

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

BRUNO CÔRTE SANTANA

**BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS EM MACAS DE
AMBULÂNCIAS**

BRASÍLIA
2020

BRUNO CÔRTE SANTANA

**BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS EM MACAS DE
AMBULÂNCIAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Enfermagem pelo Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade de Brasília.

Área de Concentração: Cuidado, Gestão e Tecnologias em Saúde e Enfermagem

Linha de Pesquisa: Processo de Cuidar em Saúde em Enfermagem

Orientadora: Doutora Paula Regina de Souza Hermann

BRASÍLIA
2020

Sb Santana, Bruno Côrte
 Bactérias gram-negativas isoladas em macas de
ambulâncias. / Bruno Côrte Santana; orientador Paula Regina
de Souza Hermann. -- Brasília, 2020.
 114 p.

 Dissertação (Mestrado - Mestrado em Enfermagem) --
Universidade de Brasília, 2020.

 1. Ambulâncias. 2. Contaminação de Equipamentos. 3.
Bactérias Gram-Negativas. 4. Enfermagem. 5. Segurança do
Paciente. I. Hermann, Paula Regina de Souza, orient. II.
Título.

BRUNO CÔRTE SANTANA

**BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS EM MACAS DE
AMBULÂNCIAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Mestre em
Enfermagem pelo Programa de Pós-Graduação
em Enfermagem da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 09/11/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Paula Regina de Souza Hermann
Presidente da Banca - Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Evandro Watanabe
Membro efetivo externo
Universidade de São Paulo - USP

Prof^a. Dr^a. Diana Lúcia Moura Pinho
Membro efetivo interno
Universidade de Brasília - UnB

Prof^a.Dr^a. Michelle Zampieri Ipolito
Membro suplente
Universidade de Brasília - UnB

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser fonte de sabedoria, amparo nas quedas e força para levantar-me.

Aos meus pais, irmã, avós, tios, tias, primos e primas, que me apoiaram em cada decisão e em cada momento, que se preocuparam e que estiveram ao meu lado. Com destaque, preciso falar de minha mãe Neide Maria Côrte, dos meus tios Jocicleide Santana Alves e Aldi Roldão Cabral, dos meus primos Artur Francisco Santana Roldão, Mário César Santana Roldão e João Emanuel Santana Roldão.

A minha noiva Raquel Almeida Gomes Aguiar, que no início do mestrado ainda era namorada e que após tantas superações aceitou a missão de casar-se comigo, corajosa! Preciso agradecer por seu companheirismo e participação ativa em diversos momentos no desenvolvimento desse trabalho e de nossa vida. Agradeço também a sua família, por acolher-me e auxiliar-me quando precisei.

Agradeço aos meus colegas de trabalho da Unidade de Pronto Atendimento – UPA de Ceilândia e da Diretoria de Análise Prévia e Procedimentos Preliminares – DIAPPP, pelo apoio durante todo o processo do mestrado. Especialmente, agradeço às minhas chefes Fabiana de Andrade Souza Braga e Liane Lourdes Silva de Menezes, na DIAPPP, por todo apoio nos ajustes da minha escala para que eu pudesse estar o máximo de tempo disponível para o mestrado. O mesmo agradecimento faço a meu ex-chefe Tiago, na UPA, e a colega Ana Paula Ferreira Borges, que tanto me ajudaram.

A Universidade de Brasília – UnB, a qual devo o agradecimento pela minha formação desde a graduação. O agradecimento à UnB precisa ser personificado na figura dos professores que tanto apoiam-nos no processo formativo, que garantem a qualidade e excelência da universidade, mas que são injustiçados, constantemente desvalorizados e agredidos.

Carinho especial tenho à Faculdade de Ceilândia – FCE/UnB, que foi minha casa na graduação e acolheu-me na pós-graduação. Na FCE/UnB, preciso destacar o meu agradecimento aos técnicos de laboratório e aos seguranças do *campus*, que foram minhas companhias nos finais de semanas, nas noites, dando-me apoio constante.

Ao Professor Doutor Alex Leite Pereira, ao qual devo diversos agradecimentos e elogios, por sua dedicação, empenho e apoio durante as análises microbiológicas. Sua didática e bom humor tornaram o aprendizado mais fácil e divertido. Junto ao professor Alex, preciso agradecer a Pâmela Maria de Oliveira e a Verônica, pelo apoio com a microbiologia e biologia molecular.

Ao Decanato de Pós-Graduação – DPG/UnB, que por meio de dois editais de fomento à pesquisa, subsidiaram financeiramente o desenvolvimento dessa pesquisa.

Agradeço ao Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal – LACEN-DF, por meio do servidor Everton, por me receberem e auxiliarem na identificação das espécies bacterianas estudadas.

Aos colegas Alberto Augusto Martins Paiva, Álex Mendes Crisostomo, Alinne Moraes de Sousa, Bárbara Soares Rodrigues, Breno de Sousa Santana, Caroline Melo Lopes, Gabriel Simas Antunes, Handson Marques, Hélio de Souza Júnior, Jéssica dos Santos Guedes, Juliana Caetano Matos Costa, Laiza Thaina Araújo Rodrigues, Layse Farias Nava, Lyvia Mota da Silva, Michele de Castro Fernandes, Nayane Pereira Dias, Pablo Wendel Bonfim, Rebeca Galeano dos Santos, Sabrina Luciano de Araújo, Scarlat Nayra Jesus Ferreira, Stéphanie Mendes Lopes, Thomas Rafael Queiroz de Souza, Vitória Reis Soares e Vitória Borges de Ataídes Roriz, que contribuíram substancialmente para o trabalho, como membros da coleta de dados, sem vocês eu não teria esse estudo.

Agradeço ao Renato Viana Chagas e ao Tiago Silva Vaz, que foram os responsáveis pelos dois serviços onde a coleta de dados foi realizada. O aceite de vocês em abrir as portas dos serviços para que esse estudo fosse realizado, mostra o compromisso de vocês com a enfermagem.

Aos Professores Doutores Evandro Watanabe, Diana Lúcia Moura Pinho e Michelle Zampiere Ipolito, membros da banca, agradeço a disponibilidade para a leitura e correção desse trabalho. As contribuições feitas foram valiosas.

Finalmente, mas certamente não menos importante, dispense muita gratidão à Professora Doutora Paula Regina de Souza Hermann, quem me orientou. Um enorme espaço para crescimento e aprendizado foi propiciado por ela. Obrigado por acalmar minhas angústias, puxar a orelha quando necessário e incentivar-me sempre, assumindo a responsabilidade e postura de orientadora como poucas. Espero que meu desempenho tenha retribuído o seu empenho em mim e nesse trabalho.

SANTANA, Bruno Côrte. **Bactérias gram-negativas isoladas em macas de ambulâncias**. 2020. 129 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Programa de Pós-Graduação Enfermagem, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

RESUMO

Introdução: No ambiente hospitalar, a dinâmica das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde e o seu controle são estudadas a longa data. Entretanto, no cenário pré-hospitalar a produção de conhecimento a esse respeito ainda é exíguo. Sendo assim, investigar a presença de microrganismos em ambulâncias faz-se necessário, sob a ótica de que a contaminação de superfícies ainda é uma das principais causas para disseminação de bactérias resistentes. Sendo preciso responder a necessidade de implementação de ações globais feita pela Organização Mundial da Saúde, que argumenta pela realização de pesquisas como estratégia ao enfrentamento. **Objetivo:** Investigar a ocorrência de bactérias gram-negativas resistentes a carbapenem em macas de ambulâncias terrestres de suporte avançado de vida em serviço público e privado. **Método:** Estudo correlacional descritivo, de abordagem quantitativa, realizado em dezembro de 2019, em um serviço público e em um serviço privado do Distrito Federal, Brasil. A coleta ocorreu durante três dias consecutivos e em dois turnos, em doze macas de ambulâncias, sendo seis de cada serviço. Fez-se coleta microbiológica com swabs umedecido no meio de transporte e avaliação visual de sujidade no colchão, traçado, grades e alça da maca. O isolamento e identificação de bactérias gram-negativas foi em meio Luria Bertani sob pressão de seleção com meropenem, a determinação da espécie em meio cromogênico e pelo MALDI-TOF. O teste de sensibilidade aos antimicrobianos usando polisensidisk conforme BRCast e, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase buscou-se a presença dos genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* e ESBL CTX-M dos grupos 1, 2, e 8. **Resultados:** Foram isoladas 23 bactérias gram-negativas, em sua maioria (39,13%) da espécie *Stenotrophomonas maltophilia*. Não foram encontrados *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* e ESBL CTX-M dos grupos 1 e 2. Foram identificadas seis bactérias portando *bla_{CTX-M}* do grupo 8, dentre as quais destaca-se dois isolados de *Acinetobacter baumannii*, resistentes aos cinco antibióticos, de três classes distintas, testadas. Os enfermeiros são os profissionais mais frequentemente citados como responsáveis por realizarem a limpeza e desinfecção das superfícies, sem a padronização dos produtos utilizados, sendo a solução alcoólica a 70% mais utilizada. A maioria das superfícies estavam sujas. Não houve diferenças entre serviço público e privado. **Conclusão:** Macas de ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre são contaminadas por bactérias gram-negativas, a maioria *S. maltophilia* e *A. baumannii*, com cepas portando gene de resistência *bla_{CTX-M}* do grupo 8.

Palavras-chave: Ambulâncias; Contaminação de Equipamentos; Enfermagem; Bactérias Gram-Negativas; Segurança do Paciente.

SANTANA, Bruno Côrte. **Gram-negative bacteria isolated on ambulance stretchers.** 2020. 129 p. Dissertation (Master) – Postgraduate Nursing Program Course, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, 2020.

ABSTRACT

Introduction: In the hospital environment, the study of the dynamics of Health Care-Associated Infections and their control has been taking place for a long time. However, in the pre-hospital scenario the production of knowledge in this regard is still small. Therefore, investigating the presence of microorganisms in ambulances is necessary, under the view that surface contamination is still one of the main causes for the spread of resistant bacteria. It is necessary to respond to the need to implement global actions carried out by the World Health Organization, which argues for conducting research as a coping strategy. **Purpose:** Investigating the occurrence of gram-negative bacteria resistant to carbapenem on stretchers of terrestrial ambulances with advanced life support in public and private service. **Method:** Descriptive correlational study, with a quantitative approach, carried out in December 2019, in a public service and in a private service in the Distrito Federal, Brazil. The collection took place over three consecutive days and on two shifts, on twelve ambulance stretchers, six from each service. Microbiological collection was performed with swabs moistened with the means of transport and visual assessment of dirt on the mattress, layout, grids and stretcher handle. The isolation and identification of gram-negative bacteria was performed in Luria Bertani medium under selection pressure with meropenem, species determination in chromogenic medium and by MALDI-TOF. The antimicrobial susceptibility test using polisensidisk according to BRCast and through the Polymerase Chain Reaction, the presence of the *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* and ESBL CTX-M genes in groups 1, 2, and 8 was searched. **Results:** in the study were found 23 gram-negative bacteria who resisted the selection pressure with meropenem, mostly (39.13%) of the species *Stenotrophomonas maltophilia*. No *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* and ESBL CTX-M from groups 1 and 2 were found. Six bacteria carrying *bla_{CTX-M}* from group 8 were identified, among which two *Acinetobacter baumannii* isolates stand out were resistant to the five antibiotics, of three different classes, tested. Nurses are the professionals most often cited as responsible for cleaning and disinfecting surfaces, without standardizing the products used, with 70% more alcoholic solution being used. Most of the surfaces were dirty. There were no differences between public and private service. It was also noted flaws in the cleaning and disinfection process of the evaluated surfaces and that nurses are the professionals most often cited as responsible for cleaning and disinfecting the surfaces. **Conclusion:** Ambulance stretchers with advanced terrestrial life support is contaminated by gram-negative bacteria, the majority *S. maltophilia* and *A. baumannii*, with 26.08% carried *bla_{CTX-M}* in the group 8.

Keywords: Ambulances; Equipment contamination; Nursing; Gram-negative bacteria; Patient Safety.

SANTANA, Bruno Côrte. **Bacterias grannegativas aislado en camillas de ambulancia.** 2020. 129 f. Tesis (Maestría) – Curso del Programa de Posgrado en Enfermería, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Brasilia, Brasilia, 2020.

RESUMEN

Introducción: En el ámbito hospitalario, la dinámica de las Infecciones Relacionadas con la Asistencia Sanitaria y su control ha sido estudiada durante mucho tiempo. Sin embargo, en el escenario prehospitario, la producción de conocimiento al respecto es aún escasa. Por tanto, es necesario investigar la presencia de microorganismos en las ambulancias, considerando que la contaminación superficial sigue siendo una de las principales causas de la propagación de bacterias resistentes. Es necesario responder a la necesidad de implementar acciones globales llevadas a cabo por la Organización Mundial de la Salud, que aboga por realizar la investigación como estrategia de afrontamiento. **Objetivo:** Investigar la ocurrencia de bacterias gramnegativas resistentes a carbapenémicos en camillas de ambulancias terrestres con soporte vital avanzado en servicio público y privado. **Método:** Estudio descriptivo correlacional, con enfoque cuantitativo, realizado en diciembre de 2019, en un servicio público y en un servicio privado en el Distrito Federal, Brasil. La recogida se realizó durante tres días consecutivos y en dos turnos, en doce camillas de ambulancia, seis de cada servicio. La recolección microbiológica se realizó con swabs humedecidos con el medio de transporte y evaluación visual de suciedad en el colchón, disposición, rejillas y asa de camilla. El aislamiento e identificación de bacterias gramnegativas se realizó en medio Luria Bertani bajo presión de selección con meropenem, determinación de la especie en medio cromogénico y por MALDI-TOF. Se buscó la prueba de sensibilidad a antimicrobianos mediante polisensidisco según BRCASST y, a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa, se buscó la presencia de los grupos 1, 2 y 8 *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* y ESBL CTX-M. **Resultados:** se aislaron 23 bacterias gramnegativas, en su mayoría (39,13%) de la especie *Stenotrophomonas maltophilia*. No se encontraron *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* y ESBL CTX-M de los grupos 1 y 2. Se identificaron seis bacterias portadoras de *bla_{CTX-M}* del grupo 8, entre las cuales dos aislamientos de *Acinetobacter baumannii*, resistentes a los cinco antibióticos, de tres clases diferentes, probados. Las enfermeras son los profesionales más citados como responsables de la limpieza y desinfección de superficies, sin estandarizar los productos utilizados, utilizándose un 70% más de solución alcohólica. La mayoría de las superficies estaban sucias. No hubo diferencias entre el servicio público y el privado. **Conclusión:** Las camillas de ambulancia con soporte vital terrestre avanzado están contaminadas por bacterias gramnegativas, la mayoría de ellas *S. maltophilia* y *A. baumannii*, portadoras del gen de resistencia *bla_{CTX-M}* del grupo 8.

Palabras clave: Ambulancias; Contaminación de Equipos; Enfermería; Bacterias Gramnegativas; Seguridad del Paciente.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação de 5 possíveis rotas de disseminação de RM entre: 1) Paciente e profissional de saúde; 2) Paciente e o ambiente; 3) Profissional de saúde o paciente; 4) Ambiente e o paciente; 5) Ambiente e o profissional de saúde.....	33
Figura 2 – Ilustração de maca ambulâncias, com destaque dos locais de coleta.....	38
Figura 3 – Ilustração do traçado que recobre o colchão da maca da ambulância.....	38
Figura 4 – Etapas da coleta de dados. *Etapas 4 e 5 ocorreram de forma simultânea.....	41
Figura 5 – a) Instrução do fabricante sobre local de abertura indicado pela seta e pela inscrição “ <i>peel here</i> ” na porção superior do <i>swab</i> ; b) Fricção da ponta do <i>swab</i> umedecida sobre a área de coleta.....	44
Figura 6 – Fases da avaliação microbiológica.....	45
Figura 7 – a) aquecimento da tesoura até o ponto de incandescência; b) pontas dos <i>swabs</i> incubadas em meio LB; c) meio de cultura incubado em estufa 36±1°C.....	46
Figura 8 – a) Resultado o semeio em ágar cromogênico ESBL (LABORCLIN – Brasil), como crescimento de dois grupos presuntivos distintos; b) técnica de semeio para obtenção de colônias isoladas.....	47
Figura 9 – Gel de agarose 1%, corado e sob visualização no transiluminador UV. Apenas o controle positivo foi amplificado (<i>aplicon</i> ao lado do marcador de peso molecular na fileira de baixo)	51
Figura 10 – Reação de PCR para <i>blaVIM</i> em gel de agarose a 1%, sob transiluminação UV. Apenas reação do controle foi amplificada (<i>aplicon</i> de aproximadamente 332pb, ao lado do marcador de peso molecular na fileira de baixo)	58
Figura 11 – TSA de isolado de <i>Acinetobacter baumannii</i> resistente aos 5 antibióticos aprovados para teste pelo EUCAST/BRCAS (2020) e portador de <i>blaCTX-M-8</i>	59
Figura 12 – Distribuição das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre no território do Distrito Federal, durante os três dias de coleta, 2019. Distribuição de cores do serviço público por ambulâncias: A - Laranja; B – Azul Claro; D – Vermelha; E – Cinza; F – Azul Escuro; Distribuição de cores do serviço privado por ambulâncias: A - Verde; B – Grafite; C – Roxa; D – Vinho; E – Azul-Turquesa; F – Amarela.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação das beta-lactamases segundo Bush e Jacoby.....	26
Tabela 2 – Insumos para o ensaio de PCR.....	48
Tabela 3 – Lista dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados e condições de PCR.....	49
Tabela 4 – Lista de antibióticos utilizado no TSA.....	53
Tabela 5 – Meios de Cultura Utilizados.....	54
Tabela 6 – Bactérias Gram-negativas isoladas das macas das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre. Serviço Público. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	56
Tabela 7 – Bactérias Gram-negativas isoladas das macas das ambulâncias de suporte avançado.....	57
Tabela 8 – Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos e gene de resistência dos BGN identificados nas macas das ambulâncias. Serviços Público e privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	58
Tabela 9 – Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos dos BGN identificados nas macas das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre. Serviços Público e Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	60
Tabela 10 – Associação entre a realização de L&D, por categoria profissional e sexo e comparação com o crescimento ou não bacteriano. Serviço Público. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	60
Tabela 11 – Descrição da realização ou não de L&D, por categoria profissional e sexo e comparação com o crescimento ou não bacteriano. Serviço Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	61
Tabela 12 – Descrição do produto utilizado na L&D e comparação com o crescimento bacteriano. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	61
Tabela 13 – Produto utilizado na L&D e sua relação com o crescimento bacteriano. Serviço público. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	62
Tabela 14 – Produto utilizado na L&D e sua relação com o crescimento bacteriano. Serviço privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	62
Tabela 15 – Associação entre a inspeção visual, por local examinado e crescimento microbiano. Serviço Público e Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	63
Tabela 16 – Comparação entre a inspeção visual, por local examinado e realização de L&D. Serviço Público. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	63

Tabela 17 – Comparação entre a inspeção visual, por local examinado e realização de L&D. Serviço Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	64
Tabela 18 – Motivo de saída das ambulâncias de suporte avançado de vida e o percurso (ponto de origem e destino) para serviço público e privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC™	<i>American Type Culture Collection.</i>
BGN	Bactérias gram-negativas
BGNF	Bacilos gram-negativos não fermentadores
BMV	Bolsa Válvula Máscara
CCIH	Controle de Infecção de Hospitalar
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ESBL	<i>Extended-spectrum beta-lactamase</i>
EUA	Estados Unidos da América
FCE	Faculdade de Ceilândia
FEPECS	Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde
GPTEC	Grupo de Pesquisa em Tecnologia do Cuidar
IMP	<i>Imipenemase metallo-β-lactamase</i>
IPCSL	Infecções Primárias de Corrente Sanguínea Confirmadas Laboratorialmente
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
ITU	Infecções do Trato Urinário
ITU-CVD	Trato Urinário relacionado a Cateter Vesical de Demora
KESC	<i>Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp. ou Citrobacter spp.</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i>
LACEN-DF	Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal
LB	Luria Bertani
LPS	Lipopolissacarídeos
MALDI-TOF	<i>Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight</i>
MH	Ágar <i>Mueller Hinton</i>
MRSA	Meticilina
NDM	<i>New Delhi metallo-β-lactamase</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxacilinasas
PBP	<i>Penicillin-binding proteins</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase

PNPCIRAS	Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
PNSP	Programa Nacional de Segurança do Paciente
PPGEnf	Programa de Pós-Graduação em Enfermagem
RA	Regiões Administrativas
RM	Resistência Microbiana
SAAN	Setor de Armazenamento e Abastecimento Norte
SCAT	Superfícies Altamente Tocadas
SIA	Setor de Indústria e Abastecimento
SUS	Sistema Único de Saúde
TAE	Tris-acetato-EDTA
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEM-1	Temoniera
TMP-SMX	Sulfametoxazol/trimetoprima
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
UnB	Universidade de Brasília
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatogênica
USA	Unidade de Suporte Avançado de Vida
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultravioleta
VIM	<i>Verona integron-encoded metallo-β-lactamase</i>
WHO	World Health Organization.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 Bactérias gram-negativas: breves apontamentos	19
3.1.1 <i>Enterobacteriaceae</i>	19
3.1.2 Bacilos gram-negativos não fermentadores.....	20
3.1.3 <i>Achromobacter</i>	20
3.1.4 <i>Acinetobacter</i>	21
3.1.5 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	22
3.1.6 β -Lactâmicos.....	23
3.1.7 Cefalosporinas.....	23
3.1.8 Carbapenêmicos.....	24
3.1.9 Resistência aos β -lactâmicos.....	24
3.1.10 Classificação de Ambler.....	25
3.1.11 <i>Extended-spectrum beta-lactamase</i> – ESBL.....	26
3.1.12 Carbapenemases.....	27
3.1.13 <i>Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight</i> (MALDI-TOF)....	28
3.2 Cenário da bactéria gram-negativa no Brasil e no Distrito Federal	29
3.4 O papel do enfermeiro frente a resistência microbiana	30
4 MÉTODO	36
4.1 Delineamento do estudo	36
4.2 Local e período do estudo	36
4.3 População	37
4.4 Amostra	38
4.5 Critérios de elegibilidade	39
4.6 Protocolo de coleta de dados	41
4.7 Aspectos Éticos	55
5 RESULTADOS	56
6 DISCUSSÃO	67
6.1 Limitações	73

7 CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS.....	76
APÊNDICES.....	89
APÊNDICE A.....	90
APÊNDICE B.....	91
APÊNDICE C.....	92
APÊNDICE D.....	94
APÊNDICE E.....	96
ANEXOS.....	102
ANEXO A.....	103
ANEXO B.....	108

APRESENTAÇÃO

Antes de falar sobre a motivação para a realização deste trabalho, é preciso recordar a minha trajetória pessoal, acadêmica e profissional. Do ponto de vista pessoal, características como curiosidade e facilidade, para aprender novas informações, são apontadas frequentemente por amigos e familiares como aspectos relevantes da minha personalidade. Acredito que tais características a mim atribuídas, ajudaram a reforçar o meu interesse pela formação acadêmica.

Após ingressar no curso de graduação em enfermagem, tornou-se crescente o meu envolvimento com atividades acadêmicas, em especial as de ensino, sendo tutor e monitor de disciplinas pelas quais me interessei, e com a extensão. O envolvimento com essas duas atividades mostrou-me que era fundamental o envolvimento com a pesquisa, para que eu fosse capaz de compreender melhor os aspectos da formação acadêmica e, que este era o caminho que eu deveria percorrer, visando trabalhar na docência, algo consideravelmente motivador.

Ainda durante a graduação, fui inserido na vida profissional, no maior hospital público do Distrito Federal, que foi um local de extremo aprendizado e onde comecei a notar que havia uma dissociação entre o que eu aprendia na universidade e o que era realmente executado, fato que me trouxe alguns questionamentos. Novamente, descobri que o universo da pesquisa poderia apresentar recursos importantes para que eu pudesse ter conhecimento da realidade a qual estava inserido, possibilitando trabalhar para mudar este cenário.

