combinados para identificação e antibiograma de bactérias Gram-negativas (NMIC/ID–121 ou NMIC/ID–123).

O antibiograma foi realizado pelo método de microdiluição (Phoenix®100), testando-se os agentes antimicrobianos nas seguintes faixas de concentrações (µg/mL): amicacina (2–

32), ampicilina/sulbactam (1/0,5–16/8), cefepima (1–16) cefotaxima (4–32), ceftazidima (0,5–16), ceftriaxona (2–32), ciprofloxacina (0,5–2), gentamicina (2–8), imipenem (1–8), levofloxacina (1–4) meropenem (1–8), piperacilina/tazobactam (2/4–64/4) tetraciclina (2–8), tobramicina (2–8), trimetoprim/sulfametoxazol (0,5/9,5–2/38). Os critérios de interpretação dos resultados seguiram os padrões do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012.¹⁷

Voluntários. Profissionais de enfermagem da UTI–A do HUM que prestavam os cuidados selecionados para o estudo (i.e., banho de leito e curativos) a pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp. multirresistentes.

O banho de leito e a troca de curativos foram os cuidados escolhidos no presente estudo por serem procedimentos da prática diária do cuidado de enfermagem em que demandam contato mais direto e durante um período mais longo de tempo que os demais procedimentos realizados pela equipe.

Os voluntários que aceitaram participar do estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, conforme mostrado no Anexo 1.

Agentes degermantes. Foram utilizados os seguintes produtos: (i): álcool etílico a 70% (p/p), preparado no momento de uso misturando-se 70g de álcool etílico absoluto p.a. (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) com 30g de água destilada; (ii) álcool gel 70% (v/v) (Riogel®, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil); (iii) antisséptico degermante contendo 2% de digluconato de clorexidina (Riohex®, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.); (iv) sabão líquido não medicamentoso (Handtech® perolizado erva doce, Adhetec Química Indústria e Comércio Ltda., Sumaré, SP, Brasil); aplicando-se volumes de 3 mL.

Técnica de amostragem das mãos. A amostragem (A) das mãos do profissional de enfermagem foi realizada utilizando-se a técnica de impressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar MacConkey (Difco-BBL, Sparks, MD, USA), contendo uma concentração final de 3% de ágar-ágar (Difco-BBL), utilizando-se uma placa para cada mão (**Figura 2**). Com auxílio de caneta para retroprojektor, o fundo de cada placa foi marcado com um risco paralelo ao diâmetro da placa, situado a uma distância de aproximadamente 2,5 cm do bordo da placa. Esta área, marcada com um “x”, foi usada para amostrar o dedo polegar. Perpendicularmente a esta área, logo abaixo do risco, foram amostrados, individualmente, os dedos indicador (abaixo do “x”), médio, anular e mínimo. A amostragem foi realizada por uma leve pressão da ponta dos dedos durante 3 segundos na superfície do meio de cultura, seguido do deslizamento por mais 1 a 2 segundos. As placas foram incubadas na estufa a 37°C durante 24 a 48 horas e deixadas à temperatura ambiente por mais 48 a 72 horas.

Momentos da amostragem das mãos. A amostragem (A) das mãos do profissional de enfermagem, foi realizada nos seguintes momentos:

- A1** – Após higienização simples das mãos (i.e., água e sabão líquido não medicamentoso) e antes do cuidado ao paciente (controle inicial das mãos). As mãos foram higienizadas utilizando-se três mililitros do sabão e secadas com auxílio de toalhas de papel, previamente esterilizadas.
- A2** – Após calçar as luvas de procedimento (controle das luvas).
- A3** – Após o cuidado ao paciente (contaminação das mãos enluvadas).
- A4** – Após a higienização das mãos enluvadas com sabão, clorexidina, álcool gel e álcool etílico. Cada produto foi testado em dias diferentes, consecutivos ou não (teste dos produtos).
- A5** – Após remoção das luvas depois do cuidado ao paciente (controle das mãos)

A6 – Após a higienização simples das mãos (controle final das mãos).

Identificação e antibiograma de *Acinetobacter* spp. isoladas das mãos dos voluntários.

Pelo menos um tipo diferente representativo de cada colônia bacteriana desenvolvida na placa de ágar MacConkey foi selecionado para estudo. As propriedades morfotintoriais das células foram evidenciadas pela coloração de Gram.¹⁸ Os bacilos Gram-negativos foram testados inicialmente para a produção de oxidase.¹⁹ As colônias suspeitas de pertencerem ao gênero *Acinetobacter* (i.e., cocobacilos Gram-negativos, não fermentadores de lactose no ágar MacConkey e oxidase negativas) e outros gêneros de Bacilos Gram-negativos foram identificadas com auxílio do sistema automatizado MicroScan® (Dade Behring Inc., West Sacramento, CA, USA), utilizando-se painéis combinados para identificação e antibiograma de bactérias Gram-negativas (NUC-33 ou NUC-51).

A diferenciação das espécies do complexo *Acinetobacter baumannii/haemolyticus* identificadas pelo MicroScan® foi realizada empregando-se os seguintes testes fenotípicos complementares: crescimento às temperaturas de 37°C, 41°C e 44°C e teste de mobilidade utilizando-se a técnica de gota pendente.^{19,20}

O antibiograma foi realizado por microdiluição (MicroScan®) testando-se os agentes antimicrobianos nas seguintes faixas de concentrações (µg/mL): amicacina (16–32), ampicilina/sulbactam (8/4–16/8), cefepima (4–16), cefotaxima (2, 8–32), ceftazidima (1, 4–16), ceftriaxona (8–32), ciprofloxacina (1–4), gentamicina (4–8), imipenem (1–8), levofloxacina (2-4), meropenem (1–8), piperacilina/tazobactam (16,64), tetraciclina (4–8), ticarcilina/clavulanato (16,64), tobramicina (4–8) e trimetoprim/sulfametoxazol (2/38).

Nota: Foram utilizados painéis NUC 33 (paciente A – E) e NUC 51 (paciente F – M). A determinação da MIC e a interpretação dos resultados foram feitas de acordo com os critérios estabelecidos pelo Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.¹⁷

ERIC-PCR. A tipagem molecular foi realizada pela técnica "Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR)" segundo Silbert *et al.*²¹ A interpretação dos padrões de bandas gerados pelo ERIC-PCR foi realizada utilizando-se o "software" Bionumerics, versão 6,5 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium). Para análise da similaridade dos isolados foi utilizado o coeficiente de Dice.²² Os isolados foram considerados do mesmo clone quando o coeficiente de similaridade foi igual ou maior que 0,93.²¹

Nota: Esta técnica foi usada em um pequeno estudo, incluindo 22 amostras representativas de *Acinetobacter* spp., isoladas de pacientes e das mãos dos voluntários.

EXPERIMENTO II – Estudo de laboratório, conduzido nos meses de fevereiro a maio de 2012, no laboratório de microbiologia, Bloco I-90, da Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizado na cidade de Maringá, Paraná, onde foi realizada a contaminação artificialmente das mãos de voluntários humanos com *Acinetobacter baumannii*.

Planejamento experimental. O planejamento experimental foi feito de acordo com um quadrado Latino 5 x 5, baseado nos trabalhos de Ayliffe *et al.*²³ e Lilly e Lowbury.²⁴, sendo os tratamentos com os agentes degermantes e os respectivos controles efetuados segundo um bloco aleatorizado 5 x 4 (cinco voluntários contra quatro agentes degermantes), fazendo-se um rodízio de tal modo que cada um dos voluntários recebesse um tratamento diferente a cada semana. Foi mantido um intervalo de no mínimo sete dias entre os experimentos, para a restauração da microbiota da pele dos voluntários.

Microrganismo teste. Foi utilizado como microrganismo teste um isolado clínico de *Acinetobacter baumannii* (amostra No. 478), obtida de paciente internado na UTI–A do HUM da UEM, Maringá, PR.

Inoculo. O inoculo do microrganismo teste foi uma cultura de 24 horas em em “Tryptic Soy Broth” (Difco). A contagem de viáveis do inoculo foi realizada, em duplicata, utilizando-se a técnica da contagem na gota modificada.^{25,26} Para cada contagem, três gotas de 0,02 mL das diluições 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} , preparadas pela mistura de 0,2 mL do inoculo com 1,8 mL de solução salina triptonada, foram depositadas na superfície de placas de Petri 90 x 15 mm (Inlab Distribuidora de Produtos Científicos S.A., São Paulo, SP) contendo 15 mL de ágar MacConkey (Difco). Após a secagem do inoculo, as placas foram incubadas em aerobiose na estufa a 37°C durante 18–24 horas. Sempre que possível, foram selecionadas para contagem as gotas das diluições que apresentaram crescimento de 6 a 60 colônias.

Voluntários. Foram convidados a participar deste estudo cinco indivíduos adultos, saudáveis, de ambos os sexos, constituído por estudantes e professores da Universidade Estadual de Maringá, sendo observado com rigor o estado íntegro e sadio das mãos destes voluntários durante a realização de todo o experimento. Antes do início dos experimentos cada voluntário foi informado sobre a natureza e os riscos do trabalho a ser desenvolvido e no caso de concordar em participar do estudo, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, conforme o Anexo 2.

Agentes degermantes. Foram usados os seguintes produtos: (i) sabão líquido não medicamentoso (Handtech® perolizado erva doce, Adhetec Química Indústria e Comércio Ltda., Sumaré, SP, Brasil); (ii) solução antisséptica-detergente contendo 2% de digluconato de

clorexidina (Riohex®, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil); (iii): álcool gel 70% (v/v) (Riogel®, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda), (iv): álcool etílico a 70 % (p/p), preparado no momento de uso misturando-se 70g de álcool etílico absoluto pa (Merck KGaA, Darmsdtadt, Alemanha) com 30g de água destilada.

Contaminação artificial das mãos. Para a aplicação do microrganismo teste, as mãos dos voluntários foram lavadas durante 20–30 segundos com água corrente e 3 mL de sabão líquido não medicamentoso (Handtech®) e enxugadas com toalhas de papel esterilizadas. Volumes de 0,02 mL do inóculo foram depositados nas pontas dos dedos da mão esquerda, exceto o polegar, sendo então os dedos friccionados ponta a ponta, com o auxílio dos dedos correspondentes da mão direita durante 40 segundos e deixados secar ao ar por outros 80 segundos.²³

Tratamento com os agentes degermantes. O tratamento com as preparações alcoólicas foi feito aplicando-se volumes de 3 mL do álcool etílico 70% (p/p) ou do álcool gel 70% v/v, sobre as mãos secas, seguidas da fricção durante 30 segundos, utilizando-se a seguinte técnica: (1) fricção das palmas das mãos entre si; (2) fricção da palma da mão direita contra o dorso da mãos esquerda (e vice-versa), entrelaçando os dedos; (3) fricção das palmas das mãos entre si com os dedos entrelaçados; (4) fricção do dorso dos dedos de uma mão com a palma da mão oposta (e vice-versa), segurando os dedos; (5) fricção do polegar direito, com auxílio da palma da mão esquerda (e vice-versa), utilizando um movimento circular; (6) fricção das polpas digitais e unhas da mão esquerda contra a palma da mão direita (e vice-versa), fazendo um movimento circular; (7) fricção do punho esquerdo com auxílio dos dedos e palma da mão direita (e vice-versa), com movimentos circulares.^{27,28} No caso do sabão líquido não medicamentoso e da clorexidina também foram aplicados 3 mL, seguido da

fricção das mãos durante 30 segundos de maneira semelhante aquela descrita anteriormente para as preparações alcólicas, sendo no entanto as mãos previamente umedecidas com água estéril. Após a fricção, as mãos foram enxaguadas com 300 mL de água estéril por 15 segundos e a seguir enxugadas suavemente por 15 segundos em toalhas de papel estéril.

Recuperação do microrganismo teste. Foi feita pela fricção da ponta dos dedos, durante 3 minutos, contra 10g de pérolas de vidro (3 mm de diâmetro) contidas no interior de tubos de ensaio de fundo chato (30x70 mm para o dedo indicador, médio, anular e 30x65 mm para o dedo mínimo) contendo 5 ml do líquido de amostragem, constituído por uma solução salina triptonada estéril a 0,1 % adicionada dos seguintes neutralizantes: tiosulfato de sódio a 1% (Labsynth® Produtos para laboratórios Ltda., Diadema, SP, Brasil), lecitina de soja a 0,5% (Superbom Produtos Naturais e Nutracêntricos Ltda., Maringá, PR, Brasil) e Tween 80 a 1% (Alamar Tecno-Científica Ltda., Diadema, SP, Brasil). A contagem de viáveis do microrganismo teste recuperado dos voluntários controles (i.e., contaminados e não tratados) foi realizada a partir do líquido de amostragem puro e diluído (10^{-1} a 10^{-5}), utilizando-se a técnica da contagem na gota modificada.^{25,26} No caso dos voluntários tratados com sabão e clorexidina a contagem de viáveis foi feita pela semeadura de volumes de 0,5mL (em duplicata), 0,1mL e 0,01mL em superfície de ágar MacConkey. Nos voluntários tratados com preparações alcoólicas a contagem de viáveis foi realizada de modo similar, semeando-se volumes de 0,5mL (em duplicata) e de 0,1mL.

Eficácia dos agentes degermantes. A taxa de remoção do microrganismo teste das pontas dos dedos foi determinada para cada agente degermante calculando-se o fator de redução logarítmica (FRL), i.e., o \log_{10} da media da contagem inicial (contagem de viáveis realizada em triplicata a partir do líquido obtido após amostragem dos oito dedos dos cinco voluntários

controles) menos o \log_{10} da média da contagem final (contagem de viáveis realizada em triplicata a partir do líquido obtido após a amostragem dos oito dedos dos cinco voluntários testados).

Controles:

Controle dos neutralizantes. Para investigar um possível efeito inibitório dos agentes neutralizantes do líquido de amostragem sobre o microrganismo teste, a contagem de viáveis do inóculo de cada experimento foi realizada, em duplicata, pela técnica da gota modificada, ^{25,26} diluindo-se o inóculo (caldo) no líquido de amostragem com (teste) e sem (controle) neutralizantes. Os dados foram comparados utilizando-se o teste *t* de *Student*, considerando-se um valor de $P < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Controle do “carryover”. Com objetivo de verificar uma possível inibição do crescimento dos microrganismos testes pela transferência dos produtos testados para o meio de cultivo (“carryover”) foi realizado um controle utilizando-se o seguinte procedimento: em cada ensaio, o fluido do dedo indicador da mão direita de cada voluntário foi esterilizado por filtração em membrana MilliporeTM – HA 0,45 μ m (©Merck KGaA). A seguir, 0,9 ml do filtrado foi adicionado 0,1 ml de uma suspensão diluída do inóculo ajustada para conter em torno de 10.000 UFC/mL. Como controle, em paralelo, 0,1 mL do inóculo foi adicionado a 0,9 mL de solução salina triptonada estéril. Posteriormente foi realizada a diluição de ambas as suspensões para 10^{-1} . De cada diluição, seis gotas de 0,02 mL foram depositadas na superfície de placas de Petri 90 x 15 mm contendo 15 mL de ágar MacConkey.