Foi com esse raciocínio que, após a graduação, quando tive a oportunidade de trabalhar num serviço de ambulâncias terrestres, percebi o quanto intensa é a diferença entre os ensinamentos acadêmicos e a realidade. Talvez o desejo de salvar vidas sobrepujasse aspectos muito relevantes da assistência à saúde, como a segurança do paciente. Foi essa experiência que subsidiou a escolha do tema de pesquisa desta dissertação.

Certamente o mestrado contribuiu para o meu crescimento pessoal, profissional e acadêmico. Diversas dificuldades sobrevieram e resiliência passou a ser a palavra-chave em alguns momentos. O apoio e ajuda dos amigos, chefes, colegas de trabalho e da minha orientadora foram essenciais. Chegar ao fim dessa trajetória, com este estudo, como fruto do trabalho, dar-me a sensação de dever cumprido. Portanto, apesar desta dissertação representar o fim de uma jornada, ela também representa o início de atividades que ainda irei desenvolver, apresentar resultados aos serviços, locais de coleta de dados deste estudo, contribuirá para reflexão crítica sobre a microbiota em ambulâncias. Além disso, o desenvolvimento desse trabalho trouxe-me muitos questionamentos, os quais ainda quero investigar.

1 INTRODUÇÃO

No ambiente hospitalar, a dinâmica das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e o seu controle são estudadas a longa data, entretanto, no cenário pré-hospitalar a produção de conhecimento a esse respeito é exíguo, ainda que seja descrito na literatura a contaminação de ambulâncias terrestres e aéreas, por bactérias (CAMERON *et al.*, 1986; GALTELLI; DESCHAMP; ROGERS 2006; ALVES; BISSELL 2008; SOZZI, 2019; ALVES, *et al.*, 2018).

Sendo assim, investigar a presença de contaminação em ambulâncias faz-se necessário, sob a ótica de que a contaminação de superfícies ainda é uma das principais causas para disseminação de bactérias resistentes (CDC, 2019). Para isso, técnicas de investigação microbiológica, molecular e a inspeção visual são utilizadas em pesquisa sobre essa temática (RUTALA; WEBER, 2016; FROTA *et al.*, 2017).

Os principais microrganismos isolados de ambulâncias foram *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis*, em umidificador de oxigênio (CAMERON *et al.*, 1986). *Staphylococcus* resistente à meticilina (MRSA), *Pseudomonas* e *Escherichia Coli* (WPLER *et al.*, 2015; GALTELLI; DESCHAMP; ROGERS, 2006; ALVES; BISSELL, 2008).

Contudo, é preciso destacar que ainda são poucos os estudos, como o de O'Hara *et al.* (2017) e de Rago *et al.* (2012), que se dedicam a realizar caracterização molecular das bactérias isoladas de ambulâncias. A transmissão de genes de resistência é o que causa a sua dispersão global, facilitada pelo fácil deslocamento intercontinental de pessoas portadoras desses microrganismos.

Para o enfrentamento da resistência microbiana foi elaborado o Plano de Ação Global em Resistência Microbiana, que possui cinco objetivos, contemplando a necessidade de produzir conhecimento sobre como a resistência microbiana e sua disseminação no meio ambiente (WHO, 2015).

Para interromper a cadeia de transmissão de IRAS e microrganismos multirresistentes, a OMS (2015), ANVISA (2012) e o *Centers for Disease Control and Prevention* – CDC (2008) propõem que a higiene dos ambientes que entram em contato com os pacientes constitui estratégia fundamental para o controle de infecções.

Destaca-se que os locais de contato direto com pacientes devem receber atenção ao processo de limpeza e desinfecção, uma vez que podem ser reservatórios de microrganismos

com potencial de causar infecção. Nesse sentido, Santos-Júnior *et al.* (2018) recomenda que é necessário usar técnicas que avaliem a efetividade dos processos de limpeza e desinfecção de superfícies.

Apesar de não haver um consenso sobre qual o melhor método para a avaliação de limpeza e desinfecção, e a literatura apontar para uma discrepância entre os resultados entre um método e outro, devido à carência de um método mais específico para esse tipo de avaliação, a bioluminescência do ATP, a contagem microbiológica e a inspeção visual são ainda os métodos disponíveis e apontados como os de escolha para avaliação do processo de limpeza e desinfecção (RUTALA; WEBER, 2016; FROTA *et al.*, 2017).

Estudo de Santos-Júnior *et al.* (2018) apontam que mesmo no ambiente onde o controle de infecção é mais presente, também há falhas no processo de limpeza e desinfecção.

Considera-se que as ambulâncias são reservatórios dinâmicos e importantes de microrganismos, inclusive os multirresistentes (WPLER *et al.*, 2015; ALVES; BISSELL, 2008). A revisão da literatura sobre a microbiota de ambulâncias e outras instalações de serviços da emergência, identificou *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Enterococcus* resistente à vancomicina, *Klebsiella pneumoniae*, microrganismos de importância epidemiológica nas infecções relacionadas à assistência à saúde (HUDSON, 2018)

Soma-se aqui as proposições da necessidade de implementação de ações globais feita pela OMS, que argumenta pela realização de pesquisas como estratégia ao enfrentamento às Bactérias Multirresistentes (RM) (WHO, 2015).

Neste contexto, a realização deste trabalho se justifica pela necessidade de estudos sobre microbiota das ambulâncias, a fim de que se possam fornecer subsídios para elucidar aspectos relacionados a cadeia de transmissão de infecção, com foco em bactérias Gram-negativas. Além disso, contribuir para o planejamento de ações que visem a segurança do paciente e dos profissionais de saúde em ambulâncias, na perspectiva do ambiente biologicamente seguro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Investigar a ocorrência de bactérias gram-negativas resistentes a carbapenem em macas de ambulâncias terrestres de suporte avançado de vida em serviço público e privado.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar a presença de cepas de gram-negativos resistentes a carbapenem em macas de ambulâncias terrestres de suporte avançado de vida;
- Descrever o perfil de susceptibilidade a antibióticos das cepas de gram-negativos isolados de macas de ambulâncias terrestres de suporte avançado de vida;
- Buscar a presença dos genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA48}* e ESBL CTX-M dos grupos 1, 2, e 8 nas cepas isoladas das macas de ambulâncias terrestres de suporte avançado de vida;
- Verificar, por meio do auto relato, como os profissionais de saúde realizam a limpeza e desinfecção da maca após o atendimento de pacientes nos serviços público e privado;
- Relacionar o tipo de produto utilizado na limpeza e desinfecção da maca e o crescimento bacteriano nos dois serviços (público e privado).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Bactérias gram-negativas: breves apontamentos

A classificação das bactérias em “gram-negativas” e “gram-positivas” está associada a reação da bactérias frente ao processo de coloração de Gram, que é constituído por quatro etapas, que ao final, confere uma cor arroxeada em organismos com parede celular com camada de peptidoglicano mais espessa e é categorizado como “gram-positivo”, enquanto nas espécies com parede celular com camada de peptidoglicano mais delgada, tem-se uma coloração rosácea, é categorizada como “gram-negativo” (PROCOP *et al.*, 2018).

Essa classificação é importante, pois dá ao microbiologista e ao clínico, condições para que alguma terapêutica seja iniciada e permite o conhecimento de mecanismos fisiológicos e de virulência associados às espécies gram-positivas ou negativas (PROCOP *et al.*, 2018).

Em bactérias gram-negativas a parede celular é mais fina que em gram-positivas, contudo suas estruturas extracelulares são mais complexas e apresentam diversas enzimas (proteases, β -lactamases, nucleosidases etc.) no espaço periplasmático. Na parede celular dessas bactérias ainda podem ser encontradas lipopolissacarídeos (LPS), componente estrutural da membrana e que está associado a toxicidade sistêmica no hospedeiro, quando liberadas no organismo e desencadeiam resposta inflamatória sistêmica, sepse e choque séptico (PROCOP *et al.*, 2018).

3.1.1 *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae é uma família de bactérias gram-negativas, as quais são frequentemente isoladas em amostras clínicas. São bactérias amplamente dispersas na natureza, sendo encontradas no solo, água, plantas e nos intestinos de animais e seres humanos (como o nome da família sugere) (PROCOP *et al.*, 2018).

Espécies como *Shigella* spp. e *Salmonella* spp. se adaptaram ao organismo humano e são consideradas patógenos primários, enquanto outras como *Kebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* podem constituir parte da microbiota normal de seres humanos, mas que podem causar infecções oportunistas (FARIÑAS; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, 2013).

Sabe-se que membros da família *Enterobacteriaceae* podem ser apontados como agente etiológico em quase todos os tipos de doenças infecciosas e isoladas em qualquer tipo de

amostra levada ao laboratório. Indivíduos imunossuprimidos são extremamente suscetíveis às Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e o contato com superfícies contaminadas ou a exposição a procedimentos invasivos contribui para aquisição de infecção pelos pacientes suscetíveis (PROCOP *et al.*, 2018).

3.1.2 Bacilos gram-negativos não fermentadores

Bacilos gram-negativos não fermentadores (BGNNF) compõem um grupo de bactérias aeróbias, incapazes de formar esporos, que não utilizam açúcares como fonte de energia e que não decompõem carboidratos por meio da fermentação (PROCOP *et al.*, 2018).

Diferente da família *Enterobacteriaceae*, os BGNNF não podem ser incluídos em uma única família com gêneros bem definidos, sendo assim BGNNF têm sido classificadas em pelo menos 22 famílias, nas quais pode-se encontrar o *Achromobacter* (*Alcaligenaceae*), *Acinetobacter* (*Moraxellaceae*), *Pseudomonas* (*Pseudomonadaceae*) e *Stenotrophomonas* (*Xanthomonadaceae*) (PROCOP *et al.*, 2018).

3.1.3 *Achromobacter*

Yabuuchi e Yano (1981) descreveram o gênero *Achoromobacter* pela primeira vez, que a princípio continha apenas uma espécie, o *Achromobacter xylosoxidans*, mas mais tarde os mesmos autores propuseram outras espécies, entre elas o *Achromobacter denitrificans*.

Achoromobacter spp. é amplamente distribuído, aeróbio, encontrado em ambiente aquático e no solo além de poder ser encontrado como constituinte na microbiota comensal do intestino humano (SWENSON; SADIKOT, 2014) e vem sendo cada vez mais descrito na literatura como patógeno nosocomial clinicamente significativo (AMOUREUX *et al.*, 2013).

Espécies de *Achoromobacter*, em especial o *Achromobacter xylosoxidans* tem sido descrito como patógeno em infecções das vias aéreas, em especial em pessoas portadoras de fibrose cística, além de estar associado ao declínio da funcional pulmonar nesses pacientes e além de ter a capacidade de ser transmitido de pessoa para pessoa (SWENSON; SADIKOT, 2014; SCHAFFER, 2015; CAPIZZANI, 2017).

Soma-se à sua relevância clínica, o fato de que *A. xylosoxidans* é intrinsecamente resistente à cefalotina, cefoxitina, cefotaxima, aztreonam e aos aminoglisídeos, além de já ter

sido reportado os mecanismos de resistência adquirida à carbapenêmicos, como enzimas do grupo *bla*_{oxa-114} (AMOUREUX *et al.*, 2013).

3.1.4 *Acinetobacter*

Coloração Gram-negativa, crescimento em aerobiose e ausência de motilidade são características do gênero *Acinetobacter*. As espécies de *Acinetobacter* tem ampla disseminação na natureza, sendo encontrada na água e no solo (CHOI *et al.*, 2012).

Por facilmente se desenvolver no meio ambiente, *Acinetobacter* spp. tem sido isolado em superfícies de diversos equipamentos médicos e, por isso, é apontado como o patógeno mais comum no ambiente hospitalar (FALAGAS; RAFAILIDIS, 2007; KANG *et al.*, 2012), além de ser o agente etiológico de IRAS, especialmente em pacientes de imunocomprometidos e internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (MUNOZ-PRICE; WEINSTEIN, 2008).

Algumas espécies de *Acinetobacter*, como *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii* apresentam características genótípicas e fenotípicas relacionadas, em razão disso os laboratórios muitas vezes têm dificuldade em identificar fenotipicamente as espécies. Nesse contexto, essas espécies são relatadas como pertencentes ao *Complexo Acinetobacter calcoaceticus – Acinetobacter baumannii* (PROCOP *et al.*, 2018).

Desse complexo, destaca-se em virulência, gravidade de infecção e piores desfechos clínicos, o *A. baumannii*, por isso, Procop *et al.* (2018) recomendam que exista um esforço na separação dessa espécie isolada em amostras clínicas, pois pode representar ganho no efeito do tratamento a ser adotado.

Soma-se à virulência e a gravidade das IRAS causadas por *A. baumannii* a frequência de ocorrência de resistência a múltiplas drogas, que é relacionado a expressão de β -lactamases, enzimas contra aminoglicosídeos, diminuição da expressão de sítios de ligação para as quinolonas e a presença de bombas efluxo na membrana celular. (FISHBAIN; PELEG, 2010)

A. baumannii tem uma relevante capacidade de sobreviver por longos períodos em superfície secas de dispositivos médicos, resistindo a altas temperaturas, variação do pH e formando biofilme, o que facilita sua dispersão no ambiente hospitalar. Sendo assim, a ocorrência de isolados de *A. baumannii* deve ser entendido com evento sentinela (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008; NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016).

No Brasil, o primeiro surto por *A. baumannii* ocorreu em 1999 em Curitiba, com linhagens resistente à múltiplas drogas e portadoras de enzimas do tipo *bla*_{oxa-23} e *bla*_{oxa-18}

(VIEIRA; PICOLI, 2015), em 2018 *Acinetobacter* spp. foi o terceiro microrganismo mais frequentemente isolado em infecções primárias de corrente sanguínea, com linhagens resistentes a carbapenêmicos e a polimixina (BRASIL, 2020), dado que reafirma a necessidade de vigilância desse germe.

3.1.5 *Stenotrophomonas maltophilia*

Trate-se de um bacilo, móvel e aeróbio obrigatório. É onipresente e pode ser encontrado praticamente em todos os espécimes clínicos. No ambiente hospitalar *S. maltophilia* apresentou uma frequência maior de mutações genéticas, quando comparados a isolados ambientais, sugerindo um processo adaptativo ao ambiente hospitalar (BERG; SMALLA, 1999; PROCOP *et al.*, 2018).

É comumente encontrado colonizando superfícies de dispositivos médicos e, nos últimos anos, tem emergido com um microrganismo resistente a múltiplas drogas e de importância médica, causando infecções, em especial em pacientes imunocomprometidos e naqueles internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e em unidades de longa permanência (BROOKE, 2012).

Por questões inatas (p. ex. baixa permeabilidade de membrana, produção de β -lactameses) a *S. maltophilia* apresenta um amplo espectro de resistência a praticamente todas as classes de antibióticos, inclusive a carbapenêmicos e, em algumas cepas, ao sulfametoxazol/trimetoprima (TMP-SMX), antibiótico de escolha para o tratamento de infecções por *S. maltophilia* (BROOKE, 2012).

O cenário do risco de infecção causado pela contaminação das superfícies é potencializado pelas poucas opções terapêuticas no caso do estabelecimento de infecções por esse microrganismo. Sabe-se que TMP-SMX pode apresentar falha terapêutica e, nesse caso, não há consenso quanto a qual opção terapêutica pode ser viável e bem-sucedida, associa-se a isso a possibilidade de superinfecções durante a antibioticoterapia, razões que relacionam a infecção por *S. maltophilia* ao aumento da mortalidade hospitalar (BROOKE, 2012)

No Brasil, infecções por *S. maltophilia* têm sido reportadas. Apesar de não haver dados de âmbito nacional da prevalência de infecções causadas por essa bactéria, no estudo de Lemos *et al.* (2019) foi reportado uma frequência de 1,17% das infecções estudadas, sendo causadas por *S. maltophilia*, com 100% dos isolados sensíveis ao TMP-SMX, nessa esteira dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) reportam *S. maltophilia* como agente

etiológico em Infecções Primárias de Corrente Sanguínea Confirmadas Laboratorialmente (IPCSL), quadro agravado devido ao isolamento de cepas resistentes ao TMP-SMX (BRASIL, 2020).

3.1.6 β -Lactâmicos

Alexander Fleming em 1929, enquanto buscava por substâncias bactericidas, expôs uma placa de Petri com uma cultura de *Staphylococcus* ao ar, o que ocasionou o crescimento de um contaminante que foi capaz de inibir o crescimento da bactéria que estava sendo cultivada, posteriormente o contaminante foi identificado como sendo o fungo *Penicillium notatum* e a substância inibidora do crescimento identificada como penicilina (FLEMING, 1929).

Desde a descoberta de Fleming várias outras moléculas de β -lactâmicos foram descobertas. Essack (2001) delimita que os β -lactâmicos podem ser devidos em quatro grupos, a saber: penicilinas, cefalosporinas, monobactams e carbapenêmicos, todos tendo em comum o anel β -lactâmico e se diferenciando pela presença de moléculas associadas que conferem mudança no seu espectro de ação.

Antibióticos dessa classe funcionam ao impedir a formação da parede bacteriana ao ligarem-se às Proteínas de Ligação à Penicilina (PBP, do inglês *Penicillin-binding proteins*) que são essenciais na formação do peptidoglicano, principal componente da parede celular. Assim, fragiliza a estrutura celular e provoca a morte bacteriana (BUSH; BRADFORD, 2016).

As penicilinas tiveram grande sucesso, em especial durante a segunda guerra mundial, no tratamento de infecções em feridas de guerra, contudo o potencial de qualquer agente terapêutico pode ser comprometido pelo desenvolvimento de mecanismos de resistência por parte dos microrganismos (AZEVEDO, 2014).

Com a ampla utilização das penicilinas, em meados da década de 1960 houve um advento de bactérias resistentes aos β -lactâmicos, que foi, em algum grau, vencido com o desenvolvimento de outras classes de antimicrobianos (ESSACK, 2001), como as cefalosporinas.

3.1.7 Cefalosporinas

Cefalosporinas surgiram, na década de 1980, como alternativa no tratamento das infecções por germes resistentes as penicilinas. Tem o seu primeiro composto sendo o a

cefalosporina C, desenvolvida em 1950 e que abriu caminho para o desenvolvimento de diversas outras cefalosporinas que são, classicamente, divididas em cefalosporinas de 1^a, 2^a, 3^a, 4^a e 5^a gerações (BUSH; BRADFORD, 2016).

Cefalosporinas foram opções terapêuticas amplamente utilizadas, devido sua resistência às penicilinas, entretanto, com aumento da utilização e o uso indiscriminado desse fármaco, na década de 1980 começa-se a descrição de ineficácia do tratamento, com o isolamento de bactérias produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL, do inglês *Extended-spectrum beta-lactamase*), capazes de hidrolisar cefalosporinas de 3^a Geração (QUEIROZ, 2012).

3.1.8 Carbapenêmicos

A tienamicina foi o primeiro carbapenêmico encontrado, apesar de um potente efeito bactericida, amplo espectro e resistência às penicilinas, era quimicamente instável, por isso, teve sua produção abandonada, mas permitiu o desenvolvimento do imipenem que seria o primeiro antibiótico dessa classe a ser comercializado (BUSH; BRADFORD, 2016).

Atualmente, é a classe de β -lactâmico mais amplamente utilizado em infecções graves, em especial em pacientes internados em UTIs, devido sua capacidade de resistir às ESBLs (NICOLETTI; RUSSO; BONFIGLIO, 2002), entretanto, o advento das carbapenemases tem representado risco de ausência de tratamento a infecções graves no futuro, especialmente em organismos gram-negativos (VASOO; BARRETO; TOSH, 2015).

3.1.9 Resistência aos β -lactâmicos

Os mecanismos de resistência microbiana estão ligados a estratégias de sobrevivência e perpetuação das espécies (OLIVEIRA, 2020), e são anteriores a utilização de antibióticos, com o relato de espécies, portanto, genes de resistência aos β -lactâmicos, datando de trinta mil anos atrás (D' COSTA *et al.*, 2011). Corrobora com essa descrição, o fato de que as primeiras carbapenemases isoladas, na Europa e nos Estados Unidos da América (EUA), foram encontradas antes da utilização dos carbapenêmicos, nesses países (QUEENAN; BUSH, 2007).

A capacidade de resistir aos antimicrobianos era, inicialmente, atribuída apenas a resistência inata e a genes cromossomais, como era visto em *S. maltophilia* que possuem em

seu cromossomo os genes L1, que codifica β -lactamases capazes de hidrolisar carbapenêmicos (SANCHEZ; HERNANDEZ; MARTINEZ, 2009; IACONIS; SANDERS, 1990).

Contudo, o grande problema na resistência microbiana está associado a capacidade de transmissão horizontal de genes de resistência, fenômeno amplamente observado em gram-negativos. Essa transmissão pode ocorrer de formas distintas (conjugação, transformação e transdução) e associada a elementos móveis (*integrans*, *transposons*) e plasmídeos o que é preponderante para que a disseminação da resistência bacteriana tenha característica pandêmica (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012; QUEENAN; BUSH, 2007).

A primeira β -lactamase foi encontrada em um isolado de *Escherichia coli* em meados de 1960, em Atenas, Grécia, em um paciente chamado Temoniera, que derivou o nome TEM-1 atribuído a essa enzima. TEM-1 é capaz de hidrolisar penicilinas e cefalosporinas de 1ª geração, o fato de ser codificada por genes localizados em plasmídeos e transposons, permitiu a sua disseminação mundial. Atualmente, TEM-1 pode ser encontrada em diferentes membros da família das *Enterobacteriaceae* e em *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus Influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* entre outras espécies (MEDEIROS, 1984; BRADFORD, 2001).

Muitos podem ser os mecanismos de resistências, expressos em bactérias gram-negativas. A resistência pode ser mediada por diminuição de transportadores de membrana (porinas) e bombas de efluxo, por exemplo, contudo enzimas que hidrolisam os antibióticos são a principal forma, especialmente quando se trata da resistência a carbapenêmicos observada em gram-negativos (ARZANLOU; CHAI; VENTER, 2017; BONOMO *et al.*, 2018).

3.1.10 Classificação de Ambler

Historicamente, as enzimas do tipo β -lactamases são classificadas pela proposta de Ambler (1980), que classificou as enzimas em quatro estratos, a saber: A, B, C e D. A classificação considera a estrutura molecular da enzima, nesse sentido enzimas pertencentes às classes A, C e D, são chamadas serina- β -lactamases, pois possuem um aminoácido serina no sítio catalítico e as enzimas de classe B são classificadas como metalo- β -lactamases, pois precisam de um cofator metálico (geralmente o zinco) para executar sua atividade catalítica (AMBLER, 1980; ANDRADE; DARIN, 2017).

Complementarmente ao trabalho de Ambler, Bush (1988) expandiu a classificação proposta combinando características estruturais e funcionais, Bush, Jacoby e Medeiros (1995) ampliaram essa classificação propondo a organização em 3 grupos que se associam a letras,

para caracterizar a enzima. Recentemente, Bush e Jacoby (2010) atualizaram a sua classificação, sendo que as carbapenemases estão no grupo 2df, 2f, 3^a e 3b, enquanto os ESBL estão no grupo 2be e 2df (Tabela 1).

Tabela 1 – Classificação das beta-lactamases segundo Bush e Jacoby.

Grupo Bush e Jacoby	Classe Molecular	Enzimas representativas	Grupo de enzimas (espectro/potencial de hidrólise)	Substratos
2be	A	CTX-M-2	ESBL	Cefalosporinas
2de	A	OXA-11, 15;	ESBL	Cefalosporinas
2df	D	OXA-23, 48	Carbapenemase	Cefalosporinas,
2f	D	KPC-2, 3	Carbapenemase	Cefalosporinas, Carbapenêmicos
3 ^a	B (MBL)	IMP-1, VIM-1, NDM-1	Carbapenemase	Cefalosporinas, Carbapenêmicos

Fonte: Adaptado de Andrade e Darini (2017).