As placas foram incubadas por 18-24 horas a 37°C, comparando-se então o número de colônias do microrganismo teste desenvolvidas a partir do filtrado do líquido de amostragem e do controle em solução salina. Os valores médios obtidos no controle de “carryover” de cada

experimento foram comparados com seus respectivos controles empregando-se o Teste *t* de *Student*, considerando-se um valor de $P < 0,05$ como estatisticamente significativa.

Controle final de contaminação dos participantes. Para assegurar que os voluntários não estavam contaminados com o microrganismo teste, após cada experimentosa as mãos foram lavadas com água e sabão por 30 segundos, enxaguadas e enxugadas com toalhas de papel esterilizadas. A seguir foi feita a antissepsia das mãos com álcool etílico a 70% (p/p) por 30 segundos. As pontas dos dedos foram então amostradas para pela técnica de impressão e deslizamento dos dedos em placas contendo ágar MacConkey, com teor de 3% de agar, adicionado de neutralizantes.

Tratamento estatístico dos dados. Análise de variância para o delineamento do quadrado Latino 5x5, que apresentou diferença significativa de 5% (valor $p < 0,0001$). Após, foi realizado o teste de comparação múltipla de Dunnett, apropriado para testar tratamentos com controle. Para as demais comparações considerou-se o teste de Tukey. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo. Os valores médios obtidos nos testes de toxicidade dos neutralizantes e no “carryover” de cada experimento foram comparados com seus respectivos controles empregando-se o Teste *t* de *Student*, considerando-se um valor de $P < 0,05$ como estatisticamente significativa.

Para a realização da análise estatística, empregou-se o programa R[®], versão 2.2.1, disponível na internet (www.r-project.org).

RESULTADOS

Durante o período de maio de 2011 a setembro de 2012 foi realizada a amostragem das mãos de 23 profissionais de enfermagem que prestaram assistência aos 12 pacientes infectados ou colonizados por *Acinetobacter* spp. incluídos no estudo (Tabela 1). A idade média dos pacientes do estudo foi de 66 anos (42-90). A média de permanência dos pacientes na UTI, no momento do resultado clínico de colonização ou infecção por *Acinetobacter* spp. foi de 25 dias (4 -60) e no momento da amostragem das mãos dos cuidadores foi de 36 dias (10-71) (Tabela 2). Todos os pacientes estavam em ventilação mecânica, com cateterização venosa central e arterial e sondagem das via urinarias, também já haviam recebido tratamento antimicrobiano para outras infecções.

De acordo com os registros do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar, três isolados clínicos de *Acinetobacter* spp., provenientes de líquido peritoneal, ponta de cateter venoso central e úlcera por pressão, foram considerados casos de colonização. Nove isolados clínicos foram considerados casos de infecção, sendo 3 deles obtidos de secreção traqueal, 2 de urina, 2 de sangue, 1 de líquido peritoneal e 1 de líquido. O perfil de sensibilidade dos 12 isolados clínicos de *Acinetobacter* spp. é mostrado na Tabela 5. Com exceção da tetraciclina (1 amostra sensível e 9 intermediárias) e do trimetoprim/sulfametoxazol (1 amostra sensível), as amostras de *Acinetobacter* spp. foram resistentes a praticamente todos os antimicrobianos testados.

Os profissionais de enfermagem que participaram como voluntários no experimento foram instruídos sobre a metodologia do estudo, enfatizando-se as técnicas de higienização das mãos e de impressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar MacConkey. O mesmo pesquisador (SRBS) acompanhou todas as 44 amostragens das mãos dos profissionais de enfermagem.

Houve crescimento bacteriano em 15% (76/528) das placas contendo ágar MacConkey usadas na amostragem das mãos, pela técnica de impressão e deslizamento dos dedos. *Acinetobacter* spp. não foram isoladas em A1 (antes do procedimento, após a higienização simples das mãos), A2 (após calçar as luvas de procedimento) e A6 (ao final do procedimento, após higienização simples das mãos).

Em A3 (após o cuidado ao paciente), a grande maioria (95%, 42 de 44) das amostragens das mãos dos profissionais de enfermagem foi positiva para isolamentos bacterianos. *Acinetobacter* spp. foram isolados em 39 (88%) das amostragens. Considerando o crescimento de colônias por dedo amostrado, registrou-se crescimento em 361 (82%) dedos, 289 proporcionaram uma média de 25 colônias por dedo e 72 dedos apresentaram crescimento confluyente. Para efeito de estimativa de contagem de colônias, atribuímos o valor de 350 colônias para cada dedo com crescimento confluyente. Na Tabela 4 é apresentado o número de colônias da flora bacteriana transitória recuperadas das pontas dos dedos dos controles (A3) e testes (A4), utilizando-se a técnica de impressão e deslizamento dos dedos em ágar MacConkey.

Em A4, o álcool gel removeu a flora bacteriana transitória em onze amostragens (92%), o sabão e o álcool etílico removeram *A. baumannii* após o cuidado de dez pacientes (83%) e a clorexidina em apenas dois (17%) dos 12 pacientes (Tabela 4). A taxa de remoção expressa pelo fator de redução logarítmica é mostrada na Tabela 5.

Em A5 (após remoção das luvas, depois do cuidado ao paciente) observamos crescimento de 9 colônias de *Acinetobacter baumannii*, sendo 5 recuperadas após tratamento com clorexidina e 4 após antissepsia com álcool gel.

A partir do estudo preliminar das colônias (coloração de Gram), 119 de 483 colônias foram selecionadas para identificação. *Acinetobacter baumannii* contribuiu com 66 (55%) dos

isolados, *Enterobacteriaceae* com 28 (23%), *Pseudomonas aeruginosa* com 16 (13%), *Acinetobacter* spp com 7 (6%) e outros 2 (1,6%).

O perfil de sensibilidade dos 69 isolados das mãos dos profissionais de enfermagem de *Acinetobacter* spp. é demonstrado na Tabela 6. A resistência aos antimicrobianos testados variou de 12% a 100%.

A Tabela 7 mostra o número de células viáveis de *A. baumannii* (microrganismo teste) recuperado das mãos artificialmente contaminadas dos cinco voluntários ensaiados no experimento 2. Nos voluntários controles (i.e., sem tratamento), a recuperação do microrganismo teste das mãos variou de 12 milhões e quinhentos mil a 18 milhões e duzentos mil unidades formadoras de colônias (UFC), recuperando-se, em média, em torno de 15 milhões de UFC/mão (i.e., 7,18 log₁₀). A média das UFC/mão de *A. baumannii* recuperado após os tratamentos variou de zero (álcool gel) a 450.000 (sabão).

A eficácia dos produtos testados na remoção do microrganismo teste (*A. baumannii*) das mãos artificialmente contaminadas no experimento 2, expressa pelo fator de redução logarítmica (FRL) é apresentada na Tabela 8. Houve diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$). O álcool etílico (FRL, 4,61) e o álcool gel (FRL, 4,79) apresentaram uma taxa de remoção significativamente maior do que a clorexidina (FRL, 2,73) e o sabão líquido não medicamentoso (FRL, 2,04).

Em relação aos controles usados no experimento 2, os agentes neutralizantes não mostraram efeito tóxico para o microrganismo teste (dados não demonstrados). Não houve inibição do crescimento por “carryover” na recuperação do microrganismo teste das mãos após o tratamento com os agentes degermantes (Tabela 9). Nenhum dos voluntários ensaiados apresentou as mãos contaminadas com o microrganismo teste ao final dos experimentos.

DISCUSSÃO

No Brasil, as recomendações do Ministério da Saúde para a higienização das mãos nos serviços de saúde preconizam a lavagem das mãos durante 40 a 60 segundos com água e sabão líquido não medicamentoso (i.e., higienização simples das mãos) ou com antissépticos associados a detergentes, denominados agentes degermantes, como por exemplo, clorexidina, povidona-iodo (i.e., higienização antisséptica das mãos); ou com preparações alcoólicas por 20 a 30 segundos (i.e., fricção antisséptica das mãos).^{27,28}

Apesar da reconhecida ação antimicrobiana dos compostos a base de iodo, particularmente dos iodóforos^{2,28}, nós não testamos a povidona-iodo nos experimentos 1 e 2 porque este produto não é usado em nossa UTI-A. Entre os produtos testados em nosso estudo, o dispensador de clorexidina estava localizado acima da pia dentro do quarto do paciente. O dispensador do álcool gel estava fixado próximo a porta de entrada do quarto (na parede interna) e o álcool etílico 70% (p/p) estava acondicionado em dispensadores a beira do leito do paciente para a desinfecção dos móveis, utensílios e equipamentos. O sabão estava disponível, sobre a pia, localizada na entrada da UTI-A e era destinado para a higienização das mãos dos visitantes. Assim, os profissionais de enfermagem da UTI-A tinham fácil acesso aos agentes degermantes testados no presente estudo.

A higienização das mãos é considerada adequada quando as mãos são friccionadas em todas as suas faces, espaços interdigitais, articulações, unhas, extremidades dos dedos e punhos, realizando-se a técnica em sete passos, conforme as recomendações do Ministério da Saúde.^{27,28} Considerando que esta técnica é usada de rotineiramente na UTI-A, durante a realização do experimento 1, nós não nos preocupamos em avaliar a execução da técnica para não interferir nas atividades de rotina do cuidado do paciente colonizado ou infectado com *Acinetobacter* spp. Apesar disto, todos os profissionais de enfermagem incluídos no estudo foram novamente instruídos sobre a correta realização da técnica de higiene das mãos,

sobretudo a antissepsia com preparações alcoólicas, para não comprometer os resultados do estudo.²⁹

Epidemiologicamente, os surtos de infecções hospitalares causadas por *Acinetobacter baumannii* multirresistentes são seguidos por longos períodos de endemicidade com contínua transmissão de paciente a paciente, particularmente através das mãos contaminadas do pessoal hospitalar^{14,30,31} Este fato é de certa forma vivenciado no hospital, onde *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenêmicos, sensível apenas a polimixina e tigeciclina, é endêmico em nossa UTI-A desde 2004, apesar da implementação das medidas de controle e prevenção adotadas na unidade.¹³

No presente estudo, conforme evidenciado em A1 (i.e., amostragem inicial das mãos do voluntário após a higienização simples e antes do cuidado ao paciente) e A6 (i.e., amostragem das mãos do voluntário após a higienização simples ao término do experimento), *Acinetobacter baumannii* não foi detectado nas mãos dos 23 profissionais de enfermagem, apesar de ser um patógeno endêmico na UTI-A.¹³ Estes achados confirmam a eficácia da higienização simples das mãos (i.e., água e sabão) na prática hospitalar. Entretanto, um aspecto a ser considerado é que a presença do pesquisador (SRBS) durante a realização do experimento 1 pode ter influenciado o comportamento dos profissionais de enfermagem no sentido deles realizarem a técnica de higiene das mãos com mais atenção, fenômeno este conhecido como efeito Hawthorne.

O uso de luvas de procedimento de látex, limpas, não estéreis, é prática comum, como parte das precauções padrão, nos cuidados não invasivos dos pacientes em UTI². Alguns estudos têm demonstrado que as caixas de luvas tornam-se contaminadas pelo repetido acesso e manuseio na retirada das luvas para uso.^{32,33} Geralmente esta contaminação é extremamente baixa (e.g., 1,7-1,8 UFC/luva) e causada por bactérias não patogênicas da pele dos profissionais da saúde, com predomínio de estafilococos coagulase negativos, micrococcos e

corinebactérias, entretanto, patógenos hospitalares multirresistentes incluindo *Pseudomonas aeruginosa* e *A. baumannii* também foram detectados.^{32,33} As luvas assim contaminadas podem ser um mecanismo indireto de transmissão de bactérias das mãos do profissional de saúde para o paciente.^{32,33}

Um aspecto interessante em nosso estudo foi o não isolamento de *Acinetobacter* spp. das mãos enluvadas em A2 (i.e., amostragem das mãos após calçar as luvas de procedimento e antes do cuidado do paciente), demonstrando que as caixas das luvas de procedimento não estavam contaminadas, apesar de estarem acondicionadas em suporte próximo ao leito do paciente colonizado ou infectado com *Acinetobacter* spp. Isto demonstra a estrita adesão à higienização das mãos dos profissionais de enfermagem antes de calçar as luvas de procedimento. O tempo de exposição das caixas de luvas, geralmente inferior a 24 horas, pode também ter contribuído para este achado.

Na UTI-A, o álcool gel e a clorexidina são utilizados rotineiramente para a higienização das mãos dos profissionais de saúde. A clorexidina é também empregada para a degermação da pele dos pacientes antes de procedimentos invasivos. No presente estudo, os resultados do experimento 1, sugerem uma limitada eficácia da clorexidina na remoção de *Acinetobacter* spp. das mãos dos profissionais de saúde (FRL 1,26), quando comparada ao sabão (FRL 3,52), álcool etílico (FRL 3,65) e álcool gel (FRL 4,04) (Tabela 4 e 5). Um estudo realizado em três UTIs da França mostrou que uma preparação alcoólica foi significativamente mais efetiva do que a clorexidina na redução da contaminação bacteriana das mãos (83% *versus* 50%, $P=0,012$).³⁴ Entretanto, dois outros estudos clínicos demonstraram que a clorexidina apresentou a mesma eficácia das preparações alcoólicas na descontaminação das mãos durante a rotina de cuidado ao paciente.^{35,36} Estes dados mostram a necessidade da realização de mais estudos clínicos multicêntricos, utilizando uma metodologia padronizada para a amostragem das mãos, para o esclarecimento deste assunto.

Conforme evidenciado na Tabela 7, os resultados do nosso estudo de laboratório demonstraram claramente a superioridade das preparações alcoólicas na remoção de *A. baumannii* multirresistentes das mãos artificialmente contaminadas, confirmando um estudo prévio realizado em nosso laboratório.³⁷

Na avaliação do efeito imediato de antissépticos sobre a microbiota transitória das mãos, independente da metodologia empregada, é indispensável a utilização de neutralizantes adequados para impedir um possível efeito residual dos produtos testados, conhecido como efeito “carryover”. Nós usamos a técnica de neutralização para prevenir o efeito de “carryover”. Com este propósito usamos uma mistura de neutralizantes, de eficácia comprovada, constituída por Tween 80, lecitina de soja e tiosulfato de sódio.³⁷ Conforme mostrado na Tabela 8, a técnica de neutralização foi efetiva para todos os produtos testados, inclusive para a clorexidina que possui reconhecido efeito residual. A mistura de neutralizantes foi eficiente e não mostrou efeito inibitório sobre o microrganismo teste (dados não demonstrados).