3.1.11 *Extended-spectrum beta-lactamase* – ESBL

Pertencentes ao grupo 2be e 2df de Bush e Jacoby (2010) e a como possuem uma serina no sítio ativo pertencem à classe A de Ambler (1980). As ESBL são capazes de hidrolisar o anel β -lactâmico e conseqüentemente inativar uma ampla quantidade em de antibióticos, porém tem especial relevância por terem a capacidade de hidrolisar cefalosporinas 3^a geração (AMELIA *et al.*, 2016).

Devido a prevalência e a disseminação β -lactamases as cefalosporinas de 3^a geração foram introduzidas no mercado em 1980 por terem estrutura molecular resistente as enzimas descritas até então. Entretanto, devido à alta pressão de seleção devido ao uso intenso dessa nova classe de medicamentos houve o aparecimento de enzimas capazes de hidrolisar as cefalosporinas de 3^a geração e em 1983 foram descritas as primeiras ESBL, isoladas de *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens*, essa ESBL era uma variante da penicilinase SHV-1, com apenas 1 aminoácido de diferença e recebeu o nome de SHV-2 (JACOBY; MEDEIROS, 1991; SILVA; LINCOPAN, 2012; KNOTHE *et al.*, 1983)

Após a descoberta de variantes de TEM e SHV de ação de espectro estendido (ESBL), em 1990 a Alemanha reportou a descoberta de uma cefalosporinase que não pertencia as famílias TEM e SHV, elas receberam a denominação de CTX-M (em alusão a sua resistência à cefotaxima), mais tarde foram descritos os genes TOHO 1 e TOHO2 (por terem disso descritas pela primeira vez Toho, Tóquio), que são codificadas pelos genes bla_{CTX-M-44} e bla_{CTX-M-45}, respectivamente. (SILVA; LINCOPAN, 2012; ISHII *et al.*, 1995). Atualmente, são descritas

mais de 150 variantes de CTX-M e são consideradas as ESBL mais amplamente disseminadas no mundo (SILVA; LINCOPAN, 2012; KARIM; NASGARANJAN; NORDMANN, 2001)

A ampla disseminação das ESBL deve-se ao fato de que os genes que as codificam geralmente estão associadas a plasmídeos conjugativos, os quais podem disseminar a resistência aos β -lactâmicos e a outros antibióticos, além disso os genes costumam estar localizados em elementos genéticos móveis que podem, a partir de diversos mecanismos, migrarem para diferentes plasmídeos e disseminar a resistência para outros organismos da mesma espécie ou de espécies diferentes (CARLI, 2006; KARIM; NASGARANJAN; NORDMANN, 2001).

Todos esses fatos, fazem com que as ESBL, com destaque para as CTX-M, tenham proporções de pandemia e sejam um problema de saúde pública, com ênfase no crescimento na identificação de ESBLs em infecções comunitárias (PONCE-DE-LEON *et al.*, 2018).

3.1.12 Carbapenemases

Alternativamente à crescente inefetividade das cefalosporinas e diante da crescente disseminação das ESBL, os carbapenêmicos foram introduzidos no mercado que com o seu uso frequente favoreceu a RM e tornou-se crescente a detecção de carbapenemases, que foram inicialmente atribuídas a genes cromossômicos, como aqueles encontrados em *Stenotrophomonas maltophilia* (L1) e em *Bacillus cereus* (BcII) que eram metalo- β -enzimas (classe B) (MEINI; LLARULL; VILA, 2015).

Contudo, assim como nas ESBL, a criticidade na disseminação das carbapenemases ocorre em função da sua codificação genética estar associada aos elementos genéticos móveis (transposons, integrons, sequências de iniciação) e plasmídeos, sendo que a sua transmissão horizontal consiste no principal mecanismo pelo qual *Enterobacteriaceae*, bem como outros organismos gram-negativos adquirem resistência aos carbapenêmicos (VAN LOON; HOLT; VOS, 2018).

Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC), de classe A, é extensamente descrita em cepas de *K. pneumoniae*, mas mostra larga dispersão em outros *Enterobacteriaceae* e em não fermentadores da glicose como visto na *P. aeruginosa* (BONOMO *et al.*, 2018). Enzimas de classe B, também apresentam ampla disseminação em *Enterobacteriaceae* e em não fermentadores, *New Delhi metallo- β -lactamase* (NDM), *Verona integron-encoded metallo- β -lactamase* (VIM) e a *imipenemase metallo- β -lactamase* (IMP), tem sido relatada globalmente,

sendo a VIM e a IMP encontradas disseminadas em *P. aeruginosa* e *A. baumannii*. A essa gama de carbapenemases, tem-se a soma da OXA-48, pertencente ao grupo das oxacilinas (OXA) e de classe D (BONOMO *et al.*, 2018).

O isolamento da primeira KPC no mundo ocorreu na Carolina do Norte no fim da década de 1990 e rapidamente sua disseminação ocorreu por todo os EUA (YIGIT *et al.*, 2001). Em 2005, ocorreu o primeiro relato de KPC fora dos EUA, acontecido na França, relacionado a transmissão transoceânica da enzima, carregada por um paciente que havia passado por cirurgia nos EUA e precisou ser hospitalizado na França (NAAS *et al.*, 2005).

Em relação a NDM, o primeiro relato da exima ocorreu a partir de um paciente de origem indiana internado na Suécia, no ano de 2008, mas com internação anterior em hospital da Índia, mostrando novamente uma transmissão intercontinental (YONG *et al.*, 2009). VIM, OXA-48 e IMP, apresentam-se com o mesmo perfil de disseminação, sendo primeiro descrito em uma região geográfica específica, e com o passar dos anos, apresenta disseminação global, fenômeno associado com a disseminação horizontal dos genes de resistência (OLIVEIRA, 2020).

Para que seja possível enxergar a magnitude do problema com as carbapenemases, é preciso olhar para o passado, em que um estudo epidemiológico analisou o perfil de sensibilidade microbiana aos carbapenêmicos, entre os anos de 1997 e 2001, na Ásia, Europa, América do Norte e América Latina, demonstrando 99,9% de sensibilidade ao meropenem e ao imipenem, nos isolados analisados (n = 48.440) (SADER, BIEDENBACH, JONES, 2003).

Contudo, com o advento de numerosa quantidade de carbapenemases com um grande expoente de disseminação, o cenário epidemiológico mundial mudou, chegando a incidência de infecções por bactérias resistentes superior a dois milhões de pessoas anualmente, somente nos EUA e podendo ser observado taxas superiores a 60% de resistência aos carbapenêmicos em isolados clínicos no Brasil (BRASIL, 2019; CDC, 2019).

3.1.13 *Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight* (MALDI-TOF)

No campo da microbiologia clínica, a velocidade de identificação de patógenos tem relevância significativa, pois pode mudar significativamente o desfecho da situação de saúde dos pacientes ao permitir o início do tratamento direcionado ao microrganismo causador da infecção precocemente (PROCOP *et al.*, 2018).

A técnica do MALDI-TOF consiste na aplicação de inóculo microbiológico em uma placa com matriz polimérica que é irradiada com *laser*, o que leva a ionização e vaporização de diversas moléculas que são aspiradas por um tubo a vácuo até um sensor. Como cada molécula possui um tempo de chegada diferente ao sensor (*time-of-flight*), associado a espectrometria de massa, é possível gerar um espectro gráfico que quando comparado a banco de dados permite a identificação de bactérias em minutos, tempo muito inferior ao das identificações por técnicas fenotípicas e bioquímicas (PASTERNAK, 2012).

3.2 Cenário da bactéria gram-negativa no Brasil e no Distrito Federal

No Brasil, a primeira descrição de KPC data de 2009, e se referia a isolados recuperados de pacientes internados em UTI, no ano de 2006, no Recife (MONTEIRO *et al.*, 2009) e, posteriormente, clones de KPC foram responsáveis por surtos em diversos hospitais e cidades do Brasil (PAVEZ; MAMIZUKA; LINCOPAN, 2009).

Quanto a IMP, os primeiros casos datam de 2003 (LINCOPAN *et al.*, 2005), enquanto OXA-48 foi descrita pela primeira vez em 2014 (PINTO *et al.*, 2014). NDM que é a carbapenemase mais recentemente identificada, foi registrada no Brasil pela primeira vez em 2013 no Estado do Rio Grande do Sul (CARVALHO-ASSEF *et al.*, 2013).

As ESBL têm dispersão mais intensa nos hospitais do Brasil que nos hospitais dos EUA e Europa (QUEIROZ, 2012) e apesar de não haver uma estatística nacional sobre a dispersão dessas enzimas, sabe-se que as ESBL dos grupos CTX-M são as mais frequentes no Brasil, assim como na América do Sul (SILVA; LINCOPAN, 2012).

No Distrito Federal (DF), as ESBL do tipo CTX-M têm sido descritas como importantes no contexto clínico, causando a hospitalização de pacientes por Infecções do Trato Urinário (ITU) causadas por *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC), quanto a dispersão ambiental das ESBL, existe evidência de que a água residual de atividades hospitalares porta microrganismos produtores de ESBL (ARAÚJO, 2017; LENG RUBER, 2019).

No cenário da RM a carbapenêmicos, o relato dos primeiros surtos no Distrito Federal data de 2010, tendo ocorrido em um hospital universitário, e se expandindo para os outros hospitais da rede pública e privada. Após a investigação dos surtos, várias cepas de enterobactérias foram descritas como portadoras de KPC, uma outra investigação, composta por 524 amostras de hemocultura, realizada entre os anos de 2011 a 2013, identificou a

produção de *bla_{KPC}*, *bla_{IMP}* e *bla_{NDM}* em até 77% dos *Enterobacteriaceae* isolados (FARIA JÚNIOR, 2014).

Recentemente, um estudo realizado com amostras água de esgoto coletada de estações de tratamento do DF, demonstrou a contaminação por *K. pneumoniae* resistente a múltiplas drogas, pertencentes a complexos clonais epidêmicos e portando *bla_{KPC}* e *bla_{NDM}*, inclusive simultaneamente. O que sugeriu que o esgoto pode ser reservatório para dispersão dessa bactéria (OLIVEIRA, 2020).

Essas evidências, somadas à maneira como a resistência a carbapanêmicos ocorre, seguram a importância do monitoramento de diferentes possíveis reservatórios para RM, que possam ter papel potencial na disseminação de genes resistência.

3.4 O papel do enfermeiro frente a resistência microbiana

A ocorrência e a disseminação de microrganismos resistentes a múltiplas drogas apresentam-se de maneira epidêmica e globalmente disseminada. Os ambientes relacionados à assistência à saúde podem representar risco para a disseminação de microrganismos resistentes a antibióticos e que essa resistência global representa risco à saúde humana (WHO, 2020).

O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), em seu relatório mais recente, lançado em 2019, a respeito das ameaças relacionadas a resistência aos antibióticos nos EUA, discute que entre 2013 e 2019, houve um aumento de 124% do número de casos de *Neisseria gonorrhoeae* resistente à antibióticos, 50% de aumento no número de *Enterobacteriaceae* produtor de ESBL, além da incidência de mais de 2,8 milhões de infecções por germes resistentes à antibióticos por ano, resultando em mais de trinta e cinco mil mortes anualmente (CDC, 2019).

No Brasil, não há dado consolidado em âmbito nacional do número de infecções causadas por bactérias resistentes à antibióticos, contudo a ANVISA, faz o monitoramento nacional de algumas infecções, utilizadas como indicadores da segurança do paciente e da qualidade da assistência, fazendo o levantamento das infecções por bactérias com fenótipos de resistência. Os dados reportados à ANVISA no ano de 2018 e apontaram que entre os gram-negativos, *K. pneumoniae* foi o germe mais prevalente em diagnósticos de IPCSL, em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) adulto, pediátrica e neonatal, com percentual de resistência à carbapenêmicos e à cefalosporinas de 3^a geração que variaram entre 10% e 44%, dependendo do tipo de UTI (BRASIL, 2020).

Ainda, de acordo com o monitoramento da ANVISA, entre os não-fermentadores *Acinetobacter* spp. chama a atenção quanto a frequência de ocorrência de fenótipo de resistência à carbapenêmicos, que em UTI adulto, para IPCSL, chega a 79% nos isolados, representando o mais frequente fenótipo de resistência entre gram-negativos (BRASIL, 2020).

Em relação a Infecção do Trato Urinário relacionado a Cateter Vesical de Demora (ITU-CVD), *K. pneumoniae* permaneceu o patógeno mais frequentemente isolado, com 28% dos isolados com fenótipo de resistência à carbapenêmicos e à cefalosporinas de 3ª geração em UTIs adulto e 38% em UTIs pediátricas. *P. aeruginosa* apresentou-se como o não fermentador mais frequente com 42% de resistência a carbenêmicos em UTI adulto e 23% em UTI pediátrica (BRASIL, 2020)

No Distrito Federal, assim como em outras regiões do Brasil, destaca-se o volume de gram-negativos, com resistência a carbapenêmicos e a cefalosporinas de 3ª geração, no tocante as IPCSL. No cenário local, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e *K. pneumoniae* são os isolados mais frequentes nas IPCSL em UTIs adulto, com frequência de resistência à carbapenêmicos e cefalosporinas de 80% em *K. pneumoniae*. A resistência a carbapenêmicos foi de 80% para *Acinetobacter* spp. e de mais de 60% para *P. aeruginosa*. Em UTIs pediátricas e neonatais, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. foram os BGNNF mais frequentes, porém *Enterobacter* spp. assume a liderança entre os *Enterobacteriaceae*, contudo, em relação à resistência a carbapenêmicos em UTI pediátricas, nas IPCSL, *K. pneumoniae* é o mais resistente (mais de 30%) e em UTIs neonatais, *Enterobacter* spp. foi resistente a cefalosporinas em mais de 40% das vezes e a resistência a carbapenêmicos foi superior a 20%. *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp não apresentaram resistência a carbapenêmicos em UTIs pediátricas, enquanto em UTIs neonatais, a frequência foi superior a 30% (BRASIL, 2019).

É nesse contexto que a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou em 2015 o Plano de Ação Global em Resistência Microbiana, que possui 5 objetivos, a saber:

- 1) Melhorar o entendimento e o conhecimento sobre a resistência antimicrobiana, por meio da comunicação efetiva, educação e treinamento;
- 2) Fortalecer a base de conhecimento e vidência por meio da vigilância e pesquisa;
- 3) Reduzir a incidência de infecção através de saneamento eficaz, higiene e medidas de prevenção de infecção;
- 4) Otimizar o uso de medicamentos antimicrobianos na saúde humana e animal e;
- 5) Desenvolver o argumento econômico do investimento sustentável que leve em consideração das necessidades de todos os países e aumentar o investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções (WHO, 2015 p. 5, tradução nossa).

Diante do cenário global e das necessidades pungentes do Brasil quanto a disseminação da RM a ANVISA tem protagonismo e desempenha diversas ações para o monitoramento das IRAS, bem como da resistência a antibióticos, por meio de várias ações ao longo das últimas duas décadas, sobretudo sob a luz do Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS) e do Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde, ambos de 2016, que estão norteados pelo Programa Nacional de Segurança do Paciente (PNSP) em 2013 (BRASIL, 2013; BRASIL 2016a; BRASIL, 2016b).

A resposta da ANVISA, sobre o controle de infecções e o controle da disseminação da RM, no Brasil, remete à criação do Sistema Único de Saúde (SUS) e ao estabelecimento de seus objetivos, pela Lei 8.080 de 19 de setembro de 1990, que definiu a vigilância epidemiológica como campo de atuação do SUS (BRASIL, 1990).

Nessa esteira, a Portaria GM/MS nº. 2.616/1998 definiu:

Vigilância Epidemiológica das infecções hospitalares é a observação ativa, sistemática e contínua de sua ocorrência e de sua distribuição entre pacientes, hospitalizados ou não, e dos eventos e condições que afetam o risco de sua ocorrência, com vistas à execução oportuna das ações de prevenção e controle (BRASIL, 1998).

No escopo da segurança do paciente e dos programas de prevenção a IRAS e a RM, assim como no escopo do SUS e da vigilância epidemiológica, figura do enfermeiro e da enfermagem é evocada, atores que são estabelecidos como a maior força de trabalho dos serviços de saúde no Brasil (ENSP, 2015), e que, como tal, é vislumbrada como profissão com importância central na manutenção de um ambiente microbiologicamente seguro, em que se desenvolverá o cuidado

Esse papel da enfermagem é historicamente estabelecido pela Lei N 7.498/86, de 25 de junho de 1986 que dispõe sobre o exercício da enfermagem e é explicitado pelo seu decreto regulamentador n. 94.406/1987:

Art. 8º Ao Enfermeiro incumbe:

II como integrante da equipe de saúde:

- e) prevenção e controle sistemático da infecção hospitalar, inclusive como membro das respectivas comissões;
- f) participação na elaboração de medidas de prevenção e controle sistemático de danos que possam ser causados aos pacientes durante a assistência de enfermagem;

Art. 10 O Técnico de Enfermagem incumbe:

I assistir ao Enfermeiro:

- d) na prevenção e controle sistemático da infecção hospitalar;

Art. 11 O Auxiliar de Enfermagem incumbem:
IV prestar cuidados de higiene e conforto ao paciente e zelar por sua segurança, inclusive:
b) zelar pela limpeza e ordem do material, equipamento e de dependência de unidades de saúde (BRASIL, 1987).

O texto Portaria GM/MS nº. 2.616/1998 reforça o entendimento do enfermeiro como profissional central no controle de infecção, pois propõe o enfermeiro com profissional técnico de nível superior que deverá, preferencialmente, atuar como membro executor nas Comissões de Controle de Infecção de Hospitalar (CCIH) (BRASIL, 1998).

A segurança do paciente e com a prevenção das IRAS está inserido na práxis da enfermagem para além da legislação vigente. Esse raciocínio remonta às bases da enfermagem moderna, com destaque para o papel de Florence Nightingale, que teorizou que o ambiente no qual o paciente está inserido interfere diretamente em sua doença e na sua recuperação. A teórica propôs também que a morbidade pode ser evitada com a limpeza e que no ambiente limpo o número de casos de infecção diminui, sendo o cuidado com ambiente, atribuição da enfermeira (MEDEIROS; ENDERS; LIRA, 2015).

Atualmente, existe o entendimento de que os determinantes de saúde são multifatoriais e estão relacionadas com a saúde humana, saúde animal e com o meio ambiente recebe o nome de *One Health* (WHO, 2015), conceito que parece corroborar a teoria ambientalista, 161 anos depois de ser proposta por Nightingale, e que continua encontrando respaldo científico na medida em que a literatura reafirma que a disseminação de IRAS está associada com o ambiente e com os trabalhadores neste ambiente (BLANCO; O'HARA; HARRIS, 2019).

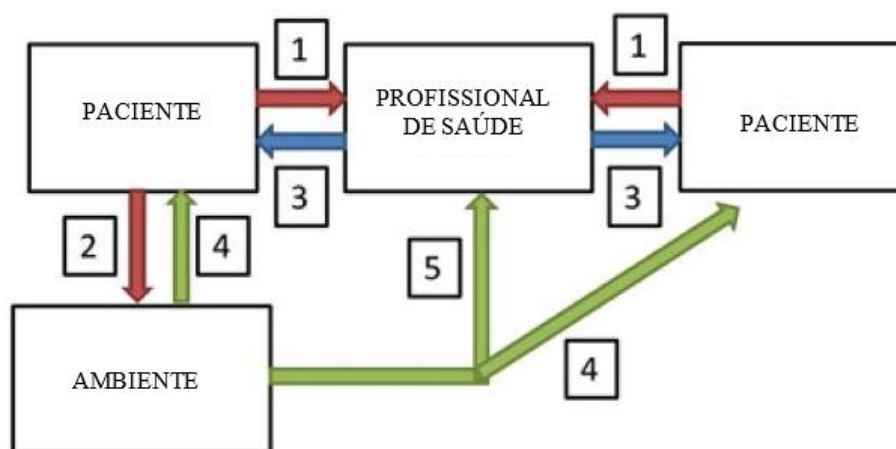


Figura 1 – Representação de 5 possíveis rotas de disseminação de RM entre: 1) Paciente e profissional de saúde; 2) Paciente e o ambiente; 3) Profissional de saúde o paciente; 4) Ambiente e o paciente; 5) Ambiente e o profissional de saúde

Fonte: Adaptado de Blanco, O'Hara e Harris (2019) (tradução nossa).

Blanco, O'Hara e Harris (2019) durante o desenvolvimento de uma *scoping review* descrevem que há evidência suficientemente forte da literatura para demonstrar que o paciente é capaz transmitir organismos resistentes a múltiplas drogas para ambiente ao seu redor e que o ambiente pode representar risco significativo ao paciente, observação que é corroborada por Yakupogullari *et al.* (2016) que demonstrou que clones de *A. baumannii* isoladas de pacientes previamente infectados foram responsáveis pela infecção de outros pacientes 3 meses após o primeiro isolamento.

As superfícies próximas aos pacientes como a cama, as grades de proteção da cama, mesas de alimentação, assim como superfícies altamente tocadas (SCAT) como as bombas de infusão e dispositivos médicos como bolsa válvula máscara (BVM) estão relacionados com a disseminação de organismos patogênicos, inclusive sendo causadores de surtos hospitalares (SANTOS-JUNIOR, 2018; MIRZA, *et al.*, 2011; BAANG *et al.*, 2012; BLANCO; O'HARA; HARRIS, 2019).

Medeiros, Enders e Lira (2015) referem que Florence Nightingale propõe que a limpeza dos ambientes é uma estratégia para diminuição dos riscos. Proposição essa que encontra reforço no primeiro desafio global de segurança do paciente, posto pela OMS e levado a efeito com o lema: “Assistência limpa é uma assistência mais segura” em que a sanitização do ambiente é entendido como estratégia para uma assistência segura (WHO, 2005).

À luz das orientação da OMS e na tentativa de quebrar a cadeia de transmissão de IRAS e da RM, a OMS (2015), o Brasil (2012) e o CDC (2008) reforçam que a higiene dos ambientes que entram em contato com os pacientes constituem estratégia fundamental para o controle de infecções, mas a despeito de todas essas afirmações, ainda é relatado a inadequação dos processos de limpeza e desinfecção tanto no ambiente hospitalar (SANTOS-JUNIOR, 2018) quanto em ambulâncias (NIGAM; CUTTER, 2003; VARONA-BARQUIN *et al.*, 2017).

Em ambulâncias o nível de contaminação ambiental é apontado por Vikke e Giebner (2018) como resultado da baixa adesão aos processos de limpeza e desinfecção por parte dos profissionais. A baixa adesão e as falhas nos processos pode estar relacionada a escassa literatura a respeito da limpeza e desinfecção em ambulâncias, contudo é visto no profissional de enfermagem o agente capaz e especializado para realizar a limpeza e desinfecção em ambulâncias (COFEN, 2019) e espera-se que desde a formação do profissional de enfermagem que atuará no ambiente pré-hospitalar o conhecimento de procedimento de limpeza e desinfecção, como previsto Política Nacional de Atenção às Urgências (BRASIL, 2003).

Sendo assim, cabe lembrar que planejar, executar, controlar e agir são conceitos aplicados à gestão, assim o gestor tem o papel de manter o funcionamento diário de programas e das organizações no contexto de estratégias políticas, processos e procedimentos (BRASIL, 2014), e nesse arcabouço é possível perceber claramente as ações de gestão convergem com as ações esperadas do enfermeiro.

O desenvolvimento de protocolos de limpeza e desinfecção e medidas de controle e prevenção de da disseminação de organismos multirresistentes, de práticas educativas e produção de indicadores como sugere Brasil (2016a) são ações que, novamente, refletem o papel do gestor, como proposto pelo Brasil (2014) e que refletem a atuação da enfermagem.