Como limitações do estudo encontramos em primeiro lugar a baixa sensibilidade da técnica de impressão e deslizamento dos dedos na superfície de Agar MacConkey para a amostragem das mãos. Esta técnica apesar de ser rápida e de fácil execução é semi-quantitativa, pois não tem acurácia para contagens acima de 300 colônias por placa. A técnica considerada padrão para o estudo qualitativo e quantitativo da microbiota das mãos é a clássica técnica do “glove juice”. Nesta técnica, as mãos são introduzidas em luvas ou sacos plásticos contendo um líquido de amostragem e lavadas por 15-30 segundos. Embora apresente a desvantagem da necessidade de diluição do líquido de amostragem, que pode afetar a sensibilidade do método, esta técnica ou suas modificações, tem sido empregada por diversos pesquisadores.^{2,36} Justificamos a escolha da técnica de impressão e deslizamento em nosso trabalho baseado em um estudo representativo da contaminação das mãos na prática

hospitalar³⁸ e também para não interferir na rotina dos cuidados aos pacientes durante a realização do estudo.³⁴

A segunda limitação, foi avaliar a eficácia dos produtos no experimento 1 utilizando as mãos enluvadas, cuja aderência dos microrganismos pode ser diferente quando comparado às mãos sem luvas. De fato, um estudo de laboratório mostrou que *Escherichia coli* das mãos enluvadas, artificialmente contaminadas, foi completamente removida pela lavagem com água e sabão. A lavagem foi mais de 1000 vezes mais efetiva na remoção de *E. coli* das mãos enluvadas do que nas mãos sem luvas.³⁹ Levando em consideração estes dados, nossos resultados podem estar superdimensionados. Mas acreditamos que isto não alterou a tendência dos resultados obtidos no estudo.

Terceira limitação, a tipificação molecular (e.g., ERIC-PCR), técnica fundamental para o rastreamento epidemiológico das amostras de *Acinetobacter* spp. em nosso estudo, foi realizado em um reduzido número de amostras de *Acinetobacter* spp (4,4%, 22/495).

Os resultados do presente estudo mostraram que o álcool gel, o álcool etílico 70% e o sabão líquido não medicamentoso foram os produtos mais efetivos na descontaminação das mãos enluvadas dos profissionais de enfermagem durante o cuidado a pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter baumannii* multirresistentes e sugerem uma limitada ação da clorexidina a 2%.

Nossos resultados claramente demonstraram que os profissionais de enfermagem devem, obrigatoriamente, trocar suas luvas entre os cuidados de pacientes e também que quando eles removerem suas luvas devem, obrigatoriamente, fazer a higienização das mãos antes de calçar novas luvas para cuidar de outro paciente.

O estudo de laboratório confirmou a superioridade do álcool gel e do álcool etílico 70% na antissepsia das mãos, de voluntários humanos, artificialmente contaminadas com um isolado clínico de *Acinetobacter baumannii* multirresistente.

AGRADECIMENTOS

A Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná pelo apoio financeiro ao projeto (Protocolo FA-6566).

REFERÊNCIAS

1. Larson, E. L. APIC guidelines for handwashing and hand antisepsis in health care settings. *American journal of infection control* 1995;23(4):251-269.
2. Boyce JM, Pittet D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002; 23(suppl. 12):S3-40.
3. Bergogne-Bérézin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter* spp.: an increasing problem. *J. Hosp. Infect* 1991;18 (Suppl. A):250-55.
4. Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbio Rev* 1996;9:148-165.
5. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Rev* 2007;5:939-951.
6. Rossi F. The challenges of Antimicrobial resistance in Brazil. *Clinical Infectious Diseases* 2011;52(9):1138-1143.
7. Getschell-White SI, Donowitz LG, Groschel DHM. The inanimate environment of an intensive care unit as a potential source of nosocomial bacteria: evidence for long survival of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol* 1989;10:402-406.

8. Wendt C, Dietze B, Dietz E, Ruden H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J. Clin. Microbiol* 1997;35:1394-97.
9. Buxton AE, Anderson RL, Werdegar D, Atlas E. Nosocomial respiratory tract infection and colonization with *Acinetobacter calcoaceticus*. Epidemiologic characteristics. *Am. J. Med* 1978;65:507-12.
10. Allen KD, Green HT. Hospital outbreaks of multi-resistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread ? *J Hosp Infect* 1987;9:110-19.
11. Sakata H, Fujita K, Maruyama S, Kakehashi H, Mori Y, Yoshioka H. *Acinetobacter calcoaceticus* biovar *anitratus* septicaemia in a neonatal intensive care unit: epidemiology and control. *J. Hosp. Infect* 1989;14:15-22,.
12. Go SE, Urban C, Burns J, Kreiswirth B, Eisner W, Mariano N, Mosinka-Snipas K, *et al.* Clinical and molecular epidemiology of acinetobacter infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet* 1994;344:1329-1332.
13. Saalfeld SMS, Fukita VG, Dias Siqueira VL, Cardoso CL, Garcia LB, Tognim MCB. . Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Brazilian intensive care unit. *The Journal of Hospital Infection* 2009; 72: 365-368.
14. Munhoz-Price, IS. Arheart, KL. Mills, JP. Cleary, T. DePascale, D. Jimenz, A. *et al.* Associations between bacterial contamination of health care workers' hands and contamination of white coats and scrubs. *Am J Infect Control* 2012;40:245-248.
15. Silva, SRB. Rosa, MM. Wingeter, MA. Pinto, NB. Cardoso, CL. *et al.* Hand contamination during hospital patient care. *Int J Infect Dis.* 2012;16(8):e641-2.
16. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – ANVISA. Ministério da Saúde. Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas a Assistência a Saúde. Brasília 2013;80p.

17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty - Second Informational Supplement: M100-S22. Wayne, PA: CLSI;2012
18. Bier O. Microbiologia e Imunologia.Melhoramentos 1985; 24:919-998.
19. MacFaddin JF. Biochemical tests identification of medical bacteria..Lippincott William &Wilkins. 3ed. 2000; Philadelphia:327 e 368.
20. Bouvet PJ, Grimont PA. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1987;138.
21. Silbert S, Pfaller MA, Holli RJ, Barth AL, Sader HS. Evaluation of three molecular typing techniques for nonfermentative Gram-negative bacilli. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:847-851.
22. Van Belkum A, Struelens M, Visser A, Verbrugh H, Tibayrene M. Role of Genomic Typing in Taxonomy, Evolutionary Genetics, and Microbial Epidemiology. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:547-560.
23. Ayliffe GAJ, Babb R, Quoraishi AH. A test for hygienic hand disinfection. *J Clin Pathol* 1978;31(suppl 10): 923-28.
24. Lilly, H.A.; Lowbury, E.J.L. Transient skin flora. Their removal by cleansing or disinfection in relation to their mode of deposition. *J Clin Pathol*, 1978;31(10): 919-22.
25. Miles AA, Misra SS, & Irwin,J.O. The estimation of the bactericidal power of the blood. *J Hyg* 1938;38:732-49.
26. Guilhermetti M, Hernandez SED, Garcia LB, Cardoso CL. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated hands. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;229(2):105-108.
27. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Higienização das mãos em serviços de saúde. Brasília 2007:52.

28. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Segurança do paciente – Higienização das mãos*. Brasília 2009:105.
29. Widmer AE, Conzelmann M, Tomic M, Frei R, Stranden AM. Introducing alcohol-based hand rub for hand hygiene: the critical need for training. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;28:50-54.
30. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* Outbreaks, 1977-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:284-295
31. Markogiannakis A, Fildisis G, Tsiplakou S, Ikonomidis A, Pournaras S, Manolis E, *et al.* Cross-Transmission of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* clonal strains causing episodes of sepsis in a trauma intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:410-417.
32. Rossoff LJ, *et al.* Is the use of boxed gloves in an Intensive Care Unit Safe? *The American Journal of Medicine* 1993;94:602-607.
33. Diaz MH, *et al.* Contamination of examination gloves in patient rooms and implications for transmission of antimicrobial-resistant microorganisms. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29(1):63-65.
34. Girou E, Loyeau S, Legrand P, Oppein F, Brun-Buisson C. Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomised clinical trial. *BMJ* 2002;325(7360):362.
35. Lucet JC, *et al.* Hand contamination before and after different hand hygiene techniques: a randomised clinical trial. *Journal of Hospital Infection* 2002; 50:276-280.
36. Chow A, *et al.* Alcohol handrubbing and chlorhexidine handwashing protocols for routine hospital practice: A randomized clinical trial of protocol efficacy and time effectiveness. *Am J Infect Control* 2012; 40: 800-805.

37. Cardoso CL, Pereira HH, Zequim JC, Guilhermetti M. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing *Acinetobacter baumannii* strain from contaminated hands. *Am J Infect Control* 1999;27:327-331.
38. Pittet D, Dharan S, Touvneau S, Sauvan V, Perneger TV. Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Arch Intern Med* 1999;159:821-6.
39. Newsom SWB, Rowland C. Application of the hygienic hand-disinfection test to the gloves hand. *Journal Hospital Infection* 1989;14:245-247.

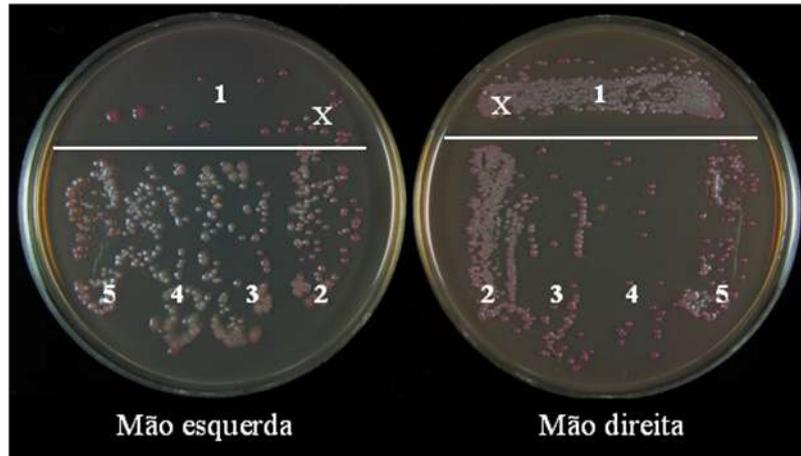


FIGURA 2. Contaminação das mãos enluvadas de um profissional de enfermagem durante o atendimento a paciente colonizado ou infectado com *Acinetobacter spp.* multirresistente. As mãos foram amostradas empregando-se a técnica de impressão e deslizamento dos dedos em superfície de Ágar MacConkey.

Nota: Dedos: 1. Polegar; 2. Indicador; 3. Médio; 4. Anular; 5. Mínimo.

TABELA 1. Distribuição das amostragens das mãos dos profissionais de enfermagem pela técnica de impressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar MacConkey, distribuídas por paciente e data.

Profissional de Enfermagem (N = 23)	Paciente (N = 12)	Data
1	A	08/05/11
1	B	19/05/11
2	C	03/06/11
3		08/06/11
2		14/06/11
2		15/06/11
4	D	16/06/11
5		20/06/11
6		21/06/11
1		22/06/11
2	E	17/06/11
3		19/06/11
4		20/06/11
4		21/06/11
7	F	23/01/12
8		24/01/12
8		25/01/12
4		26/01/12
9	G	28/01/12
4		30/01/12
10		31/01/12
11		01/02/12
9	H	29/01/12
12		30/01/12
13		01/02/12
14		02/02/12
8	I	02/02/12
6		03/02/12
5		04/02/12
4		05/02/12
15	J	21/04/12
17		22/04/12
19		24/04/12
20		25/04/12
16	K	21/04/12
6		22/04/12
18		23/04/12
6		24/04/12
21	L	21/05/12
22		23/05/12
23	M	06/09/12
23		07/09/12
23		08/09/12
23		10/09/12

TABELA 2. Dados demográficos dos 12 pacientes infectados ou colonizados por *Acinetobacter* spp, internados na UTI-A, no período de maio de 2011 a setembro de 2012.

Variável	N
No. pacientes	12
Infectados	9
Colonizados	3
Masculino	9
Feminino	3
Idade (anos)	66 (42-90)
Média UTI/resultado clínico (dias)	25 (4-60)
Média UTI/amostra mãos (dias)	36 (10-71)

TABELA 3. Suscetibilidade dos isolados clínicos dos 12 pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp, internados na Unidade de Terapia Intensiva Adulto do Hospital Universitário de Maringá.

Agentes antimicrobianos	Padrão de interpretação da CIM ¹		
	Sensível No.(%)	Intermediário No.(%)	Resistente No.(%)
Amicacina	– ²	–	12 (100%)
Ampicilina/sulbactam ³	–	–	9 (100%)
Cefepima	–	–	12 (100%)
Cefotaxima ⁴	–	–	3 (100%)
Ceftazidima ³	–	–	9 (100%)
Ceftriaxona	–	–	12 (100%)
Ciprofloxacina	–	–	12 (100%)
Gentamicina	–	–	12 (100%)
Imipenem	–	–	12 (100%)
Levofloxacina	–	–	12 (100%)
Meropenem	–	–	12 (100%)
Piperacilina/tazobactam	–	–	12 (100%)
Tetraciclina	1 (8,33%)	9 (75%)	2 (16,6%)
Tobramicina	–	–	12 (100%)
Trimetoprim/sulfametoxazol	1 (8,33%)	–	11 (91,6%)

1. CIM, concentração inibitória mínima, determinada pelo método de micro diluição, sistema automatizado BD Phoenix, utilizando-se painéis NMIC/ID-121 (pacientes A, D e G) e NMIC/ID-123 (pacientes B, C, E, F, H-L;

2. Não detectado; 3. Testado em 9 isolados; 4. Testado em 3 isolados.

NOTA. Padrão de interpretação de acordo com o “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2012).

TABELA 4. Efeito imediato dos agentes degermantes sobre a flora bacteriana transitória das mãos dos profissionais de enfermagem.