Junto a tudo isso, surge outro conceito, que é apontado como espaço para o enfermeiro, é a governança dos serviços de higiene e limpeza (CHAVES *et al.*, 2015) e se gestão está relacionado com o fazer, governança é alicerçado em avaliar, direcionar e monitorar, atitudes que estão em consonância com a vigilância e com prevenção das IRAS e da RM (BRASIL, 2016a).

Para monitorar IRIAS e RM e sua disseminação no ambiente e métodos como inspeção visual e métodos microbiológicos são os mais comumente utilizados e apontados como padrão ouro no monitoramento do efeito da limpeza e da desinfecção (RUTALA; WEBER, 2016).

Nesse contexto de governança e para a delimitação das ações de gestão do enfermeiro, vê-se que o monitoramento de culturas microbiológicas de vigilância pode ser ferramenta estratégica para diminuir a disseminação de microrganismos no ambiente hospitalar (COFEN, 2013; BRASIL, 2016b).

Finalmente, tamanho é o escopo da atuação do enfermeiro no contexto das IRAS, da RM e do controle de infecção, que se observa nesse profissional um agente capaz de responder com relevância aos cinco objetivos da OMS, com destaque na capacidade para efetivamente atuar nos três primeiros, a saber:

- 1) Melhorar a consciência e compreensão da resistência antimicrobiana por meio de comunicação, educação e treinamento;
- 2) Fortalecer o conhecimento e a base de evidências por meio de vigilância e pesquisa e;
- 3) Reduzir a incidência de infecção por meio de saneamento, higiene e medidas de prevenção de infecção (WHO, 2015, p. 5, tradução nossa).

4 MÉTODO

4.1 Delineamento do estudo

Estudo correlacional descritivo (SOUSA; DRIESSNACK; MENDES, 2007), observacional com abordagem quantitativa.

Os estudos quantitativos são sequenciais e comprobatórios, compostos por etapas, que não podem ser transgredidas ou evitadas. Estudos dessa natureza partem de uma ideia que é construída a partir de um arcabouço teórico, fundamentado no que já foi publicado na literatura e recuperado a partir de uma revisão (SAMPIERI; COLLADO; LUCIO, 2013).

Os estudos quantitativos, sob a ótica correlacional, buscam encontrar, como o nome sugere, correlações entre fenômenos e variáveis, a fim de explicar o problema de pesquisa sobre o qual o pesquisador está debruçado. Sendo assim, busca-se conhecer a relação ou o grau de associação entre dois ou mais conceitos, categorias ou variáveis em uma situação específica (SAMPIERI; COLLADO; LUCIO, 2013).

A pesquisa descritiva, o pesquisador observa, descreve e documenta o objeto de estudo, descreve variáveis e as relações que ocorrem naturalmente entre elas. A manipulação de variáveis ou a procura pela causa e efeito não ocorre. Esse tipo de estudo fornece a base do conhecimento para hipóteses sobre o tema estudado e direciona o delineamento de pesquisas subsequentes (SOUSA; DRIESSNACK; MENDES, 2007; SAMPIERI; COLLADO; LUCIO, 2013).

4.2 Local do estudo e período do estudo

No Brasil, o atendimento pré-hospitalar móvel presta atendimento à situação de urgência em agravos clínicos, traumáticos, cirúrgicos e psiquiátricos (BRASIL, 2002).

É composto por ambulâncias, que são classificadas como veículos terrestres (ambulâncias), aéreos ou aquaviários destinados ao transporte exclusivo de enfermos. Esses veículos podem ser categorizados em: 1) ambulância de transporte: destinado ao transporte de enfermos sem risco de vida; 2) ambulância de suporte básico: destinado a atender pacientes com risco de vida, mas que não apresentem potencial para necessitar de atendimento médico; 3) ambulância de resgate: veículos de suporte à vítimas ou acidentes em locais de difícil acesso, dotadas de equipamentos de salvamento; 4) ambulância de suporte avançado: veículo atribuído

para o transporte de pacientes que necessitam suporte médico intensivo. Os veículos aéreos e aquaviários podem ter diferentes configurações, que devem ser adequadas ao atendimento que prestarão (BRASIL, 2002).

Este estudo foi desenvolvido em dois serviços, sendo um público e um privado, no Distrito Federal. Os dois serviços funcionam de forma ininterrupta, 24 horas por dia e 7 dias por semana, atendendo a situações de urgência e emergência de diversos graus de complexidade, bem como realizando o serviço de transporte eletivo de pacientes que necessitam de atenção especializada durante sua locomoção entre diferentes serviços de saúde. Ambos atendem a demandas de serviços de saúde públicos e privados, conduzindo pacientes a essas unidades, em todas as Regiões Administrativas (RA) do DF.

O serviço público é dotado de 30 (trinta) ambulâncias de suporte básico e oito de suporte avançado, destas uma é exclusiva de neonatologia e outra para emergência psiquiátrica, e atende ao todo DF, dando suporte ao Sistema Único de Saúde, qual seja público ou da rede suplementar. No ano de 2019, o serviço público foi responsável por realizar 77.964 atendimentos que necessitaram do envio de ambulâncias, desses atendimentos 11.621 foram atendimentos de suporte avançado (DISTRITO FEDERAL, 2020; DISTRITO FEDERAL, 2019).

O serviço privado desenvolve atividades no contexto do SUS tanto aos hospitais públicos quanto aos entes da rede suplementar. O serviço dispõe de 20 (vinte) ambulâncias de transporte e 6 (seis) de suporte avançado. Diferencia-se do serviço público, pois realiza atendimento ao entorno do DF (região composta por municípios do Goiás e Minas Gerais, mas que pela proximidade com o DF compõe sua região metropolitana), além de realizar transporte interestaduais (BRASIL, 1998).

A coleta foi realizada por três dias consecutivos, no mês de dezembro do ano de 2019.

4.3 População

A população desse estudo foi constituída por 14 (catorze) ambulâncias de suporte avançado, sendo oito no serviço público e seis no serviço.

4.4 Amostra

A amostra de conveniência foi constituída pelas 12 (doze) macas das 14 (catorze) ambulâncias de suporte avançado, respeitando-se os critérios de elegibilidade, que foram avaliadas em quatro pontos diferentes, a saber (Figura 2): grades de proteção; colchão no ponto em que fica em contato com a região sacral dos pacientes; alças de condução da maca; e, nas unidades que possuíam, o traçado (Figura 3) no ponto em que fica em contato com a região sacral dos pacientes.



Figura 2 – Ilustração de maca ambulâncias, com destaque dos locais de coleta

Fonte: Adaptado de <https://www.medaxo.com.br/maca-de-resgate-retratil-em-aluminio-para-ambulancia>.



Figura 3 – Ilustração do traçado que recobre o colchão da maca da ambulância

Fonte: Adaptado de <https://www.medicalexpo.com/pt/prod/dhs-emergency/product-99946-646384.html>.

As macas foram encontradas nas ambulâncias dos serviços investigados, da seguinte forma:

- Serviço público: seis ambulâncias, estabelecidas em seis diferentes regiões do DF, cada região com uma ambulância cada, sendo essas regiões: Ceilândia, Setor de Indústria e Abastecimento (SIA), Samambaia, Sobradinho, Gama e Taguatinga;
- Serviço privado: todas as ambulâncias ficam localizadas em um único local, a saber: Setor de Armazenamento e Abastecimento Norte (SAAN).

A maca foi definida como local de coleta microbiológica e avaliação visual quanto a limpeza, tendo em vista que é nela que o paciente fica todo o tempo no qual está sendo transportado, portanto, representando a região com maior intensidade de toque e exposição em relação paciente, sugerindo que essa área pudesse ser a mais representativa quanto ao potencial de dispersão de contaminação para o ambiente e, em especial, para o paciente.

Hipótese que corroborada nos estudos de Eibicht e Vogel (2011), Brown, Minnon, Schneider e Vaughn (2010), Alrazeeni e Al Suf (2014) e Luksamijarulkul e Pipitsangjan (2015).

Os locais coletados das macas foram definidos com base na frequência de contato com o paciente e na frequência de toque por profissionais de saúde, pois superfícies altamente tocadas representam rico maior de contaminação e disseminação da contaminação (SANTOS-JUNIOR, 2018).

4.5 Critérios de elegibilidade

Critério de Inclusão: ambulâncias que estavam configuradas para o serviço de atendimento ou remoção como ambulância avançada no período imediatamente anterior ao da coleta, que estavam com a maca da própria da unidade e presentes na base no momento da coleta.

Critérios de exclusão: ambulâncias de suporte avançado pediátrico/neonatal, de atendimento à saúde mental, que em pelo menos um momento de coleta não era ambulância avançada, que estavam com a maca retida em algum serviço de saúde, que tiveram a maca trocada, que mudaram de veículo entre os dias de coleta, que não foram encontradas na base e que o enfermeiro responsável pela unidade se recusou a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Como a coleta aconteceu em diferentes dias, os critérios de exclusão foram aplicados para cada dia de coleta, isto é, a exclusão de uma maca da amostra

em um dia não impediu que essa mesma maca fosse incluída nos outros dias de coleta, caso atendesse a todos os critérios de elegibilidade.

Quanto a análise microbiológica, foram incluídos os isolados bacterianos classificados como gram-negativas, que resistiram a pressão de seleção com meropenem, sendo excluídas as bactérias gram-positivas e outros organismos, como: fungos, vírus e protozoários.

Os carros administrativos foram incluídos sempre que estavam presentes e acessíveis em pelo menos um dos momentos em que ocorreu a coleta das mascas das ambulâncias. Foram excluídos os carros administrativos que não foram encontrados em nenhum dos dias de coleta, ou que o acesso ao veículo não foi autorizado. Na análise microbiológica, foram excluídos os microrganismos que não eram gram-negativos, como bactérias gram-positivas e outros organismos como os fungos, vírus e protozoários.

Definições de termos:

- **Unidade de Suporte Avançado de Vida (USA):** veículo destinado ao atendimento e transporte de pacientes de alto risco em emergências pré-hospitalares e/ou de transporte inter-hospitalar que necessitam de cuidados médicos intensivos (BRASIL, 2002);
- **Atendimento:** Situação em que a ambulância é acionada para atender uma situação de urgência ou emergência (BRASIL, 2002);
- **Remoção:** Situação em que a ambulância é acionada para o transporte de pacientes entre unidades de saúde (BRASIL, 2002);
- **Limpeza:** consiste na remoção por meio de fricção, agentes químicos ou físicos, por um determinado período. Importando a remoção da sujeira e não apenas a passagem de um pano úmido e espalhamento da sujeira (BRASIL, 2012).
- **Desinfecção:** trata-se de processo físico ou químico capaz de destruir todos os microrganismos patogênicos de superfícies inanimadas, exceto esporos bacterianos (BRASIL, 2012).
- **Sujidade:** presença, a observação direta, de poeira, matéria orgânica (sangue, exsudados de feridas, líquidos orgânicos, cristais de soro fisiológico, pomadas ou cremes, óleos, solutos etc.), resíduos de adesivos, umidade e manchas, conforme proposto por Santos-Junior (2018).
- **Resistência a múltiplas drogas:** bactérias resistentes a pelo menos um agente em três ou mais categorias antimicrobianas (MAGIORAKOS *et al.*, 2012).

4.6 Protocolo de coleta de dados

O estudo foi desenvolvido em 6 etapas



Figura 4 – Etapas da coleta de dados. *Etapas 4 e 5 ocorreram de forma simultânea

Fonte: Acervo pessoal.

1ª Etapa: Contato com os gestores responsáveis pelas ambulâncias

Feito contato com os gestores dos dois serviços e acordado o período de coleta de dados, porém não foi comunicado a data e o horário para cada unidade. Além disso foi informado a cada serviço quem iria fazer a coleta de dados em cada base.

2ª Etapa: Estudo Piloto

Devido à variedade de métodos utilizados em estudos sobre a contaminação microbiana em ambulância, e uma maior frequência de estudos com bactérias gram-positivas optou-se por realizar estudo piloto para que houvesse a validação do método escolhido quanto a sua efetividade em encontrar bactérias gram-negativas em macas de ambulâncias, bem como treinar o pesquisador principal no método de pesquisa. Ainda, fez-se o piloto do instrumento de coleta de dados (Apêndice A), na inspeção visual e inspeção visual.

Dessa forma, após a aprovação no comitê de ética, foi firmado uma parceria entre o pesquisador, a orientadora desse estudo e o professor Dr. Alex Leite Pereira, que é doutor microbiologia molecular, docente da Universidade de Brasília (UnB), na Faculdade de Ceilândia (FCE) e responsável pelo laboratório multidisciplinar 2A, onde desenvolve pesquisa com bactérias gram-negativas e carbapenemases.

O estudo piloto ocorreu com coletas de dados, em três semanas diferentes e apenas no serviço privado, devido ao maior número de ambulâncias em um único local. Após cada coleta, houve o ajuste e definição dos meios de cultura, forma de coleta, forma de transporte, meio utilizado para a coleta, horário de coleta, tempo de incubação, método para extração e

amplificação do ácido desoxirribonucleico (DNA), identificação e armazenamento dos isolados, até que ficou estabelecido o protocolo apresentado nas sessões a seguir.

Cabe informar que houve troca da frota de ambulâncias no serviço, participante do estudo piloto, portanto, são veículos diferentes do estudo piloto.

3ª Etapa: Treinamento da equipe de coleta de dados

A equipe de coleta de dados, formada por discentes de Graduação em Enfermagem – FCE e do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem (PPGEnf), ambos da UnB, membros do Grupo de Pesquisa em Tecnologia do Cuidar (GPTEC), que foram convidados para participar do estudo, sem que houvesse obrigação de aceite do convite, mas com proposta de declaração de participação como membro de pesquisa aos que aceitassem participar do estudo. Para os alunos de graduação foi requisitado que já tivessem participado como pesquisador em algum projeto de pesquisa.

O treinamento da equipe, com duração de quatro horas, foi realizado no Laboratório de Habilidades e Simulação do Cuidado, da FCE, três dias antes do primeiro dia de coleta, momento em que foi realizada uma apresentação detalhada do projeto de pesquisa, além de expor o que a literatura discutia sobre o problema de pesquisa e do método escolhido, a fim de fornecer fundamento teórico para que todos pudessem desempenhar da melhor forma possível o treinamento e a coleta de dados.

Em seguida, procedeu-se a explicação detalhada do protocolo de coleta de dados, incluindo do Instrumento de Coleta de Dados (APÊNDICE A). Para garantir a padronização da coleta dos dados foi fornecido um gabarito com as respostas esperadas para cada item do instrumento (APÊNDICE B), um checklist com todas as informações as quais deveriam ter atenção na preparação e na coleta de dados (APÊNDICE C), além de ser entregue *swabs* como meio de transporte Stuart (COPAN® – Itália) e uma caixa de isopor para acondicionamento e transporte dos *swabs*, em quantidades suficientes para todos os dias de coleta.

Neste momento, também foi realizado um treinamento prático, no qual todos os membros da equipe de coleta tiveram contato com os *swabs* e aprenderam a manipulá-los de forma a manter a esterilidade do material e garantir a qualidade da coleta. Por fim, todos simularam uma coleta em uma maca de ambulância, semelhante àquela que posteriormente encontraram no local do estudo.

Os membros da equipe de pesquisa foram treinados em duplas, pois as coletas deveriam ser realizadas em pares, preferencialmente. As duplas foram instruídas a realizarem dupla

checagem entre si, antes da realização de qualquer procedimento. Além disso, um grupo no aplicativo *WhatsApp* foi criado, para que fosse facilitada a comunicação da equipe com o pesquisador responsável e a solução de qualquer problema ou dúvida. No grupo, também foi disponibilizado cópias digitais de todos os Apêndices, para que seus membros pudessem ter acesso e *backup* dos arquivos, caso necessário. As duplas foram instruídas de que o telefone do pesquisador responsável estaria ligado e disponível para ligações, inclusive a cobrar, durante todo o período de coleta para que qualquer dúvida pudesse ser sanada.

4ª Etapa: Coleta de dados

Os responsáveis pela coleta de dados, sempre em dupla, a partir de visitas não anunciadas, realizaram duas coletas, sendo a primeira às 7:00 horas e a segunda no final dos plantões diurnos, às 18:00 horas, por 3 (três) dias consecutivos, em dezembro de 2019.

Os dados foram coletados por meio de um instrumento de coleta de dados (APÊNDICE A), o qual possuía itens que dependiam das respostas dos enfermeiros das ambulâncias para que fossem preenchidas (p. ex. tipo de atendimento, realização da L&D, produto utilizado) e possuía itens que eram preenchidos pelos próprios membros da equipe de pesquisa (p. ex. inspeção visual e identificação do local de coleta). Conjuntamente a coleta dos dados em instrumento, foi realizada a coleta da amostra microbiológica com o *swab*. Conforme detalhado a seguir:

Aplicação do instrumento de coleta de dados:

- Os enfermeiros foram levados a um lugar reservados, podendo ter sido a própria ambulância, caso ela estivesse vazia e os enfermeiros concordassem em responder as perguntas dentro das ambulâncias, para que assim fosse possível colher os dados do instrumento que dependiam do auxílio do enfermeiro;
- Considerando que objeto de estudo eram as macas da ambulâncias e a análise microbiológica de sua superfície, mas que desenvolvimento do estudo foi importante a contribuição do enfermeiro em responder algumas questões do instrumento de coletas de dados, o que poderia ter causado algum risco de constrangimento a este profissional, foi solicitado assinatura no TCLE aos enfermeiros que concordaram em responder as questões do estudo relacionadas a maca da ambulância, para que lhe fosse garantido segurança na participação nesse estudo;
- O instrumento de coleta de dados foi preenchido por um dos membros das duplas enquanto o outro procedia com a coleta das amostras microbiológicas.

Realização da inspeção visual:

- A inspeção visual foi realizada pelo mesmo membro da dupla que estava realizando a coleta microbiológica;
- A inspeção foi realizada durante a coleta do *swab*;

A avaliação da limpeza foi realizada pela inspeção visual e foram consideradas sujas as superfícies que apresentaram qualquer tipo de sujidade visível.

A coleta das amostras microbiológicas seguiu os seguintes passos:

- Abertura do invólucro dos *swabs*, na marcação indicada pelo fabricante, preservando-se a esterilidade (Figura 5a);
- Umedecimento da ponta do *swab* no próprio meio de transporte, preservando-se a esterilidade;
- Fricção da ponta do *swabs* sobre as grades, alças, colchão e, quando presente, sobre o traçado, em sentido multidirecional, realizando a rotação da ponta da haste envolta em algodão (Figura 5b);
- Identificação do *swab* com a data, horário, local da coleta (serviço privado ou público), região coletada (alça, grade, colchão, traçado) e número placa da ambulância.
- Acondicionamento dos *swabs* em temperatura ambiente em caixa de isopor e transporte imediato ao laboratório de microbiologia, em intervalo máximo de 2 horas após a coleta.



Figura 5 – a) Instrução do fabricante sobre local de abertura indicado pela seta e pela inscrição “*peel here*” na porção superior do *swab*; b) Fricção da ponta do *swab* umedecida sobre a área de coleta

Fonte: (a) Acervo pessoal; (b) <https://www.pharmamicroresources.com/2017/04/microbial-swab-recovery.html>.

Os *swabs* foram umedecidos observando-se os resultados do estudo Lemmen, Häfner, Lütticken (2001) que demonstrou que para detecção de cepas gram-negativas o *swab* umedecido tem uma maior sensibilidade. Além disso, outros estudos em ambulâncias adotaram

o *swab* umedecido como método para a coleta microbiológica (ALVES; BISSEL, 2008; ELMOKHTAR; HETTA, 2018).

5ª etapa: Análise microbiológica

Esta etapa do estudo foi realizada nos laboratórios multidisciplinar 1A e 2A da FCE, e foi constituída pelas 6 fases (Figura 6), desempenhadas pelo pesquisador responsável por este estudo, sob a instrução do coordenador laboratório 2A, professor Dr. Alex Leite Pereira, doutor em biologia molecular e professor da disciplina de microbiologia na FCE/UnB e do biomédico Hélio de Souza Júnior, Professor do curso de Análises Clínicas do Instituto Federal de Goiás, *Campus Águas Lindas*:

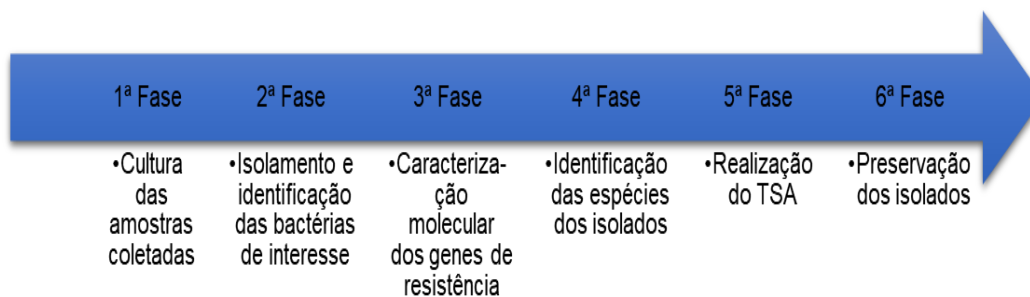


Figura 6 – Fases da avaliação microbiológica

Fonte: Acervo pessoal.

1ª Fase – cultura das amostras coletadas

As pontas dos *swabs* forma cortadas, com auxílio de uma tesoura com ponta incandescente e colocados em tubos do tipo Falcon (Cral Plast® – Brasil) de 15 mL, contendo 4 mL de meio Luria Bertani (LB) sem pressão de seleção com antimicrobiano. Os tubos foram identificados transcrevendo-se os dados de identificação dos *swabs* e incubados por 24 horas a 48 horas em estufa (Elerohospitalar® - Brasil, modelo EL0370) à 36 ± 1 °C.

Após o período de crescimento, as culturas positivas (avaliado pelo turvamento do caldo) foi transferido 500 µL do caldo em técnica asséptica, para um novo tubo do tipo Falcon de 15mL, com 4mL de meio LB e pressão de seleção afim de se eliminar organismos gram-positivos, com uso Vancomicina sob a concentração inibitória mínima de 7,5 mg/L (EUCAST/BRCAS, 2017).

Após o período de 24 horas a 48 horas em estufa à 36 ± 1 °C, foram transferidos 500 µL de meio LB com crescimento positivo em vancomicina, para um novo tubo do tipo Falcon de 15 mL com 4 mL de meio LB com pressão de seleção para bactérias gram-negativas resistentes a carbapenêmicos com o uso de meropenem sob a concentração inibitória mínima de 2 mg/L

(EUCAST/BRCAST, 2017). Os tubos foram identificados e incubados por 24 horas a 48 horas em estufa à 36 ± 1 °C.

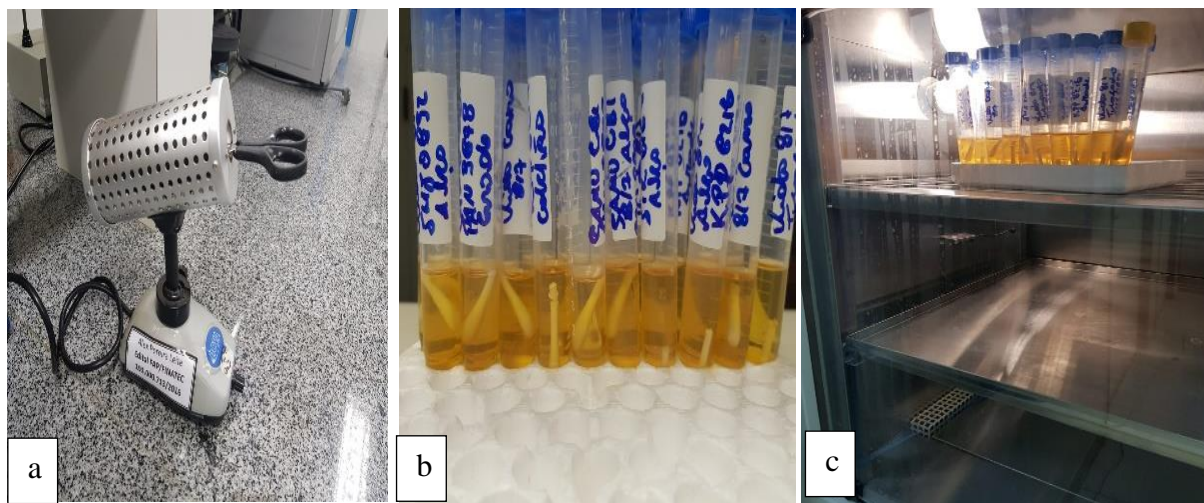


Figura 7 – a) aquecimento da tesoura até o ponto de incandescência; b) pontas dos *swabs* incubadas em meio LB; c) meio de cultura incubado em estufa 36 ± 1 °C

Fonte: Acervo pessoal.