Dedos	Número de colônias recuperadas dos dedos pela técnica de impressão e deslizamento							
	Sabão		Clorexidina		Álcool gel		Álcool 70%	
	Contagem inicial ¹	Contagem Final ²	Contagem inicial ¹	Contagem Final ²	Contagem inicial ¹	Contagem Final ²	Contagem inicial ¹	Contagem Final ²
1. POD	778	2	207	15	956	-	802	-
2. IND	1113	- ³	301	10	816	-	1036	-
3. MED	823	-	276	54	1522	-	811	-
4. AND	924	-	194	4	1210	1	841	-
5. MID	841	-	167	-	1203	-	728	-
6. POE	605	-	162	24	1324	-	994	-
7. INE	1569	1	565	6	1007	-	964	-
8. MEE	953	-	264	25	1250	-	1195	1
9. ANE	995	-	151	2	877	-	772	1
10.MIE	1264	-	453	11	859	-	831	-
TOTAL	9865	3	2740	151	11024	1	8974	2

1, Controle: mãos enluvadas após o cuidado ao paciente (A3); 2, Teste: mãos enluvadas após a higienização com os agentes degermantes (A4); 3. Ausência de crescimento. Nota. O número de colônias das contagens iniciais foram ajustados considerando os dedos com crescimento confluinte, onde foram atribuídos valores de 350UFC/dedo confluinte.

TABELA 5. Efeito imediato dos agentes degermantes sobre a flora bacteriana transitória das mãos de profissionais de enfermagem, expressa pelo fator de redução logarítmica¹ (FRL).

Agentes Degermantes	Contagem Inicial²	Contagem Final³	Taxa de Remoção FRL
Álcool etílico	3,95	0,30	3,65
Álcool gel	4,04	— ⁴	4,04
Clorexidina	3,43	2,17	1,26
Sabão líquido	3,99	0,47	3,52

1. Log_{10} da média da contagem inicial, menos o log_{10} da média da contagem final.

2, Controle: mãos enluvadas após o cuidado ao paciente (A3); 3, Teste: mãos enluvadas após a higienização com os agentes degermantes (A4); 4. Ausência de crescimento.

TABELA 6. Espectro de atividade dos agentes antimicrobianos testados contra 69 amostras do complexo *Acinetobacter baumannii/haemolyticus* isoladas das mãos dos profissionais de enfermagem durante os cuidados aos pacientes colonizados ou infectados com *Acinetobacter* spp, internados na Unidade de Terapia Intensiva Adulto do Hospital Universitário de Maringá.

Agentes antimicrobianos	CIM 50 ¹	CIM 90 ²	% Sensível	% Intermediário	% Resistente
Amicacina	>32	>32	3 (4,34%)	2 (2,8%)	64 (92,75%)
Ampicilina/sulbactam	16/8	>16/8	17 (24,63%)	31 (44,92%)	21 (30,43%)
Cefepima	>16	>16	– ³	3 (4,34%)	66 (95,65%)
Cefotaxima	>32	>32	–	–	69 (100%)
Ceftazidima	>16	>16	–	–	69 (100%)
Ceftriaxona	>32	>32	–	–	69 (100%)
Ciprofloxacina	>2/4	>2/4	–	–	69 (100%)
Gentamicina	>8	>8	1 (1,44%)	2 (2,89%)	66 (95,64%)
Imipenem	>8	>8	10 (14,49%)	3 (4,34%)	56 (81,15%)
Levofloxacina	>4	>4	–	31 (44,92%)	38 (55,07%)
Meropenem ⁴	>8	>8	10 (23,80%)	–	32 (76,19%)
Piperacilina/tazobactam ⁵	>64	>64	–	1 (3,70%)	26 (96,29%)
Tetraciclina	≤4	>8	54 (78,26%)	3 (4,34%)	12 (17,39%)
Ticarcilina/clavulonato	>64	>64	9 (13,04%)	3 (4,34%)	57 (82,60%)
Tobramicina	>8	>8	3 (4,34%)	–	66 (95,64%)
Trimetoprim/sulfametoxazol	≥4/76	≥4/76	12 (17,39%)	–	57 (82,60%)

1. CIM, concentração inibitória mínima capaz de eliminar 50% dos microrganismos. 2. CIM, concentração inibitória mínima capaz de eliminar 90% dos microrganismos. 3. Não detectado; 4. Testado em 42 isolados; 5. Testado em 27 isolados. NOTA. Padrão de interpretação de acordo com o “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2014).

TABELA 7. Efeito imediato dos agentes degermantes na remoção de *A. baumannii* multirresistente das mãos contaminadas, expresso em Log_{10} da média do número de células viáveis recuperadas.

Voluntários	Contagem inicial ¹	Após tratamento ² com:			
		Sabão	Clorexidina	Álcool gel	Álcool 70%
1	7,19	5,43	4,03	2,50	2,04
2	7,26	5,66	3,63	3,49	2,33
3	7,25	4,86	5,23	– ³	2,08
4	7,11	4,50	5,25	2,71	2,71
5	7,10	5,28	4,11	3,25	3,70
Média ± dp:	7,18 ± 0,07	5,14 ± 0,46	4,45 ± 0,74	2,39 ± 1,39	2,57 ± 0,68

1. Controles, sem tratamento. Log_{10} da média da contagem de viáveis recuperadas das mãos direita e esquerda. 2. Log_{10} da média da contagem de viáveis recuperadas das pontas dos dedos após tratamento. 3. Ausência de crescimento.

TABELA 8. Efeito imediato dos agentes degermantes na remoção de *A. baumannii* multirresistente das mãos contaminadas, expressa pelo fator de redução logarítmica¹ (FRL).

Agentes Degermantes²	<i>Acinetobacter baumannii</i>
	Taxa de Remoção FRL \pm desvio padrão
Álcool etílico	4,61 \pm 0,61
Álcool gel	4,79 \pm 1,32
Clorexidina	2,73 \pm 0,67
Sabão líquido	2,04 \pm 0,39
Controle³	7,18\pm0,07

1. \log_{10} da média da contagem inicial menos o \log_{10} da média da contagem final. 2. Álcool etílico 70% (p/p) (Merck KgaA, Darmstadt, Alemanha); Álcool gel 70% (v/v) (Riogel, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil); Clorexidina 2% (Riohex, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.); sabão líquido não medicamentoso (Handtech perolizado erva doce, Adhetec Química Indústria e Comércio Ltda., Sumaré, SP, Brasil). 3. Voluntário sem tratamento com os agentes degermantes.

TABELA 9. Controle do “carryover”: Student’s *t* teste da média do Log₁₀ das unidades formadoras de colônias do microrganismo teste (*A. baumannii*) suspenso no filtrado do líquido de amostragem obtido após o tratamento das mãos com os agentes degermantes (teste) e em solução salina (controle).

Microrganismo Teste e Tratamento	Solução Salina (Controle) Média¹ ± DP	Filtrado Líquido de Amostragem Média¹ ± DP	Valor de <i>P</i>[†]
<i>A. baumannii</i>			
Álcool etílico	3,20 ± 0,54	3,25 ± 0,40	0.8686
Álcool gel	3,15 ± 0,59	3,15 ± 0,61	0,9919
Clorexidina	3,22 ± 0,52	3,21 ± 0,53	0,9814
Sabão	3,32 ± 0,30	3,39 ± 0,30	0,7320

1. Média de 5 contagens realizadas em triplicata pela técnica da contagem na gota. Abreviações: DP, desvio padrão; *t*, Student’s *t* teste. [†]Não significativo (*P* > .05).

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: “Avaliação da Higienização das Mãos no Cuidado de Pacientes Infectados ou Colonizados com *Acinetobacter* spp.”

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa intitulada “**Avaliação da higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados ou colonizados com *Acinetobacter* spp.**”, que faz parte do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e é orientada pelo professor Celso Luiz Cardoso do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Estadual de Maringá. O objetivo da pesquisa é investigar a eficácia dos produtos usados na higienização de mãos do pessoal de enfermagem durante os cuidados ao paciente, colonizado ou infectado com *Acinetobacter* spp.

Para isto a sua participação é muito importante e ela se dará da seguinte forma: você ira deslizar seus dedos em uma placa contendo meio de cultura para crescimento microbiano nos seguintes momentos durante o cuidado do paciente: **A1**, antes do início do procedimento e após a higienização das mãos com água e sabão (controle inicial das mãos); **A2**, após colocar luvas de procedimento (controle das luvas); **A3**, com luvas após o cuidado do paciente (avaliar a contaminação das mãos enluvadas); **A4**, após a higienização das mãos enluvadas (verificar a eficácia dos produtos); **A5**, após a remoção das luvas (investigar a passagem dos microrganismos através das luvas); **A6**, após a remoção das luvas e higienização das mãos (controle final das mãos). Este procedimento não apresenta risco de contaminação dos profissionais de saúde, pois o meio de cultura usado para a amostragem das mãos é estéril, isto é, isento de microrganismos. Informo ainda que o material biológico obtido (colônias bacterianas) será usado apenas para o estudo proposto e após será descartado, seguindo as normas de segurança no trabalho microbiológico.

Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Nós esperamos que a realização do presente estudo possa contribuir para o melhor conhecimento da eficácia dos principais agentes degermantes utilizados na prática hospitalar em nosso meio para a higienização das mãos dos profissionais da saúde.

Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar no endereço abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Eu, _____, declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa coordenada pelo Professor Celso Luiz Cardoso.

Data: ____/____/2012.

Assinatura ou impressão datiloscópica

Eu, **Sandra Regina Bin Silva** declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

Data: ____/____/2012.

Assinatura do pesquisador

Endereço do Coordenador da Pesquisa:

Prof. Celso Luiz Cardoso. Laboratório de Microbiologia (Sala 116, Bloco I-90), Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo 5790 – Campus Universitário. CEP 87020-900 Maringá, PR, Brasil. Telefone: (44) 3011-4953. E-mail: clcardoso@uem.br

Endereço do COPEP/UEM:

Comitê Permanente de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá – COPEP/UEM.

Universidade Estadual de Maringá.

Avenida Colombo, 5790. Campus Sede da UEM.

Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM.

CEP 87020-900. Maringá, PR, Brasil. Telefone: (44) 3261-4444. E-mail: copep@uem.br

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa intitulada “**Avaliação da higienização das mãos no cuidado de pacientes infectados ou colonizados com *Acinetobacter spp.***”, que faz parte do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e é orientada pelo professor Celso Luiz Cardoso do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Estadual de Maringá. O objetivo da pesquisa é investigar a eficácia dos produtos usados na higienização de mãos do pessoal de enfermagem durante os cuidados ao paciente, colonizado ou infectado com *Acinetobacter spp.*

Para isto a sua participação é muito importante e ela se dará da seguinte forma: você terá suas pontas dos dedos contaminadas com o microrganismo teste, depois fará a higienização das mãos utilizando a técnica recomendada pelo Ministério da Saúde. A seguir será feita a fricção das pontas dos dedos durante 3 minutos contra 10 g de pérolas de vidro contidas no interior de tubos de ensaio de fundo chato contendo 5 ml de água peptonada a 0,1% estéril para verificar se o microrganismo teste foi removido ou não pela higienização das mãos. Informamos que poderá ocorrer algum desconforto durante a amostragem dos dedos, mas você estará confortavelmente sentado e terá a assistência dos participantes do projeto.

Estudo deste tipo, apesar da contaminação temporária das pontas dos dedos, pode apresentar um pequeno risco de contaminação para você, mas todos os cuidados de biossegurança serão tomados para evitá-los. Assim, ao término do experimento, as mãos serão higienizadas com água e sabão por 40 a 60 segundos, secadas com auxílio de papel toalha estéril e depois friccionadas com preparação alcoólica por 20 a 30 segundos. Você ainda fará como controle final, uma nova amostragem das pontas dos dedos para comprovar a ausência do microrganismo teste.

Assumimos a responsabilidade de dar assistência integral às complicações e danos decorrentes dos riscos previstos. Assim, no caso de você sofrer alguma contaminação com o microrganismo teste, você será avaliado clinicamente e tratado pela Dra. Márcia Arias Wingeter, médica infectologista, docente do Departamento de Medicina de nossa Instituição e participante do projeto. Os eventuais custos decorrentes da compra de medicamentos (antibióticos) serão pagos com recursos próprios do coordenador da pesquisa. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Informamos também que o microrganismo teste e as bactérias da microbiota da pele serão utilizados para os fins estabelecidos na pesquisa e após serão descartadas de acordo com as normas de biossegurança do trabalho microbiológico. Nós esperamos que a realização do presente estudo possa contribuir para o melhor conhecimento da eficácia dos principais agentes degermantes utilizados na prática hospitalar em nosso meio para a higienização das mãos dos profissionais da saúde. Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar no endereço abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Eu, _____, declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa coordenada pelo Professor Celso Luiz Cardoso.

Data: ___/___/2013.

Assinatura ou impressão datiloscópica

Eu, **Sandra Regina Bin Silva**, declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

Data: ___/___/2013.

Assinatura do pesquisador

Endereço do Coordenador da Pesquisa:

Prof. Celso Luiz Cardoso. Laboratório de Microbiologia (Sala 116, Bloco I-90), Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo 5790 – Campus Universitário. CEP 87020-900 Maringá, PR, Brasil. Telefone: (44) 3011-4953. E-mail: clcardoso@uem.br

Endereço do COPEP/UEM:

Comitê Permanente de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá – COPEP/UEM.

Universidade Estadual de Maringá.

Avenida Colombo, 5790. Campus Sede da UEM.

Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM.

CEP 87020-900. Maringá, PR, Brasil. Telefone: (44) 3261-4444. E-mail: copep@uem.br

CAPÍTULO III – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que o álcool gel, o álcool etílico e o sabão foram os produtos mais efetivos na remoção de amostras multirresistentes de *A. baumannii* das mãos contaminadas na prática hospitalar. O estudo de laboratório confirmou a superioridade do álcool gel e álcool etílico na antissepsia das mãos artificialmente contaminadas com *A. baumannii* multirresistente.

Nossos resultados claramente demonstraram que os profissionais da saúde precisam trocar de luvas entre o cuidado de pacientes e também que quando eles retiram suas luvas eles precisam lavar suas mãos antes de calçar novas luvas para cuidar de outro paciente.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados encontrados em nosso estudo nos estimulam a dar continuidade às atividades de pesquisa neste assunto, com objetivo de entendermos melhor a persistência de *Acinetobacter baumannii* multirresistente na Unidade de Terapia Intensiva Adulto de nosso hospital. Medidas de controle de proteção anti-infecciosa, particularmente as técnicas de higienização das mãos e de isolamento devem ser implementados em nosso hospital. Estudos epidemiológicos devem ser realizados para investigar os possíveis reservatórios e fontes de infecção de *Acinetobacter baumannii* em nosso hospital.