2ª Fase – Isolamentos e identificação presuntiva das bactérias Gram-negativo

As amostras com crescimento em meio LB com meropenem foram semeadas em meio Ágar Cromogênico ESBL (*Extended-spectrum beta-lactamase*) (LABORCLIN – Brasil).

O meio Ágar Cromogênico ESBL é um meio seletivo para bactérias gram-negativas resistentes a cefalosporinas de 3ª geração, suplementado com substrato que confere cor as bactérias que nele crescem (LABORCLIN PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS, 2019).

A semeadura foi realizada pela técnica de esgotamento, a fim de que após o crescimento fosse possível a coleta de colônias isoladas (PROCOP, 2018). O semeio foi realizado utilizando-se alça bacteriológica estéril, calibrada em 1 μ L ou 10 μ L, a depender do grau de turbidez observado no caldo LB, ou seja, quando a turbidez era maior optou-se pela calibração em 1 μ L e quando a turbidez era menor optou-se pela calibração em 10 μ L, incubados por 24 horas a 48 horas em estufa à 36 ± 1 °C.

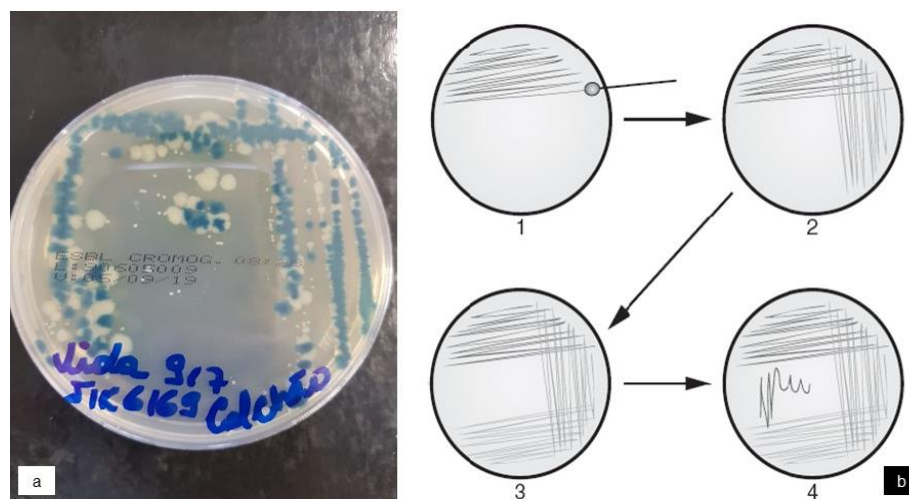


Figura 8 – a) Resultado o semeio em ágar cromogênico ESBL (LABORCLIN – Brasil), como crescimento de dois grupos presuntivos distintos; b) técnica de semeio para obtenção de colônias isoladas

Fonte: (a) Acervo pessoal; (b) PROCOP *et al.* (2018).

Após 24 horas as culturas com colônias de gram-negativos, com expressão da coloração do meio foram avaliadas e interpretadas conforme a recomendação do fabricante, caso esses critérios não fossem alcançados, as culturas eram incubadas por mais 24 horas a 48 horas em estufa, e caso apresentassem crescimento dentro do esperado, as culturas eram reavaliadas e interpretadas conforme a recomendação do fabricante.

Foram isoladas 2 colônias, de cada grupo presuntivo identificado na placa Ágar Cromogênico ESBL (LABORCLIN – Brasil), isto é, do grupo dos não fermentadores, apresentou coloração creme ou acinzentada. Do grupo KESC (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. ou *Citrobacter* spp.) quando a coloração da colônia era verde escura ou azul metálico, conforme as instruções do fabricante

Em seguida, com auxílio da alça microbiológica estéril, as colônias foram isoladas e transferidas para tubo tipo Falcon com 4 mL de meio LB, sem pressão de seleção e incubadas por 24 horas em estufa à 36 ± 1 °C que, após o crescimento, foi utilizado para extração do DNA e para preservação das amostras, em meio ágar nutritivo, conforme protocolo do laboratório multidisciplinar 2A.

3ª Fase – Caracterização Molecular dos Genes de Resistência

Para extração do DNA, 1 mL de cultura bacteriana (amostra cultivada em meio LB, por 24 horas a 36 ± 1 °C) foi centrifugado a 3.000 G por 3 minutos, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspense em 1 mL de água ultrapura e, em seguida, foi novamente centrifugada a 3.000 G por 3 minutos e o sobrenadante descartado. O precipitado foi ressuspense em 1 mL

de água ultrapura e essa suspensão colocada em placa aquecida a 100 °C por 15 minutos e, em seguida, centrifugado a 11.000 rpm por 1 minuto. Retirado 600 µL do sobrenadante para as reações de amplificação de DNA (FARIA JÚNIOR, 2014).

Para o procedimento de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), para a detecção dos genes listados na tabela 2, foi utilizado o seguinte protocolo:

Tabela 2 – Insumos para o ensaio de PCR.

Reagente	Volume (µL)
Água Ultrapura	11,66
Tampão de reação 10X	3,0
Primer F	3,3
Primer R	3,3
Cloreto de Magnésio*	1,2
Desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTP)	0,24
Taq DNA polimerase**	0,3
Amostra com DNA total	7,0
Volume final	30

*Caso o tampão de reação fosse enriquecido com cloreto de magnésio, não era necessário a adição de magnésio e a diferença era adicionada no volume total de água ultrapura. **Obtida de *Thermus aquaticus*. Todos os insumos foram da marca Sigma-Aldrich.

Tabela 3 – Lista dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados e condições de PCR

Gene	Alelos detectáveis	Sequência 5' – 3'	Tamanho do fragmento (pb)	Temp. de Anelamento (°C)	Referência
Carbapenemases					
<i>bla_{KPC}</i>	<i>bla_{KPC}</i> -1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,12, 13	F - TGTCACTGTATCGCCGTC	1011	58	YIGIT <i>et al.</i> , 2001
		R - TCAGTGCTCTACAGAAAACC			
<i>bla_{NDM}</i>	<i>bla_{NDM}</i> -1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	F - GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	512	57	FARIA JUNIOR, 2014
		R - GGCCTTGCTGTCCTTGATC			
<i>bla_{VIM}</i>	<i>bla_{VIM}</i> -1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12,13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 27, 28, 31, 33, 34.	F - ATGGTGTTTGGTTCGCATATC	332	56	FARIA JUNIOR, 2014
		R -CTCGATGAGAGTCCTTCTAGAG			
<i>bla_{IMP}</i>	<i>bla_{IMP}</i> -2, 5, 8, 13,19, 20, 24, 33, 37 <i>bla_{IMP}</i> -1, 2, 8, 14,14 ^a ,19,20,24	F1 - CATTTCATAGCGACAGCAC	309 440	55	FARIA JUNIOR, 2014
		F2 - AACACGGTTTGGTGGTTCTT			
		R - GGACTTTGGCCAAGCTTCTA			
<i>bla_{OXA-48}</i>	<i>bla_{OXA-48}</i> , 54, 181, 162, 163, 199	F - GCGTGGTTAAGGATGAACAC	440	56	FARIA JUNIOR, 2014
		R -ATCATCAAGTTCAACCCAACC			

Nota: Os *primers* foram desenhados conforme descrito pelos autores citados. As temperaturas de anelamento foram ajustas para este trabalho, após a realização de estudo piloto.

Tabela 3 – Lista dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados e condições de PCR – continuação.

Gene	Alelos detectáveis	Sequência 5' – 3'	Tamanho do fragmento (pb)	Temp. de Anelamento (°C)	Referência
ESBL do grupo CTX-M					
<i>bla_{CTX-M}</i> grupo 1	1, 3, 10, 15, 22, 28, 29, 32, 34, 36, 37, 38, 42, 52, 54, 55, 57, 58, 61, 62, 66, 68, 69, 71, 79, 82, 89, 101, 103, 107, 108, 109, 114, 116, 117, 123, 136, 138, 142, 144, 158	F3 - GACGATGTCACTGGCTGAGC	499	61	PITOUT, 2004
		R2 - AGCCFCCFACFCTAATACA			
<i>bla_{TOHO1}</i> (CTX-M grupo 2)	2, 4, 5, 20, 31, 35, 43, 44, 56, 59, 92, 97, 115, 131, 141	F – GCGACCTGGTAACTACAATCC	351	51	
		R - CGGTAGTATTGCCCTTAAGCC			
<i>bla_{CTX-M}</i> grupo 8	8, 40, 63	F – GCTCAGTACGATCGAGCC	307	61	
		R – GTAAGCTGACGCAACGTCTG			
Transposon					
<i>Tn4401</i>	-	F - GAAGATGCCAAGGTCAATGC	651	57	OLIVEIRA, 2020
		R - GGCACGGCAAATGACTA			

Nota: Os *primers* foram desenhados conforme descrito pelos autores citados. As temperaturas de anelamento foram ajustas para este trabalho, após a realização de estudo piloto.

As PCR foram submetidas a seguinte programação de ciclos de temperatura: 30 segundos a 90 °C, seguido por 30 (trinta) ciclos compostos pelos passos de desnaturação a 94 °C por 1 (um) minuto, de anelamento por 1 (um) minuto com temperatura específica de cada iniciador (conforme citado na tabela 3) e de extensão a 72 °C por 1 (um) minuto. A reação de PCR foi encerrada por um ciclo de extensão final a 72 °C por 2 (dois) minutos no termociclador (Infingen, Avans Biotechnology) (FARIA JÚNIOR, 2014).

Os fragmentos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1%, preparado em tampão TAE (Tris-acetato-EDTA) 1X, seguido da coloração do gel em solução de brometo de etídio (1µg/mL) por 15 (quinze) minutos e os fragmentos amplificados (*amplicons*) foram observados pela transiluminação de luz ultravioleta (UV). Em reações sem qualquer amplificação inespecífica, a visualização de um *amplicon* de tamanho esperado, conforme descrito na tabela, foi determinado como resultado positivo para a presença do gene pesquisado (FARIA JÚNIOR, 2014).

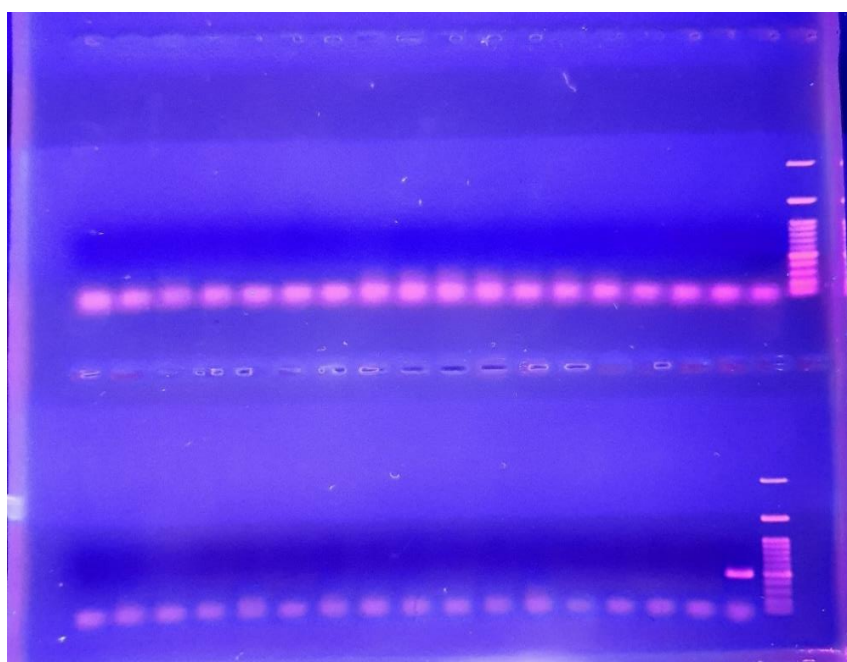


Figura 9 – Gel de agarose 1%, corado e sob visualização no transiluminador UV. Apenas o controle positivo foi amplificado (*aplicon* ao lado do marcador de peso molecular na fileira de baixo)

Fonte: Acervo pessoal.

4ª Fase – Identificação das Espécies Bacterianas

A identificação da espécie bacteriana foi realizada no Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal (LACEN-DF), por meio de *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) pela espectrometria de massa (VITEK® MS –

bioMeri ux), os espectros gerados foram comparados com o banco de dados SARAMIS (Shimadzu Corporation) e MYLA® (bioMeri ux).

Os isolados bacterianos analisados foram cultivados em  gar *Mueller Hinton*, meio não seletivo/diferencial e incubadas por 18 a 24 horas em estufa a 36 ± 1  C. Os procedimentos de identifica o foram realizados conforme as instru es do fabricante. Foi admitido como identifica o correta aqueles resultados que apresentaram nível de confiança $\geq 90\%$, conforme o protocolo do LACEN-DF.

Para o controle de qualidade dos painéis de identifica o bacteriana, foi utilizada a cepa *E. coli* 8739 ATCC™ (do inglês, *American Type Culture Collection*).

Devido a similares fenotípicas e genotípicas, que impedem a diferencia o entre algumas espécies de *Acinetobacter*, na ocorrência de impossibilidade de diferencia o por meio do MALDI-TOF, os isolados foram categorizados como pertencentes ao Complexo *Acinetobacter calcoaceticus–acinetobacter baumannii* (PROCOP *et al.*, 2018).

5ª Fase – Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA) por meio de disco-difusão

O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foi realizado pelo método de disco-difusão descrito por Kirby e Bauer (BAUER, 1966). Os isolados foram cultivados em  gar *Mueller Hinton* (MH), por meio de semeio por esgotamento para obten o de colônias isoladas e confec o de inóculo puro, por 18 horas em estufa a 36 ± 1  C. Após o crescimento foi preparada uma suspen o bacteriana em soluço salina com a densidade equivalente ao padrão de turbidez 0,5 da escala de McFarland ($\approx 1-2 \times 10^8$ CFU/mL).

Utilizando um *swab* de algodão estéril inoculou-se a superfície do  gar MH c tio-ajustado (150x20mm) com a suspen o bacteriana, respeitando-se a regra dos 15-15-15 minutos (EUCAST/BrCAST, 2017b).

Para testagem dos isolados, um suporte contendo 15 discos de antibióticos com concentra es definidas (Polisensidisc 15 Gram Negativo - DME®) foi posicionado no centro da placa.

Tabela 4 – Lista de antibióticos utilizado no TSA.

Antimicrobiano	Código/Potência
Amicacina	AMI 30
Amoxicilina/Ácido Clavulânico	AMC 30 _(20/10)
Ampicilina	AMP 10
Aztreonam	ATM 30
Cefazolina	CFZ 30
Cefepime	CPM 30
Cefoxitina	CFO 30
Ceftazidima	CAZ 30
Ceftriaxona	CRO 30
Ciprofloxacina	CIP 05
Cloranfenicol	CLO 30
Gentamicina	GEN 10
Meropenem	MPM 10
Sulfazotrim (sulfametoxazol/ trimetoprima)	SUT 25
Tetraciclina	TET 30

Fonte: Bula Polisensidisc 15 Gram Negativo - DME®.

Como o Polisensidisc 15 Gram Negativo apresenta alguns discos com dose diferente da padronizado pelo EUCAST/BRCAS (2020), esses antibióticos não foram avaliados quanto a sua ação inibitória frente ao isolado testado.

Após o período de incubação, as placas foram examinadas quanto ao crescimento bacteriano uniforme, inexistência de contaminantes e definição do halo de inibição. Decorrida essa inspeção visual, a leitura foi realizada no fundo da placa com o auxílio de uma régua sob luz refletida em um fundo preto e opaco, conforme recomendação do EUCAST/BRCAS.

A interpretação clínica dos resultados de susceptibilidade (sensível [S], sensível aumentando a exposição [I] ou resistente[R]) foi baseada nos pontos de corte do EUCAS/BrCAST (2020). Não foi realizado agrupamento dos resultados, sendo atribuída a categoria S, I ou R para cada antibiótico testado, conforme orientação do EUCAST/BRCAS (2020).

6ª Fase – Preservação dos Isolados Bacterianos e Preservação das Amostras de DNA

Findadas as análises, os isolados bacterianos foram preservadas de duas formas, a saber:

1. Transferido 10µL de caldo de culturas em meio LB para tubo com meio ágar nutritivo, incubado em estufa a 36°C ± 1°C por 24h e estocadas em temperatura ambiente por tempo indeterminado;

As cepas foram estocadas a -80°C, em tubo criogênico de 2 mL contendo 1430 µL da suspensão bacteriana em LB e 570 µL de glicerol 70% (SOUZA, 2009).

As amostras de DNA foram conservadas em microtubos tipo eppendorf de 2 mL (Axygen® - USA), em geladeira com temperatura entre 2 °C a 8°C, protegidos da luz, suspenso em água ultrapura.

Tabela 5 – Meios de Cultura Utilizados.

Meio Ágar Cromogênico ESBL	
Cromopeptona	16,1 g
Peptona do coração (bovina ou suína)	5,0 g
Inibidores	1,5 g
Cefotaxima	2,0 g
Mistura de substratos cromogênicos	1,3 g
Ágar base	15,0 g
H ₂ O ultra purificada	1000 mL
pH	7,0 ± 0.2 a 25°C
Interpretação Meio Ágar Cromogênico ESBL	
Cores das Colônias	Microrganismo
Rósea, magenta, avermelhado	<i>Escherichia coli</i>
Verde escura a azul metálico	Presume-se grupo KESC (<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp. ou <i>Citrobacter</i> spp.).
Cinza a creme	<i>Pseudomonas</i> spp.
Amarelo a marrom ou verde com halo marrom	<i>Proteus</i> spp., <i>Morganella</i> spp., <i>Providencia</i> spp
Frequentemente inibido	Fungos e leveduras
Inibição	Cocos Gram-positivos
Inibição	Cepas sensíveis aos β-lactâmicos
Caldo Luria Bertani – LB	
Formulação	Concentração/L
Peptona A	10g
Cloreto de Sódio – NaCl	10g
Extrato de Levedura	5g
Água Destilada	1000mL
pH	7,2 a 7,4
Meio Ágar Nutritivo	
Formulação	Concentração/L
Agar	8g
Peptona A	10g
Cloreto de Sódio – NaCl	10g
Extrato de Levedura	5g
Água Destilada	1000mL
pH	7,2 a 7,4

Fonte: Bula Ágar ESBL Cromogênico – LABORCLIN; Protocolo estabelecido pelo laboratório multidisciplinar 2A da FCE.

Etapa 6. Análise dos dados

Os dados coletados foram submetidos à codificação apropriada e digitados em banco de dados, mediante a elaboração de um dicionário (*code book*) na planilha do EXCEL. O banco

de dados foi submetido ao processo de validação por dupla digitação e, posteriormente, exportado para o *Software R* versão 3.6.0, para a realização da análise estatística.

Foi utilizado frequências absolutas e relativas para a análise descritiva das variáveis. Na comparação entre os grupos de interesse, utilizou-se o teste Exato de Fisher na análise de tabelas de contingência. Embora, na prática, ele seja empregado quando os tamanhos das amostras são pequenos, é válido para todos os tamanhos de amostra (AGREST, 2002). A significância estatística foi definida o valor de $p < 0,05$.

4.7 Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa mediante o parecer nº 3.091.400 da Faculdade de Ceilândia (FCE) e mediante o Parecer nº 3.153.400 da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS) sob CAAE 02140518.7.0000.8093 (ANEXO A e ANEXO B).

5 RESULTADOS

As ambulâncias terrestres de suporte avançado de vida, de um serviço público e um privado do Distrito Federal, investigadas nesse estudo apresentaram 26,08% de contaminação por bactérias gram-negativas (BGN) resistentes a meropenem e a mais outros três antibióticos.

A coleta de dados ocorreu durante três dias consecutivos e foram incluídas as ambulâncias com pelo menos uma coleta pela manhã e noite. Os critérios de exclusão foram: maca não estar na ambulância no momento da coleta, ambulância ausente da base, alteração do tipo de ambulância (suporte intermediário) nos períodos e dias de coleta (APÊNDICE E).

Das 23 BGN isoladas em meio de cultura com pressão seletiva de meropenem, destaca-se a espécie *S. maltophilia* (9) no colchão (6) e nas grades (3) que apresentavam sujidade à inspeção visual, no serviço público. Em dois isolados, não se identificou a espécie bacteriana, sendo classificadas presuntivamente como pertencentes ao grupo KESC (Tabela 6). De forma semelhante, o serviço privado teve a maioria dos isolados do traçado e colchão, com predomínio da *A. baumani* e à inspeção visual foram considerados, majoritariamente, limpos, (Tabela 7).

Tabela 6 – Bactérias Gram-negativas isoladas das macas das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre. Serviço Público. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Ambulância	Dia	Período	Espécie	Região Contaminada	Inspeção Visual
A	D1	Manhã	<i>S. maltophilia</i> (n=4)	Colchão	Sujo
		Noite	-	-	-
	D2	Manhã	<i>A. pittii</i> (n=2)	Colchão	Sujo
		Noite	<i>S. maltophilia</i> (n=2)	Colchão	Sujo
	D3	Manhã	-	-	-
		Noite	-	-	-
B	D2	Manhã	-	-	-
		Noite	-	-	-
	D3	Manhã	-	-	-
		Noite	-	-	-
C	D1	Manhã	<i>S. maltophilia</i> (n=3)	Grades	Sujo
		Noite	-	-	-
	D2	Manhã	-	-	-
		Noite	-	-	-
	D3	Manhã	-	-	-
		Noite	-	-	-
D	Manhã	-	-	-	
	Noite	-	-	-	
E	D1	Manhã	-	-	-
		Noite	KESC (n=2)	Colchão	Limpo
F	D2	Manhã	-	-	-
		Noite	-	-	-

Notas: **Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*.

Tabela 7 – Bactérias Gram-negativas isoladas das macas das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre. Serviço Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Ambulância	Dia	Período	Espécie	Região Contaminada	Inspeção Visual
A	D1	Manhã	-		-
		Noite	-	-	-
	D2	Manhã	-		-
		Noite	-		-
	D3	Manhã	-		-
		Noite	-		-
B	D1	Manhã	-		-
		Noite	<i>A. baumannii</i> (n=2)	Colchão	Limpo
	D3	Manhã	-		-
		Noite	-		-
C	D1	Manhã	-		-
		Noite	-		-
D	D1	Manhã	-		-
		Noite	<i>A. baumannii</i> (n=1) <i>A. baumannii</i> (b) (n=1)	Grades	Sujo
	D2	Manhã	-		-
		Noite	-		-
	D3	Manhã	-		-
		Noite	KESC (n=2)*	Colchão	Sujo
E	D3	Manhã	-		-
		Noite	BGNNF ** (n=1) <i>A. baumannii</i> (n=1)	Traçado	Limpo
F	D1	Manhã	BGNNF ** (n=1) <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> – <i>Acinetobacter baumannii</i> (n=1)	Traçado	Limpo
		Noite	-		-

Notas: **Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*. ** Bacilo Gram-Negativo Não Fermentador.

Houve um predomínio de bactérias do grupo das bactérias Gram-negativas não fermentador, com destaque da espécie *S. maltophilia* (n=9 39,13%), seguido *Acinetobacter* (n=8 34,78%). Contudo, algumas bactérias não puderam ser identificadas pelo MALDI-TOF, sendo apresentada pela sua identificação presuntiva no ágar cromogênico ESB, isto é, KESC 4 (17,39%) e NF 2 (8,69%). Notou-se uma homogeneidade tanto nas espécies e genes de resistência quanto no perfil sensibilidade aos antibióticos nos isolados dos dois serviços estudados (Tabela 8 e Tabela 9).

Após a realização da caracterização molecular de possíveis genes de resistência, assim como da realização do Teste de Sensibilidade a Antibióticos (TSA) por meio do disco difusão em ágar, pôde-se perceber que 6 (26,08%) bactérias portavam gene de resistência, sendo todas do tipo CTX-M do grupo 8, identificado em duas cepas de *A. baumannii*, em uma de *S. maltophilia* e em um de BGNNF. Nesse estudo não foi encontrada nenhuma espécie bacteriana portando carbapenemases do tipo *blaKPC*, *blaNDM*, *blaIMP*, *blaVIM* ou *blaOXA48*, tampouco ESB do tipo *blaCTX-M* dos grupos 1 e 2. Apenas um isolado de *A. baumannii* apresentou perfil

sensibilidade aos antibióticos diferente dos demais, sendo identificado como *A. baumannii* (b) (Tabela 8).

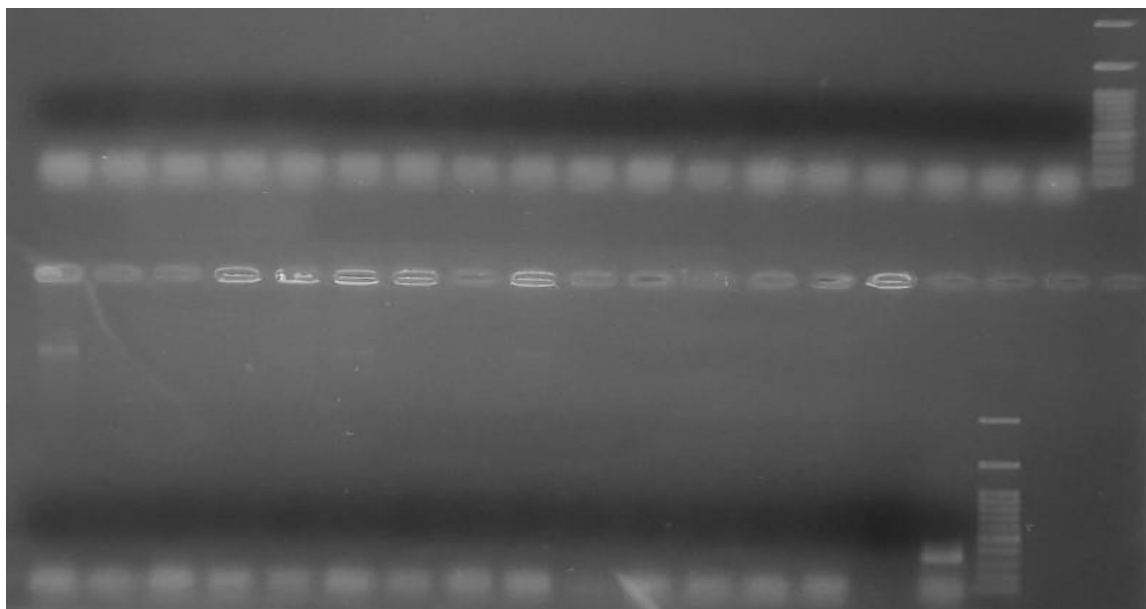


Figura 10 – Reação de PCR para *blaVIM* em gel de agarose a 1%, sob transiluminação UV. Apenas reação do controle foi amplificada (*aplicon* de aproximadamente 332pb, ao lado do marcador de peso molecular na fileira de baixo)

Fonte: Acervo pessoal.

Tabela 8 – Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos e gene de resistência dos BGN identificados nas macas das ambulâncias. Serviços Público e privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Espécie	Interpretação do halo de Inibição do TSA					Gene de Resistencia
	AMI	GEN	CIP	SUT	MPM	
<i>S. maltophilia</i> (n=1)	-	-	-	Sensível Aumentando a exposição	-	CTX-M do grupo 8
<i>A. baumannii</i> (n=2)	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	CTX-M do grupo 8
<i>A. baumannii</i> (b) (n=1)	Resistente	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	CTX-M do grupo 8
BGNNF (n=2)	-	-	-	-	-	CTX-M do grupo 8

Notas: AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacino; SUT: Sulfazorim; MPM: Meropenem.
*Isolado com perfil de sensibilidade distinto dos demais da mesma espécie; **Bacilo Gram-Negativo Não-Fermentador.

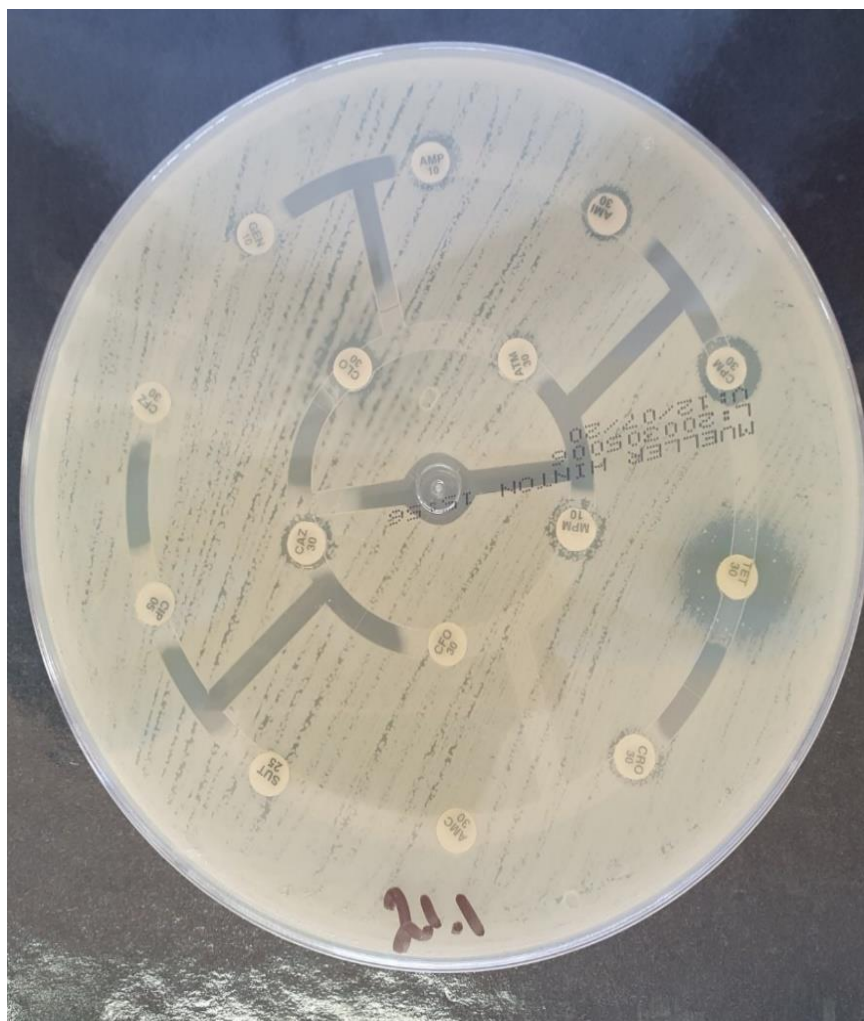


Figura 11 – TSA de isolado de *Acinetobacter baumannii* resistente aos 5 antibióticos aprovados para teste pelo EUCAST/BRCast (2020) e portador de *bla_{CTX-M-8}*

Fonte: Acervo pessoal.

A tabela 9, apresenta os resultados do TSA das bactérias que não apresentaram carbapenemases ou ESBL. Os dados apresentados chamam a atenção para a alta frequência de resistência aos antibióticos em *A. baumannii* e em *Acinetobacter calcoaceticus* – *Acinetobacter baumannii*, com frequência de 100% de resistência para os antibióticos testados. Além disso, observou-se 100% de sensibilidade aumentando a exposição ao Sulfazotrim (SUT) nas espécies de *S. maltophilia*, além de sensibilidade a todos os antibióticos testados nos isolados de *A. pittii*, sugerindo tratar-se de uma cepa selvagem, isto é, cepa que não apresentou nenhuma alteração adquirida em sua estrutura que a tornasse resistente aos antibióticos testados (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Tabela 9 – Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos dos BGN identificados nas macas das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre. Serviços Público e Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Espécie	Interpretação do halo de Inibição do TSA				
	AMI	GEN	CIP	SUT	MPM
<i>S. maltophilia</i> (n=8)	-	-	-	Sensível Aumentando a exposição	-
<i>A. pittii</i> (n=2)	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível	Sensível
<i>A. baumannii</i> (n=2)	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> – <i>acinetobacter baumannii</i> (n=1)	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
KESC* (n=4)	-	-	-	-	-

Notas: AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacino; SUT: Sulfazorim; MPM: Meropenem.
**Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter*

A contaminação das superfícies das ambulâncias por BGN patogênicos chama a atenção, além disso preocupa o dado de que 30,43% dos isolados apresentaram resistência a meropenem e a mais outros três antibióticos, pois o perfil de resistência é tipificado como alerta pela OMS e CDC (CDC, 2019; WHO 2015). Nesse cenário, tem-se que a limpeza e desinfecção (L&D) das superfícies representa uma estratégia importante para o controle da contaminação.

A Tabelas 10 e 11 descrevem para o serviço público e para o privado, respectivamente, as frequências de realização de L&D por categorias profissionais, sexo e crescimento bacteriano. Não houve significância estatística ($p < 0,05$) para as variáveis analisadas.

Tabela 10 – Associação entre a realização de L&D, por categoria profissional e sexo e comparação com o crescimento ou não bacteriano. Serviço Público. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Características dos profissionais da Rede Pública de Saúde	L&D?					Crescimento Bacteriano?					
	Não		Sim		Valor-p ¹	Não		Sim		Valor-p ¹	
	N	%	N	%		N	%	N	%		
Profissão	Enfermeiro	1	7,1%	13	92,9%	1,000	12	85,7%	2	14,3%	1,000
	Médico	0	0,0%	1	100,0%		1	100,0%	0	0,0%	
Sexo	Feminino	0	0,0%	12	100,0%	0,250	9	75,0%	3	25,0%	0,529
	Masculino	1	25,0%	3	75,0%		4	100,0%	0	0,0%	

L&D: Limpeza e Desinfecção.

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 1 dado, referentes a variável “L&D”

**Houve a perda de até 2 dados, na categorização “crescimento bacteriano”

***Houve a perda de 3 dados, referentes a variável “Profissão”

****Houve a perda de 3 dados, referentes a variável “Sexo”

Tabela 11 – Descrição da realização ou não de L&D, por categoria profissional e sexo e comparação com o crescimento ou não bacteriano. Serviço Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Características dos profissionais da Rede Privada de Saúde	L&D?				Valor-p ¹	Crescimento Bacteriano?*				Valor-p ¹	
	Não		Sim			Não		Sim			
	N	%	N	%		N	%	N	%		
Enfermeiro	4	33,3%	8	66,7%	0,637	10	83,3%	2	16,7%	0,607	
Profissão Socorrista	0	0,0%	3	100,0%		2	66,7%	1	33,3%		
Técnico em enfermagem	0	0,0%	1	100,0%		1	100,0%	0	0,0%		
Sexo	Feminino	2	25,0%	6	75,0%	1,000	5	62,5%	3	37,5%	0,200
	Masculino	2	25,0%	6	75,0%		8	100,0%	0	0,0%	

L&D: Limpeza e Desinfecção.

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de até 2 dados, na categorização “crescimento bacteriano”

No contexto da L&D, verificou-se que nenhum dos dois serviços possuía um protocolo institucional, no momento da coleta. Observou-se que os profissionais que realizaram L&D utilizaram diferentes produtos, sendo que o sanitizante mais utilizado foi o álcool 70%, em uso isolado ou em associação a outro agente de limpeza ou de desinfecção.

Os dados sinalizaram uma preocupação em realizar a L&D, porém não há o cuidado necessário com a escolha do produto, fato vislumbrado em uma resposta na qual o profissional afirmou ter utilizado um “Produto que tinha no hospital, mas não sabia o nome”, o que pode ser reflexo da falta de protocolo institucional (Tabela 12).

Tabela 12 – Descrição do produto utilizado na L&D e comparação com o crescimento bacteriano. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Produto*	Crescimento Bacteriano?***				Valor-p ¹
	Não		Sim		
	N	%	N	%	
Não fez	8	66,7%	4	33,3%	0,282
Aspersão de Álcool 70%	10	83,3%	2	16,7%	
Álcool 70% e pano reutilizado	0	0,0%	1	100,0%	
Álcool 70% com pano	7	87,5%	1	12,5%	
Água e sabão	1	100,0%	0	0,0%	
Limpador Multiuso e água	0	0,0%	1	100,0%	
Álcool 70%, Limpador Multiuso e água	1	100,0%	0	0,0%	
Sabão	1	100,0%	0	0,0%	
Produto que tinha no hospital, mas não sabia o nome	1	100,0%	0	0,0%	
Álcool 70% e SF 0,9%	1	100,0%	0	0,0%	
Álcool 70% com compressas	1	100,0%	0	0,0%	

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 1 dado, quanto a variável produto

***Houve a perda de 2 dados, na categorização “crescimento bacteriano”

Não houve relação estatisticamente significativa entre o produto utilizado e o crescimento microbiano, como apresenta a Tabela 12, porém observa-se, para esta amostra, qualquer produto empregado foi capaz de reduzir o crescimento bacteriano.

A tabela 12 ainda demonstra que diversas foram as respostas recebidas, contudo, elas eram similares quanto ao tipo de produto utilizado, isto é, o álcool 70% foi o mais utilizado. Sendo assim, foi realizado um agrupamento dos produtos utilizados e feito a comparação com o crescimento microbiano, para o serviço público e para o privado, porém não se observou relação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13 – Produto utilizado na L&D e sua relação com o crescimento bacteriano. Serviço público. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Produto*	Crescimento Bacteriano?***				Valor-p ¹
	Não		Sim		
	N	%	N	%	
Não fez	3	75,0%	1	25,0%	0,411
Produto que tinha no hospital, mas não sabia o nome	1	100,0%	0	0,0%	
Limpador Multiuso e água	0	0,0%	1	100,0%	
Grupo Álcool 70%	11	84,6%	2	15,4%	
Grupo Sabão	2	100,0%	0	0,0%	

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 1 dado, quanto a variável produto

**Houve a perda de 2 dados, na categorização “crescimento bacteriano”

Tabela 14 – Produto utilizado na L&D e sua relação com o crescimento bacteriano. Serviço privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Produto	Crescimento Bacteriano?***				Valor-p ¹
	Não		Sim		
	N	%	N	%	
Não fez	5	62,5%	3	37,5%	0,347
Grupo Álcool 70%	9	81,8%	2	18,2%	

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 1 dado, quanto a variável produto

**Houve a perda de 2 dados, na categorização “crescimento bacteriano”

Os resultados desse estudo não são capazes de afirmar o melhor produto a ser utilizado na L&D de macas de ambulâncias, todavia os dados apresentados sugerem que álcool 70% pode ser uma alternativa viável, contribuindo para a literatura que precisará de investigações futuras.

O resultado da inspeção visual foi comparado com o crescimento microbiano, porém não houve relação estatisticamente significativa ($p < 0,05$), mas notou-se que houve predomínio

de avaliações das superfícies como sujas (n=79), apesar de não haver associação com isolado microbiológico. Tal fato pode ter ocorrido devido a especificidade das espécies bacterianas buscada nessa investigação, apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Associação entre a inspeção visual, por local examinado e crescimento microbiano. Serviço Público e Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

	Inspeção visual (Local da Sujidade)	Crescimento Bacteriano?*				Valor-p ¹
		Não		Sim		
		N	%	N	%	
Colchão	Limpo	24	85,7%	4	14,3%	0,059
	Sujo	8	57,1%	6	42,9%	
Grades	Limpo	14	77,8%	4	22,2%	1,000
	Sujo	18	75,0%	6	25,0%	
Alça	Limpo	8	72,7%	3	27,3%	1,000
	Sujo	24	77,4%	7	22,6%	
Traçado	Limpo	7	70,0%	3	30,0%	0,897
	Sujo	8	80,0%	2	20,0%	
	Não havia na ambulância	17	77,3%	5	22,7%	

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 2 dados, na categorização “crescimento bacteriano”

Diante dos resultados da Tabela 15, que demonstram que a maioria das superfícies estavam sujas, coube verificar se havia relação estatisticamente significativa entre a presença de sujidade na inspeção visual, quando comparado com a realização de L&D e mesmo que não tenha havido uma significância estatística ($p < 0,05$) é possível inferir-se uma inconsistência entre a realização da L&D e a inspeção da superfície, já que que mesmo nos casos relatados que a L&D foi executada, numa 85,7% da vezes no serviço público (Tabela 16) e 58,8% das vezes no serviço privado (Tabela 17), a inspeção visual avaliou a superfície como suja.

Tabela 16 – Comparação entre a inspeção visual, por local examinado e realização de L&D. Serviço Público. Brasil, Brasília, DF, 2019.

	Local da Sujidade (Inspeção visual)	L&D?*				Valor-p ¹
		Não		Sim		
		N	%	N	%	
Colchão	Limpo	1	7,7%	12	92,3%	0,253
	Sujo	3	37,5%	5	62,5%	
Grades	Limpo	2	28,6%	5	71,4%	0,574
	Sujo	2	14,3%	12	85,7%	
Alça	Limpo	1	16,7%	5	83,3%	1,000
	Sujo	3	20,0%	12	80,0%	

L&D: Limpeza e Desinfecção.

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 1 dado, quanto a variável “L&D”

Tabela 17 – Comparação entre a inspeção visual, por local examinado e realização de L&D. Serviço Privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

Local da Sujidade (Inspeção visual)		L&D?*				Valor-p ¹
		Não		Sim		
		N	%	N	%	
Colchão	Limpo	6	35,3%	11	64,7%	0,135
	Sujo	4	80,0%	1	20,0%	
Grades	Limpo	4	36,4%	7	63,6%	0,670
	Sujo	6	54,5%	5	45,5%	
Alça	Limpo	3	60,0%	2	40,0%	0,624
	Sujo	7	41,2%	10	58,8%	
Traçado	Limpo	4	36,4%	7	63,6%	0,670
	Sujo	6	54,5%	5	45,5%	

L&D: Limpeza e Desinfecção.

¹Exato de Fisher

*Houve a perda de 1 dado, quanto a variável “L&D”

Todas essas observações somam-se e formam o bojo no qual a contaminação das macas por BGN resistente a múltiplas drogas representam risco à saúde, pois as ambulâncias são elementos móveis e deslocam-se por diversas cidades, sendo que as macas, amostra desse estudo, acessam diversos ambientes, o que pode representar risco para a disseminação das espécies encontradas durante a investigação.

Nesse contexto, a Tabela 18 apresenta o motivo da saída das ambulâncias, no momento anterior ao da coleta, apresentado qual foi ponto de origem e o ponto de destino da ambulância. Esse dado ilustra a variedade de locais que podem ser fonte ou que estão expostos a contaminação encontrada nas macas das ambulâncias.

Tabela 18 – Motivo de saída das ambulâncias de suporte avançado de vida e o percurso (ponto de origem e destino) para serviço público e privado. Brasil, Brasília, DF, 2019.

	Variáveis	N	%
Motivo de saída	Não houve atendimento/Transporte	11	25,0%
	Atendimento	18	40,9%
	Remoção	15	34,1%
Percurso de transporte do paciente**	Não houve Transporte*	13	34,2%
	Hospital para hospital	13	34,2%
	Casa para hospital	6	15,8%
	Clínica para hospital	1	2,6%
	Via pública para hospital	2	5,3%
	Supermercado para UPA	1	2,6%
	UPA para hospital	1	2,6%
UBS para hospital	1	2,6%	

*Pode ter havido saída da ambulância para atendimento, contudo sem transporte do paciente.

**Houve a perda de 6 dados, referentes a variável “Percurso de transporte do paciente”

De forma complementar a Figura 12 ilustra o percurso realizado por cada ambulância, mostrando a cidade de origem e destino de cada ambulância incluída nesse estudo. Esses dois dados, dão magnitude ao problema encontrada nos resultados ora apresentados.

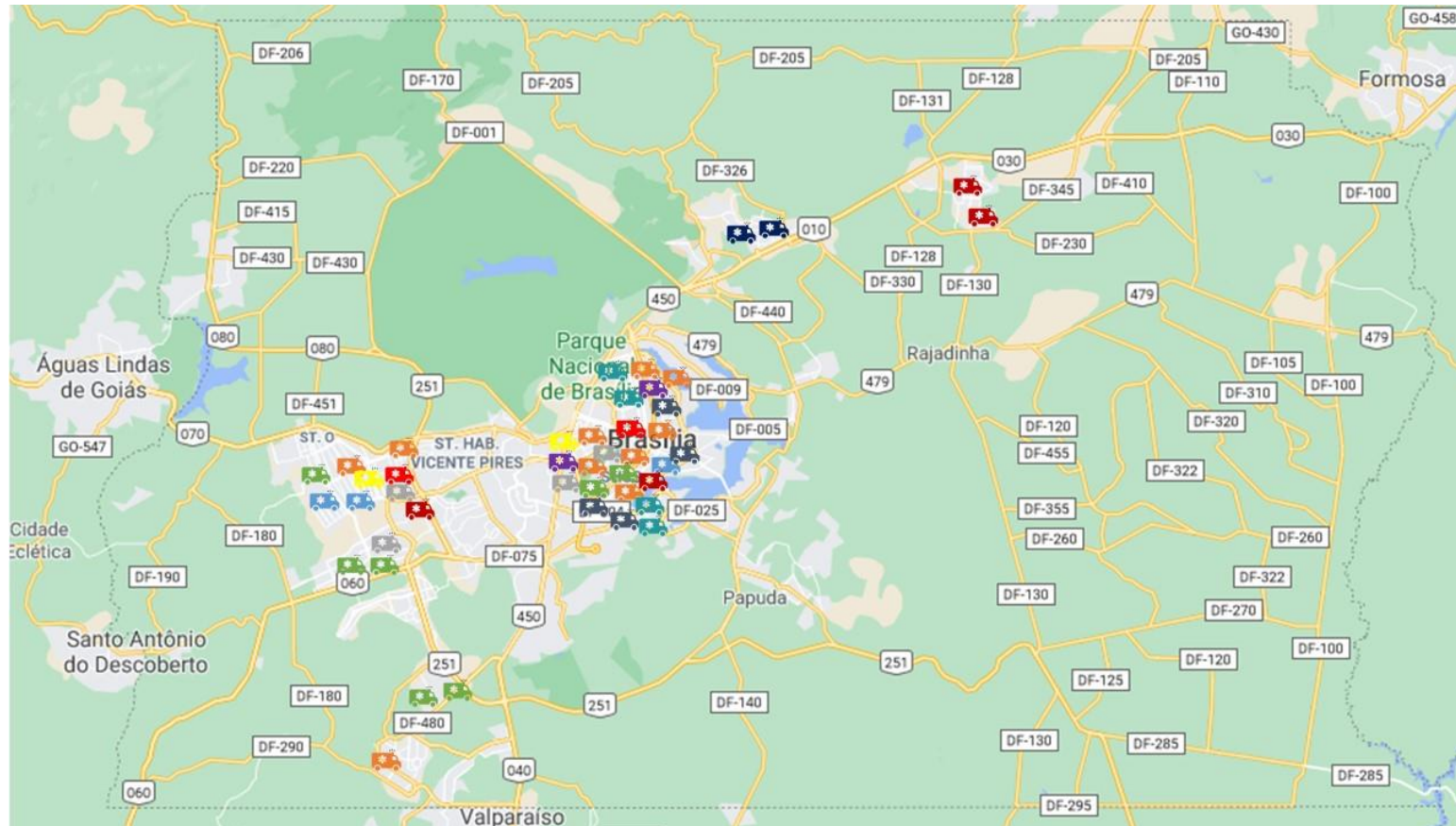


Figura 12 – Distribuição das ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre no território do Distrito Federal, durante os três dias de coleta, 2019. Distribuição de cores do serviço público por ambulâncias: A - Laranjada; B – Azul Claro; D – Vermelha; E – Cinza; F – Azul Escuro; Distribuição de cores do serviço privado por ambulâncias: A - Verde; B – Grafite; C – Roxa; D – Vinho; E – Azul-Turquesa; F – Amarela

Fonte: Adaptado de *Maps do Google*.

Outro dado que representa a magnitude do problema é contaminação do carro administrativo, utilizado como controle negativo, isto é, considerado como ponto em que não deveria haver contaminação por BGN resistente a meropenem, ou resistente aos demais antibióticos testados, tendo em vista ser um veículo que não transporta paciente. E, de fato, a ausência de contaminação foi a observação mais frequente, sendo que apenas um carro administrativo, coletado na manhã do terceiro dia de coleta, no mesmo ponto de base da ambulância “C” do serviço público, apresentou contaminação, com o crescimento de um *Achromobacter* spp. e um *A. baumannii*, sendo que o primeiro não possui valores de referência para TSA pelo EUCAS/BRCAS (2020) e o segundo apresentou resistência a Meropenem e Sulfazotrim, além de ter sido “sensível aumentando a exposição” a Ciprofloxacino e sensível a Gentamicina e a Amicacina.

Apesar de apresentar perfil de sensibilidade maior, quando comparado aos *A. baumannii* encontrados nas macas, o fato de observa-se *A. baumannii* no volante de carro administrativo, sugere que a contaminação no cenário pré-hospitalar móvel se estende por locais que estão além daqueles onde a assistência ao paciente é prestada, evento que reforça as inadequações nos procedimentos de limpeza e desinfecção de superfícies, bem como da higiene das mãos, como falhas profissionais que corroboram para a disseminação da contaminação.

Os resultados encontrados, nesse estudo, demonstram que macas das ambulâncias terrestres, tem-se superfícies contaminadas, por espécies de BGN resistentes a múltiplas drogas fato que as torna relevante como risco para a saúde e podem significar risco à segurança do paciente e saúde ocupacional; e associado a fatores de virulência, tornando-se potenciais causadores de infecções.

6 DISCUSSÃO

A investigação conduzida, nesse estudo, encontrou 26,08% de bactérias gram-negativas (BGN) resistentes a meropenem. BGN são constitutivamente mais complexas que bactérias gram-positivas. Sua parede celular, apesar de uma camada delgada de peptidoglicano, possui duas membranas celulares, o que dificulta o acesso de certos antibióticos, como os β -lactâmicos, aos seus sítios de ação. Além disso, espécies gram-negativas comumente portam mecanismos de resistência a diversos antibióticos, como carbapenêmicos, aminoglicosídeos e ampicilinas, sejam por diminuição de porinas, produção de bombas de efluxo, ou por enzimas, que podem ser codificadas por genes cromossômicos, como no caso da *Stenotrophomonas maltophilia*, ou por elementos móveis adquiridos, como ocorre com as carbapenemases e as ESBL, comuns em *enterobacteriaceae* e em não-fermentadores (PROCOP *et al.*, 2018; SANCHEZ; HERNANDEZ; MARTINEZ, 2009; IACONIS; SANDERS, 1990; NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012; QUEENAN; BUSH, 2007).

BGN isolados, nesse estudo, coincidem com os achados de Vikke e Giebner (2016), Bielawska-Drózd *et al.* (2017) e O'Hara *et al.* (2017), que descrevem o isolamento de *enterobacteriaceae* e de bacilos não-fermentadores, incluindo *Acinetobacter*. Essas bactérias causam infecções oportunistas e que tem extrema relevância no ambiente hospitalar, com destaque no ambiente da terapia intensiva, sendo responsável por surtos de infecções. Além disso, cepas resistentes a carbapenêmicos e a múltiplas drogas, figuram como ameaça urgente de contenção de disseminação e carecem de desenvolvimento de novas drogas, segundo a OMS e o CDC (CDC, 2019; WHO, 2017).

Nesse estudo, destaca-se que 75% dos isolados de *Acinetobacter* cumprem as exigências das OMS e do CDC para serem consideradas ameaças urgentes, isto é, são bactérias que foram resistentes a múltiplas drogas e a um carbapenêmico. Os estudos de Bielawska-Drózd *et al.* (2017) e Noh *et al.* (2011) apesar de encontrarem *Acinetobacter*, não descrevem o perfil de suscetibilidade a antibióticos de seus isolados. Contudo, cepas resistentes a múltiplas drogas parecem estar mais ligadas ao ambiente hospitalar (WARDE; DAVIES; WARD, 2019; MIRZA 2011) que a outros ambientes (CHOI *et al.*, 2012), o que pode justificar a pouca identificação desse gênero em ambulâncias, ainda que sejam ambientes de assistência à saúde.

Os isolados de *S. maltophilia*, desse estudo, foram todos “sensíveis aumentando a exposição” ao Sulfazorim (SUT), o que é semelhante ao trabalho de Sozzi *et al.* (2019). Ainda, teve-se, o único isolado do gênero *Acinetobacter* que apresentou 100% de sensibilidade a todos

os antibióticos testado, foi o *A. pittii* que, para um isolado ambiental, está de acordo com o descrito na literatura (CHOI *et al.*, 2012).

Enterobacteriaceae e *Acinetobacter* compõem os grupos de bactérias mais frequentemente associadas a infecções nosocomiais em pacientes imunossuprimidos, causando infecções de corrente sanguínea, associadas a cateter vesical de demora e a ventilação mecânica. *S. maltophilia* desponta mais recentemente como patógeno nosocomial, com destaque para seu perfil intrínseco de resistência a múltiplas drogas, o que torna infecções por *S. maltophilia* resistentes ao Sulfazorim muito complicadas de tratar (PROCOP *et al.*, 2018; ABBOTT; PELEG, 2015; MUNOZ-PRICE; WEINSTEIN, 2008).

A utilização do MALDI-TOF, nesse estudo, mostrou-se identificou a maioria das espécies de BGN, o que correspondiam ao grupo presuntivo previamente identificado por meio da cultura bacteriana em meio cromogênico. Esses achados se apoiam na literatura que afirma que o MALDI-OF é um método eficiente e confiável para identificação microbiológica (SANTOS *et al.*, 2013; GAUTAM *et al.*, 2017).

Considera-se que esse estudo se diferencia dos demais da literatura em diversos aspectos, como na busca direcionada a organismos gram-negativos sob pressão de seleção com meropenem e na sua caracterização molecular. Nesse sentido, mesmo diante dos melhores esforços, foi possível encontrar apenas um estudo brasileiro, com método semelhante, isto é, buscar microrganismos específicos em ambulâncias, que é o estudo de Sozzi *et al.* (2019), porém sem análise molecular. Internacionalmente, ainda que presentes, também são poucos os estudos que realizam a caracterização molecular de bactérias isoladas em ambulâncias, a exemplo dos estudos de Rago *et al.* (2012), Vikke e Giebner (2016) e O'Hara *et al.* (2017).

A identificação de características moleculares de resistência em bactérias isoladas em ambulâncias tem fundamental importância, quando tem-se o entendimento de que muitos mecanismos estão ligados a elementos genéticos móveis, o que facilita a transmissão horizontal entre as espécies (VAN LOON; HOLT; VOS, 2018), pois soma-se a esse contexto a questão da mobilidade das ambulâncias por diferentes espaços de saúde e por diferentes espaços comunitários, o que pode contribuir para a disseminação microbiana, como em casos de transmissões intercontinentais dos genes de KPC e NDM, ou seja, um veículo, nesses casos, possivelmente um avião, transportando um indivíduo portando um desses genes, contribuiu para disseminação intercontinental da resistência microbiana (NAAS *et al.*, 2005; YANG *et al.*, 2009), realidade que parece muito possível de se repetir no transporte de pacientes em um espaço geográfico menor e por ambulâncias terrestres.

Globalmente enzimas CTX-M-15 são as mais disseminadas (ZAGO *et al.*, 2015). Silva e Lincopan (2012) afirmam que enzimas CTX-M dos grupos 2, 8 e 9 são as mais frequentes no Brasil, com destaque para disseminação em *enterobacteriaceae* e menos comum em não-fermentadores.

Nesse sentido, a busca por genes de resistência nos isolados incluídos nesse estudo agrega conhecimento sobre o tema no contexto brasileiro, uma vez que das seis bactérias portando enzimas tipo ESBL, codificadas pelo gene blaCTX-M do grupo 8, 50% eram *A. baumannii* das quais 66,66% (n=2) foram resistentes aos 5 (cinco) antibióticos testados (EUCAST/BrCAST, 2020), inclusive ao meropenem, resultado semelhante aos estudos de Ranaei *et al.* (2020) e Alyamani (2015).

Em *A. baumannii* tem-se descrito a identificação de isolados portando CTX-M de diversos grupos (LUPO; HAENNI; MADEC, 2018), contudo, especificamente CTX-M do grupo 8, que foi o encontrado nesse estudo, não é o mais gene mais frequente e achados semelhantes ao aqui reportados foram descritos apenas no Iran (RANAEI *et al.*, 2020) e na Arábia Saudita (ALYAMANI *et al.*, 2015), demonstrando um genótipo incomum nos isolados de *A. baumannii* deste estudo.

Fato semelhante ocorreu com o isolado de *S. maltophilia* que portava CTX-M do grupo 8, pois apesar de terem sido descritos cepas de *S. maltophilia* portando CTX-M, estas eram do grupo 1 (FURLAN *et al.*, 2018; NAIEMI; DUIM; BART, 2006; MARAVIC *et al.*, 2014), novamente demonstrando um genótipo incomum nas cepas aqui analisadas.

A identificação desses genes de resistência é importante, pois contribui para a delimitação do cenário epidemiológico local. Além disso, sabe-se que enzimas CTM-M são codificadas por elementos genéticos móveis, o que facilita a sua disseminação horizontal (NORDMANN; DORTET; POIREL, 2012; QUEENAN; BUSH, 2007).

Tendo em vista que essas enzimas possuem muita eficiência na inativação das cefalosporinas, antibióticos que surgiram como opção terapêutica, diante da crescente resistência ao β -lactâmicos, mas que podem perder o efeito terapêutico frente a bactérias portando CTX-M, o que possível limitar as opções terapêuticas, piorando o prognóstico e contribuído para a mortalidade nos infectados (PONCE-DE-LEON *et al.*, 2018; ANDRADE; DARINI, 2016).

Outro ponto de destaque se faz à proposição de Maravic *et al.* (2014), que assim como nesse estudo, mesmo portando gene de ESBL, seu isolado ambiental de *S. maltophilia* foi sensível ao Sulfazorim, mas se discute a possibilidade dessa bactéria poder comportar-se como

reservatório para disseminação ambiental de genes de resistência, tendo em vista que CTX-M está associado a elementos genéticos móveis.

Quanto ao *A. pittii*, este tem emergido no cenário global e nacional como patógeno em potencial, apresentando resistência a carbapenêmicos por meio de produção de enzimas codificadas por elementos móveis (ZANDER *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2018; CAYÔ *et al.* 2018). Os achados desses estudos corroboram com a literatura, devido a identificação de uma cepa de *A. pittii* portadora do gene CTX-M, mas diferem no perfil de susceptibilidade a antibióticos, pois o isolado encontrado foi sensível aos 5 (cinco) antibióticos testados (EUCAST/BrCAST, 2020). Contudo, em concordância com Silva *et al.* (2018) reforça-se que é preciso ter atenção a presença desse tipo de gene de resistência em *A. pittii*, pois pode haver risco de disseminação ambiental.

Parte do significado epidemiológico e clínico dos isolados microbianos e da identificação molecular de genes de resistência se completa com a avaliação do perfil de susceptibilidade a antibióticos, que nesse estudo está em concordância com a literatura que descreve o contexto hospitalar (CDC, 2019; WHO 2015; BRASIL; 2019; MIRZA *et al.*, 2011). Entretanto, no cenário das ambulâncias, estudos como o de Galtelli, Deschamp e Rogers (2005), Bielawska-Drózd *et al.* (2017) e Noh *et al.* (2011), apesar de descreverem germes gram-negativos, não avaliam o perfil de susceptibilidade a antibióticos. Sozzi *et al.* (2019), por outro lado, descrevem o isolamento de *S. maltophilia* sensível a todos os antibióticos testados nas ambulâncias avaliadas, achado semelhante ao descrito nesse estudo.

Nesse sentido, a contaminação das superfícies encontrada, tem relevância sob a ótica de que os organismos descritos, em especial o *Acinetobacter* spp., mostraram-se, em outros estudos, extremamente capazes de manterem-se viáveis em superfícies, de semanas a meses, e ainda serem associados como agentes causadores em infecções cruzadas (YAKUPOGULLARI *et al.*, 2016; MIRZA *et al.*, 2011). Além disso, o perfil de resistência molecular encontrado, que difere do descrito na literatura, demonstra como é importante a realização de estudos e de culturas de vigilância, como argumenta Flores *et al.* (2016). É importante ter em vista, também, o que apontam os estudos de Roesch (2017) e DalBen *et al.* (2013), demonstrando que quanto maior a pressão de colonização no ambiente, maior o risco de o paciente ser colonizado ou infectado.

Nessa direção, sob a perspectiva da segurança do paciente que objetiva diminuir o risco de eventos adversos ao paciente (BRASIL, 2013), tem-se como uma estratégia para o controle da contaminação das superfícies, da disseminação ambiental de bactérias resistentes a múltiplas

drogas e do controle de infecção, a realização de limpeza e desinfecção (L&D) das superfícies como prática bem estabelecida para manutenção de um ambiente microbiologicamente seguro (MEDEIROS; ENDERS; LIRA, 2015; WHO, 2005; BRASIL, 2012; CDC, 2008).

Na realização de L&D investigada, foi percebida adesão parcial na realização, assim como inconformidades na técnica usada conforme sinalizado na inspeção visual, apesar de não significância estatística ($p < 0,05$) entre a inspeção visual e o crescimento microbiano ou com a realização da L&D, mas percebeu-se a presença de superfícies sujas, semelhante à literatura (NIGAM; CUTTER, 2003; VARONA-BARQUIN *et al.*, 2017).

Cabe destacar que, o saneante mais frequentemente relatado foi o álcool 70%, que está de acordo com a recomendação da ANVISA (BRASIL, 2018). Em termos regulamentadores, tem-se o Manual de Limpeza e Desinfecção de Superfícies (BRASIL, 2012), o Plano Nacional para a Prevenção e o Plano Nacional de Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde (BRASIL, 2017), contudo, ainda não há um documento nacional que atenda as especificidades das ambulâncias, vislumbrando que as padronizações institucionais, devem ser alvo de investigações futuras.

Esse estudo aponta, portanto, para a necessidade do desenvolvimento de ações de gestão de risco, tanto no contexto nacional como local, pois é preciso assegurar-se a criação de ferramentas para diminuição ou eliminação dos eventos adversos, bem como uma estruturação dos serviços para a definição das prioridades e melhoria das tomadas de decisão (BIZARRA; BALBINO; SILVINO, 2018; ODONE *et al.*, 2019; FASSINI; HAHN, 2012).

Quanto a presença de sujidade e contaminação por BGN, nas macas das ambulâncias, percebeu-se que entre as superfícies consideradas sujas, o colchão foi o mais contaminado (42,9%), apesar de ter sido o mais frequentemente avaliado como limpo (85,7%). Esse dado é corroborado com Eibicht e Vogel (2011) e Wepler *et al.* (2015), que demonstraram que a contaminação é mais concentrada em áreas com mais contato com paciente.

Notou-se também que as superfícies altamente tocadas, como grades e alças foram as frequentemente avaliadas como sujas, e ainda, que não houve correlação com a frequência de contaminação microbiana ou relação estatística ($p < 0,05$) entre as variáveis, esse dado associado aos longos e múltiplos percursos percorridos pelas ambulâncias, reforçam a necessidade de revisão das práticas adotadas pelos serviços estudados e reafirmam o que é discutido na literatura, de que superfícies altamente tocadas necessitam de maior atenção e frequência de limpeza que as superfícies gerais (CDC, 2003; CARLING; BARTLEY, 2010; SANTOS-JUNIOR, 2018).

A presença da contaminação das superfícies, nessa investigação, estendeu-se até o carro administrativo, local escolhido como controle negativo, isto é, como ponto de coleta, onde não se esperava encontrar os organismos de interesse, tendo em vista ser um ambiente em que não se realiza assistência à saúde, mas que estava contaminado pelos organismos de interesse, o que também é visto no estudo de Gibson (2018).

Nesse contexto, a presença de contaminação por *A. baumannii* resistente a meropenem sugere que vários processos relativos ao controle de infecção no ambiente pré-hospitalar podem estar comprometidos, problema que precisa ser observado em detalhe e sanado, pois como discutem Costa *et al.* (2019), patógenos resistentes a múltiplas drogas encontrados contaminando superfícies são capazes de ser transmitidos aos pacientes, reforçando a necessidade de ações de gestão de risco.

Além disso, as observações deste estudo sugerem que o profissional de saúde pode compor uma via de disseminação de contaminação ao ambiente, o que adicionaria mais uma rota de disseminação de RM, além daquelas propostas por Blaco, O'Hara e Harris (2019), a saber: 1) Paciente ao profissional de saúde; 2) Paciente ao ambiente; 3) Profissional de saúde ao paciente; 4) Ambiente ao paciente; 5) Ambiente ao profissional de saúde.

Reforça-se que todos esses aspectos são relacionados quando se enxerga a multiplicidade de locais aos quais as macas das ambulâncias transitam. Ao perceber a diversidade de pacientes que são transportados, ao notar as peculiaridades do serviço de pré-hospitalar móvel, que assiste o paciente agudo, vítima de trauma ou agravo clínico súbito em locais públicos ou residenciais, mas que também assiste o paciente de instituições de longa permanência e fazem o transporte inter-hospitalar de pacientes internados em UTIs, o que pressupõem um risco aumentado para a disseminação de organismos multirresistentes.

Reconhecer o risco da contaminação e outros aspectos relativos ao controle de infecção para Valle *et al.* (2008) ainda é algo a ser continuamente trabalhado nos profissionais dos serviços de emergência, pois segundo os autores, ainda que esses profissionais percebam aspectos de biossegurança como sendo importante, eles ainda não foram capazes de incorporar todos os conjuntos de medidas necessárias ao efetivo controle de infecções, conjuntura essa que pode ser relacionada aos profissionais envolvidos nesse estudo. No mesmo sentido, Bigham *et al.* (2012) apresenta, em uma revisão sistemática, que a segurança do paciente ainda é algo a ser alcançado nas equipes que trabalham em serviços pré-hospitalares.

Reforçar os conhecimentos sobre a importância da aplicação de todos os aspectos da biossegurança e do controle de infecção é fundamental, e essa afirmação remete a ideia da

redução dos riscos associados a assistência, que foi definido como objetivo da Segurança do Paciente no Brasil (BRASIL, 2013). A redução desses riscos envolve ações e estratégias preventivas, a gestão de riscos e a comunicação intersetorial e, nesse contexto, observa-se que a higiene das mãos, o ambiente limpo, livre de contaminação por bactérias resistentes a múltiplas drogas e portadoras de genes de resistência, contribui para o estabelecimento de um ambiente microbiologicamente seguro, que se torna possível o estabelecimento de um processo de cuidar seguro (CAVALCANTE *et al.*, 2019).

Considerando que, nesse estudo, os profissionais de enfermagem foram os mais apontados como responsáveis na realização da limpeza e desinfecção das macas, além de serem profissionais obrigatoriamente presentes nas equipes das ambulâncias (BRASIL, 2002), esta lacuna profissional-assistencial em que os aspectos fundamentais ao controle de infecção e a segurança do paciente, ainda carecem de atenção. O enfermeiro pode ter papel central e transformador ao atuar no desenvolvimento de ações de gestão e governança dos serviços de higiene como sugere Chaves *et al.* (2015) ou no desenvolvimento de ações educativas e treinamentos, que são capazes, segundo Simam e Brito (2016), de estimular o gerenciamento e diminuição dos riscos e melhorar a qualidade assistencial e a segurança do paciente.

6.1 Limitações

Descreve-se como limitações, desse trabalho, a impossibilidade de relacionar a contaminação das superfícies estudadas a um risco direto ao paciente, embora a literatura seja clara em definir que a contaminação das superfícies representa risco assistencial. Outra limitação foi o local de coleta ter sido apenas a maca da ambulância e a investigação ter sido somente por bactérias gram-negativas resistentes ao meropenem, que apesar de terem sido selecionadas dessa forma, pela relevância epidemiológica, não são os únicos patógenos humanos ou contaminantes de superfícies que poderiam ter sido encontrados, e ainda outras regiões da ambulância, as quais podem apresentar contaminação com relevância para a segurança do paciente. Ademais, não foi possível, dado o método selecionado e por não ter sido objeto de estudo, observar e descrever aspectos relacionados as técnicas de L&D utilizadas pelos profissionais, apenas os produtos relatados pelos participantes, além de não ter sido possível investigar onde estão as falhas nos processos de L&D, bem como suas causas envolvidas, porém as observações relativas ao álcool 70% e a multiplicidade de produtos utilizados sugerem onde estão as falhas e onde novas investigações podem ser conduzidas.

Outra limitação foi o recorte temporal, pois os dados de algumas ambulâncias foram apresentados para apenas um dia, tendo em vista a dificuldade de encontrar a ambulância devido a sua mobilidade frequente, motivo pelo qual um estudo posterior com seguimento de tempo maior pode ser relevante.

7 CONCLUSÃO

Os achados desse estudo evidenciaram a contaminação de macas de ambulâncias de suporte avançado de vida terrestre por bactérias gram-negativas, a maioria (39,13%) *Stenotrophomonas maltophilia* e *Acinetobacter baumannii*, no serviço público e privado respectivamente. Algumas cepas BGN (26,08%) eram portadoras de enzimas do tipo bla_{CTX-M} do grupo 8 e com resistência a múltiplas drogas e não foi encontrado resistência mediada por carbapenemases ou por bla_{CTX-M} dos grupos 1 e 2.

Observou-se que a maioria das superfícies examinadas (colchão, traçado, grades e alças das macas de ambulâncias) foram consideradas sujas pela inspeção visual, apesar de não ter associação estatística significativa com o isolamento de bactérias Gram-negativas.

O enfermeiro foi o profissional responsável, na maioria dos relatos, pela realização da limpeza e desinfecção das macas das ambulâncias, utilizando água, sabão e álcool a 70%, tanto no serviço público como no privado.

Nota-se diferença nesse estudo em relação aos demais presentes na literatura quanto as técnicas utilizadas, assim como a descrição das regiões da maca que foram coletadas, observando-se regiões altamente tocadas por pacientes e por profissionais de saúde, dado que é frequentemente omitido na literatura, sendo apenas reportado que a coleta ocorreu na maca. E complementar a maca, foi coletado um local não assistencial (carro administrativo), que também apresentou contaminação e que possibilitou propor uma rota complementar de contaminação do ambiente, mediada pelo profissional de saúde. Além disso, observou-se um perfil molecular incomum em alguns isolados de *A. baumannii* e de *S. maltophilia*, demonstrando a importância da investigação conduzida para delimitação do cenário epidemiológico local.

Por fim, foi possível identificar lacuna na segurança do paciente, em especial nas ferramentas de gestão de risco, pois não havia protocolo nacional para limpeza e desinfecção de ambulâncias, ou institucional nos serviços de ambulâncias estudados, espaço que carecerá de investigações futuras, inclusive com a delimitação do melhor sanitizante a ser utilizado, pois os resultados desse estudo indicaram que o álcool 70% pode representar uma alternativa, porém é necessário a condução de uma investigação para que se possa concluir qual a melhor técnica e produto a ser utilizado no contexto das ambulâncias a fim de se subsidiar a elaboração de protocolos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, I.; PELEG, A. *Stenotrophomonas*, *Achromobacter*, and Nonmelioid *Burkholderia* Species: antimicrobial resistance and therapeutic strategies. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, [S.I.], v. 36, n. 01, p. 099-110, 2 fev. 2015.
- AGRESTI, A. **Categorical data analysis**. New York: Wiley, 2002
- ALVES, Donald W.; BISSELL, Richard A.. Bacterial Pathogens in Ambulances: Results of Unannounced Sample Collection. **Prehosp Emerg Care**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.218-224, jan. 2008. Informa UK Limited.
- ALYAMANI, Essam J. *et al.* Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) produced by clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Saudi Arabia. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-9, 20 Aug. 2015. Springer Science and Business Media LLC.
- AMBLER, R. P. The structure of β -Lactamases. **Phil. Trans. R. Soc. Lond**, p. 321-331, 1980.
- AMELIA, A.; NUGROHO, A.; HARIJANTO, P. N. Diagnosis and Management of Infections Caused by *Enterobacteriaceae* Producing Extended-Spectrum β -Lactamase. Department of Internal Medicine, University of Sam Ratulangi, Indonesia, **Acta Med Indones**, v. 48 n. 2, p. 156-166, abr. 2016.
- AMOUREUX, L.; BADOR, J.; SIEBOR, E.; TAILLEFUMIER, N.; FANTON, Annlyse; NEUWIRTH, Catherine. Epidemiology and resistance of *Achromobacter xylosoxidans* from cystic fibrosis patients in Dijon, Burgundy: First, french data. **Journal of Cystic Fibrosis**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 170-176, Mar. 2013.
- MUNOZ-PRICE, L. Silvia; WEINSTEIN, Robert A. *Acinetobacter* Infection. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 358, n. 12, p. 1271-1281, 20 mar. 2008.
- ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L. C. Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que bla bla bla é esse? **J Infect Control, Brazil**. v. 6 n. 1, p. 16-25, jan-mar 2017.
- ARAUJO, M. L. **Genotipagem de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) em cepas de *Escherichia coli* uropatogênica isoladas de pacientes no Hospital Regional de Ceilândia**. 2017. 31 f. TCC (Graduação) – Curso de Farmácia, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- ARZANLOU, M.; CHAI, W.; VENTER, H. Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. **Essays Biochem.**, v. 61, n. 1, p.49-59, 28 fev. 2017.
- BAANG, J. H. *et al.* Longitudinal epidemiology of multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter* species in a tertiary care hospital. **Am. J. Infect. Control**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 134-137, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.04.326>. Acesso em: 17 jun. 2020.

BERG, G.; ROSKOT, N.; SMALLA, K. Genotypic and Phenotypic Relationships between Clinical and Environmental Isolates of *Stenotrophomonas Maltophilia*. **J Clin Microbiol.**, [s.l.], v. 37, n. 11, p. 3594-600, Nov. 1999.

BIGHAM, B. L. *et al.* Patient Safety in Emergency Medical Services: a systematic review of the literature. **Prehospital Emergency Care**, [S.I.], v. 16, n. 1, p. 20-35, Jan. 2012.

BIZARRA, Micheli de Ávila; BALBINO, Carlos Marcelo; SILVINO, Zenith Rosa. Segurança do paciente - o papel do enfermeiro no gerenciamento de risco focado na UTI. *Revista Pró-UniverSUS*, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 101-104, Jan./Jun 2018.

BLANCO, N.; O'HARA, L. M.; HARRIS, A. D. Transmission pathways of multidrug-resistant organisms in the hospital setting: a scoping review. **Infect Control Hosp Epidemiol**, [s. l.], v. 40, n. 4, p. 447-456, 6 mar. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6897300/>. Acesso em: 27 jun. 2020.

BONOMO, R. A; BURD, E. M; CONLY, J.; LIMBAGO, B. M; POIREL, L.; SEGRE, J.; WESTBLADE, L. F. Carbapenemase-Producing Organisms: a global scourge. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 66, n. 8, p. 1290-1297, 16 out. 2017. Oxford University Press (OUP).

BRADFORD, P. A. Extended-spectrum B-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. **Clin. Microbiol. Rev.** 14(4): 933-951, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Distrito Federal - 2012 até dezembro de 2019. **Infecções relacionadas à assistência à saúde - IRAS**, [S. l.], p. 1-26, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Brasília, Anvisa, 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/3507912/Caderno+4+-+Medidas+de+Preven%C3%A7%C3%A3o+de+Infec%C3%A7%C3%A3o+Relacionada+%C3%A0+Assist%C3%A2ncia+%C3%A0+Sa%C3%BAde/a3f23dfb-2c54-4e64-881c-fccf9220c373>. Acesso em: 01 jan. 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies**/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, Anvisa, 2012. 118 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 20: Avaliação dos indicadores nacionais das IRAS e RM 2018**. Brasília, Anvisa, 2020. Disponível em: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiODkzMzNiYmQtYWWRkYi00NzRmLWI1ZGQtYjI5NGEzNjk1YTE0IiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWZjZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9>. Acesso em: 17 jun. 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde**. Brasília, Anvisa, 2017. 84 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Limpeza e desinfecção de ambulâncias**. Anvisa, 2018. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p_p_id=baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_assuntoId=12&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_conteudoId=2424&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_view=detalhamentos. Acesso em: 16 ago. 2020.

BRASIL. Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde - Ggtes. Anvisa. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (2013 – 2015)**. Brasília, Anvisa, 2013. 21 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de atenção às urgências**. Brasília, Ministério da Saúde, 2003. 228 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria N° 2616**, de 12 de maio de 1998. Brasília, 12 maio 1998. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html. Acesso em: 30 jun. 2020.

BRASIL. **Portaria N° 529**, de 01 de abril de 2013. Institui o Programa Nacional de Segurança do Paciente (PNSP). Brasília, Distrito Federal, Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt0529_01_04_2013.html. Acesso em: 21 ago. 2018.

BRASIL. Presidência da República. **Decreto N° 94.406**, de 8 de junho de 1987. Regulamenta a Lei n° 7.498, de 25 de junho de 1986, que dispõe sobre o exercício da enfermagem, e dá outras providências. Brasília, 9 jun. 1987. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1980-1989/D94406.htm#:~:text=DECRETO%20No%2094.406%2C%20DE,enfermagem%2C%20e%20d%C3%A1%20outras%20provid%C3%AAs. Acesso em: 9 jun. 2020.

BRASIL. Presidência da República. **Lei N° 7.498**, de 25 de junho de 1986. Dispõe sobre a regulamentação do exercício da enfermagem, e dá outras providências. Brasília, 26 jun. 1986. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L7498.htm#:~:text=LEI%20No%207.498%2C%20DE%2025%20DE%20JUNHO%20DE%201986.&text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20regulamenta%C3%A7%C3%A3o%20do,Art.&text=4%C2%BA%20programa%C3%A7%C3%A3o%20de%20enfermagem%20inclui%20a%20prescri%C3%A7%C3%A3o%20da%20assist%C3%AAs. Acesso em: 9 jun. 2020.

BRASIL. Presidência da República. **Lei N° 8.080**, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Brasília, 20 set. 1990. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/18080.htm#:~:text=LEI%20N%C2%BA%208.080%2C%20DE%2019%20DE%20SETEMBRO%20DE%201990.&text=Disp%C3%B5e%20sobre%20as%20condi%C3%A7%C3%B5es%20para,correspondentes%20e%20d%C3%A1%20outras%20provid%C3%AAs. Acesso em: 30 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria N° 2048**, de 5 de novembro de 2002. Brasília, 5 nov. 2002. Disponível em:

https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2002/prt2048_05_11_2002.html. Acesso em: 1 jul. 2020.

BRASIL. Tribunal de Contas da União. **Guia de governança e gestão em saúde: aplicável a secretarias e conselhos de saúde**. Brasília, TCU, Secretaria de Controle Externo da Saúde, 2018. 112 p.

BRASÍLIA. SAMU já atendeu mais de 147 mil emergências em 2020. **Agência Brasília**, Brasília, p. 1, 9 jul. 2020. Disponível em: <https://agenciabrasilia.df.gov.br/2020/07/09/samu-ja-atendeu-147-210-emergencias-em-2020/>. Acesso em: 9 jul. 2020.

BUSH, K.; BRADFORD, P. A. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n.8 a025247. 1 Aug. 2016,

BUSH, Karen. Characterization of β -Lactamases. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 33, n. 3, p. 259-263, mar 1989.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated Functional Classification of β -Lactamases. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 54, n. 3, p 969-976, mar 2010.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A Functional Classification Scheme for β -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 39, n. 6, p. 1211-1233, jun. 1995.

CAPIZZANI, C. P. da C. **Epidemiologia das infecções bacterianas em pacientes com fibrose cística envolvendo *Achromobacter* e bactérias do complexo *Burkholderia cepacia***. 2017. 89 f. Tese (Doutorado) – Curso de Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

CARLI, A. de. **Resistência a antibióticos e presença de β - lactamases de espectro expandido (ESBLs) em *Aeromonas***. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2006. 95p. Disponível em:

<https://repositorio.uces.br/xmlui/bitstream/handle/11338/783/Dissertacao%20Adriana%20de%20Carli.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 9 jun. 2020.

CARLING, P. C.; BARTLEY, J. M. Evaluating hygienic cleaning in health care settings: what you do not know can harm your patients. **American Journal of Infection Control**, [S.I.], v. 38, n.5, p. 41-50, jun. 2010.

CARVALHO-ASSEF, A. P. D.; PEREIRA, P. S.; ALBANO, R. M; BERIÃO, G. C.; CHAGAS, T. P. G.; TIMM, L. N.; DA SILVA, R. C. FALCI, D. R.; ASENSI, M. D. Isolation of NDM-producing *providencia rettgeri* in Brazil. **J Antimicrob Chemother**, v. 68, n.12, p.2956–2957, 2013.

CAVALCANTE, E. F. de O.; PEREIRA, I. R. B. de O.; LEITE, M. J. V. de F.; SANTOS, A. M. D.; CAVALCANTE, C. A. A. Implementação dos núcleos de segurança do paciente e as infecções relacionadas à assistência à saúde. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, [S.I.], v. 40, p. 1-10, 2019.

CAYÔ, R. *et al.* Occurrence of IMP-1 in non-baumannii Acinetobacter clinical isolates from Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, [S.I.], v. 67, n. 5, p. 628-630, 1 maio 2018. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.000732>.

CDC. ESTADOS UNIDOS. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008**. 2008. 161 p. Atualizado em 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines-H.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2020.

CDC. **Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)**. Chicago, CDC, 2003. 241 p. Atualizado em julho de 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/environmental-guidelines-P.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2020.

CDC. **Antibiotic Resistance Threats in the United States**. Atlanta, CDC, 2019. 150 p.

CHAVES, L. D. P. *et al.* Hospital Governance, Hygiene and Cleaning: nurse management space. **Texto & contexto enferm**, [s.l.], v. 24, n.4, p.1166-1174, Nov. 2015.

CHO, C. H.; LEE, S. Comparison of clinical characteristics and antibiotic susceptibility between *Pseudomonas aeruginosa* and *P. putida* keratitis at a tertiary referral center: a retrospective study. **BMC Ophthalmology**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 1-7, Aug. 2018.

CHOI, J. *et al.* Acinetobacter species isolates from a range of environments: species survey and observations of antimicrobial resistance. **Diagn Micr Infec Dis**, [s.l.], v. 74, n. 2, p. 177-180, out. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.023>.

CHOI, J. *et al.* Acinetobacter species isolates from a range of environments: species survey and observations of antimicrobial resistance. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 177-180, out. 2012.

CHOI, J. *et al.* Acinetobacter species isolates from a range of environments: species survey and observations of antimicrobial resistance. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 177-180, out. 2012.

COFEN (BAHIA). COREN. **PARECER COREN – BA Nº 034/2013**, de 08 de outubro de 2013. Bahia, 8 out. 2013. Disponível em: http://ba.corens.portalcofen.gov.br/parecer-coren-ba-0342013_8143.html. Acesso em: 25 jun. 2020.

COFEN (MS). Conselho Regional de Enfermagem de Mato Grosso do Sul. **PARECER TÉCNICO N. 11/2017**, de 27 de julho de 2017. [S. l.], 2017. Disponível em: <http://ms.corens.portalcofen.gov.br/wp-content/uploads/2019/02/parecer-11-limpeza-e-desinfeccao-de-superficies.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2020.

COFEN (Roraima). Conselho Regional de Enfermagem de Roraima. **PARECER TÉCNICO Nº 03/2019**, de 30 de outubro de 2019. Limpeza e desinfecção das ambulâncias hospitalares por técnicos e auxiliares de enfermagem. [S. l.], 2019. Disponível em:

<http://www.corenrr.com.br/wp-content/uploads/2019/11/Parecer-T%C3%A9cnico-03-2019-limpeza-e-desinfec%C3%A7%C3%A3o-de-ambul%C3%A2ncias-2.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2020.

COFEN. **RESOLUÇÃO COFEN Nº 633/2020**, de 24 de março de 2020. Normatiza, “ad referendum” do Plenário do COFEN, até ulterior decisão, a atuação dos profissionais de enfermagem no Atendimento Pré-hospitalar (APH) móvel Terrestre e Aquaviário, quer seja na assistência direta e na Central de Regulação das Urgências (CRU). Brasília, 24 mar. 2020. Disponível em: http://www.cofen.gov.br/resolucao-cofen-no-0633-2020_78203.html. Acesso em: 25 jun. 2020.

COSTA, D. M. *et al.* Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: epidemiology and potential impacts. **Letters in Applied Microbiology**, [S.I.], v. 68, n.4, p. 269-276, Mar. 2019.

COWARD, A.; KENNA, D. T. D.; PERRY, C.; MARTIN, K.; DOUMITH, M.; TURTON, J. F. Use of *nrdA* gene sequence clustering to estimate the prevalence of different *Achromobacter* species among Cystic Fibrosis patients in the UK. **J Cyst Fibros**, [s.l.], v. 15, n.4, p. 479-485, Jul. 2016.

D’COSTA, V. M. *et al.* Antibiotic resistance is ancient. **Nature**, v. 477, n. 7365, p.457-461, Aug. 2011.

D’COSTA, V. M.; KING, C. E.; KALAN, L.; MORAR, M.; SUNG, W. W. L.; SCHWARZ, C.; FROESE, D.; ZAZULA, G.; CALMELS, F.; DEBRUYNE, R. Antibiotic resistance is ancient. **Nature**, [S.I.], v. 477, n.7365, p. 457-461, Aug. 2011.

DALBEN, Mf *et al.* Colonization pressure as a risk factor for colonization by multiresistant *Acinetobacter* spp and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. **Clinics**, [S.I.], v. 68, n. 8, p. 1128-1133, Aug. 2013.

ENSP. Enfermagem requer melhores condições de trabalho. **Informe ENSP**, Rio de Janeiro, p. 1, mai. 2015. Disponível em: <http://www.ensp.fiocruz.br/portal-ensp/informe/site/materia/detalhe/37688>. Acesso em: 2 jul. 2020.

ESSACK, S. Y. The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. **Pharm. Res.**, v. 18, n. 10, p. 1391–1399, 2001.

EUCAST/BRCAS. **Orientações do EUCAST para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica**: versão 2.0. [S.I.], Brcast, 2017. Versão para o Português, setembro de 2018.

EUCAST/BRCAS. **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos**. Rio de Janeiro, Brcast, 2020. Este documento, exceto onde indicado, é baseado nos pontos de corte da versão 10.0, 2020 do EUCAST (www.eucast.org) – Versão válida a partir de 01-05-2020.

EUCAST/BRCAS. **Teste sensibilidade aos antimicrobianos**: método de disco-difusão EUCAST versão 6.0. Rio de Janeiro, Brcast, 2017. Versão para português válida a partir de 01/08/2018.

FALAGAS, M. E.; RAFAILIDIS, P. I. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: no longer a controversial issue. **Critical Care**, [s. l.], v. 134, n.11, p. 1-3, 2007.

FARIA JUNIOR, C. de. **Caracterização de cepas de Enterobacteriaceae resistentes a carbapenems isoladas no Distrito Federal**. 2014. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

FARIÑAS, M. C.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, [s.l.], v. 31, n. 6, p. 402-409, jun. 2013.

FASSINI, Patricia; HAHN, Giselda Veronice. RISCOS À SEGURANÇA DO PACIENTE EM UNIDADE DE INTERNAÇÃO HOSPITALAR: CONCEPÇÕES DA EQUIPE DE ENFERMAGEM. **Rev Enferm Ufsm**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 290-299, mai. 2012.

FISHBAIN, J.; PELEG, A. Y. Treatment of *Acinetobacter* Infections. **Clin Infect Dis**, [s.l.], v. 51, n. 1, p. 79-84, Jul. 2010.

FLAGAS, Matthew E, et al. Attributable mortality of *Stenotrophomonas maltophilia* infections: a systematic review of the literature. **Future Microbiol.**, v. 9, n. 4, p. 1103–1109, 2009.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. **Br. J. Exp. Pathol.**, v. 10, n. 3, p. 226–236, 1929.

FLORES, C. et al. Detection of antimicrobial resistance genes in betalactamase- and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* by patient surveillance cultures at an intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.I.], v. 52, n. 5, p. 284-292, 2016.

FURLAN, J. P. R. et al. Characterization of Acquired Antimicrobial Resistance Genes in Environmental *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates from Brazil. **Microbial Drug Resistance**, [S.L.], v. 25, n. 4, p. 475-479, maio 2019.

GALTELLI, Mark; DESCHAMP, Clyde; ROGERS, Jason. An assessment of the prevalence of pathogenic microorganisms in the rotor wing air ambulance: One program's findings. **Air Med J**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.81-84, mar. 2006.

GAUTAM, V. et al. MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging tool for unequivocal identification of non-fermenting Gram-negative bacilli. **Indian J Med Res**, [S.I.], v. 5, n. 145, p. 665-672, May 2017.

HU, P. et al. Molecular epidemiology, resistance, and virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* cross-colonization clonal isolates in the non-outbreak setting. **Infect. Genet. Evol.**, [s.l.], v. 55, p. 288-296, Nov. 2017.

IACONIS, J. P.; SANDERS, C. C. Purification and characterization of inducible beta-lactamases in *Aeromonas* spp. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 34, n.1, p.44-51, Jan. 1990.

IACONIS, J. P.; SANDERS, C. C. Purification and characterization of inducible beta-lactamases in *Aeromonas* spp. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 34, n. 1, p.44-51, Jan. 1990.

ISHII, Y. *et al.* Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. **Antimicrob Agents Chemother.** [s. l.], v. 39, n. 10, p. 2269-2275, Oct. 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC162928/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

KARIM, A.; POIREL, L.; NAGARAJAN, S.; NORDMANN, P. Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. **FEMS Microbiol Lett**, v. 201 n. 2, p. 237 – 241. 2001.

KANG, D. *et al.* Early Surgery versus Conventional Treatment for Infective Endocarditis. **New England Journal of Medicine**, [S.L.], v. 366, n. 26, p. 2466-2473, 28 jun. 2012.

KNOTHE, H. *et al.* Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. **Infection**, v. 11, n. 6, p. 315-317, 1983.

LABORCLIN. PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS (Paraná). **ÁGAR ESBL CROMOGÊNICO**. Pinhais, [S.I.], 2019. 6p.

LEMMEN, S. W.; HÄFNER, H.; ZOLLDMANN, D.; AMEDICK, G.; LÜTTICKEN, R. Comparison of two sampling methods for the detection of gram-positive and gram-negative bacteria in the environment: moistened swabs versus Rodac plates. **Int J Hyg Environ Health.** [s. l.], v. 203, n. 3, p. 245-248, mar. 2001.

LEMONS, M. C. *et al.* *Stenotrophomonas maltophilia* isolates in a tertiary care hospital in Northeastern Brazil. **Braz. J. Hea. Rev.**, Curitiba, v. 2, n. 4, p. 3373-3384, Jul.- Aug. 2019.

LENGRUBER, I. M. de O. **Perfil de genes de esbl em bacilos gram negativos resistentes a ceftriaxona isolados de água residual de ambiente hospitalar**. 2019. 46 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

LOMBARDI, G. *et al.* Nosocomial Infections Caused by Multidrug-Resistant Isolates of *Pseudomonas putida* Producing VIM-1 Metallo-β-Lactamase. **Clin. Microbiol. Infect.** [s.l.], v. 40, n. 11, p. 4051-4055, Nov. 2002.

LUPO, A.; HAENNI, M.; MADEC, J. Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp. **MBio.** [s.l.], v. 6, n. 3, p. 1-16, Jun. 2018.

- LUPO, A.; HAENNI, M.; MADEC, J. Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp. **Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals**, [S.L.], p. 377-393, Oct. 2018.
- MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.I.], v. 18, n. 3, p. 268-281, Mar. 2012.
- MARAVIĆ, A. *et al.* Characterization of Environmental CTX-M-15-Producing *Stenotrophomonas maltophilia*. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 58, n. 10, p. 6333-6334, Aug. 2014.
- MEDEIROS, A. A. β -lactamases. **Br. Med. Bull.**, v. 40, p.18-27, 1984.
- MEDEIROS, A. B. de A.; ENDERS, B. C.; LIRA, A. L. B. de C. Teoria Ambientalista de Florence Nightingale: Uma Análise Crítica. **Esc Anna Nery**, [s. l.], v. 19, n.3, p. 518-524, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/ean/v19n3/1414-8145-ean-19-03-0518.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2020.
- MIRZA, I. A. *et al.* Ambu Bag as a Source of *Acinetobacter baumannii* Outbreak in an Intensive Care Unit. **J Coll Physicians Surg Pak**, Paquistão, v. 21, n.3, p.176-178, 2011.
- MORADIGARAVAND, D. *et al.* Evolution and Epidemiology of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United Kingdom and Ireland. **Mbio.**, v. 8, n. 1, Feb. 2017.
- NAIEMI, N. AI; DUIM, B.; BART, A. A CTX-M extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. **Journal of Medical Microbiology**, [S.L.], v. 55, n.11, p. 1607-1608, Nov. 2006.
- NICOLETTI, G.; RUSSO, G.; BONFIGLIO, G. Recent developments in carbapenems. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 11, n. 4, p.529-544, Apr. 2002.
- NOH, H. *et al.* Risk Stratification-based Surveillance of Bacterial Contamination in Metropolitan Ambulances. **Journal of Korean Medical Science**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 124-130, 2011.
- NORDMANN, P.; DORTET, L.; POIREL, L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! **Trends Mol Med**, v. 18, n. 5, p.263-272, maio 2012.
- NOWAK, P; PALUCHOWSKA, P. *Acinetobacter baumannii*: Biology and drug resistance — role of carbapenemases. **Folia Histochem. Cytobiol.**, v. 54, n. 2, p. 61–74, 2016.
- ODONE, Anna *et al.* Risk Management in healthcare: results from a national-level survey and scientometric analysis in Italy. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*, [S.L.], v. 90, n. 9-, p. 76-86, 13 set. 2019. Mattioli 1885 srl. <http://dx.doi.org/10.23750/abm.v90i9-S.8164>.
- OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S.; RIBEIRO, S. M. C. P. Infecções relacionadas à assistência em saúde: desafios para a prevenção e controle. **Rev. Min. Enferm.** v. 13 n.3, p. 445-450, jul.-set. 2009. Disponível em: <https://cdn.publisher.gn1.link/remo.org.br/pdf/v13n3a18.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2020.

OLIVEIRA, Pâmela Maria de. **Caracterização molecular de isolados de *Klebsiella Pneumoniae* resistentes a carbapenem recuperados de estações de tratamento de esgoto no Distrito Federal, Brasil.** 2020. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Biologia Microbiana, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

PAVEZ, M.; MAMIZUKA, E. M.; LINCOPAN, N. Early dissemination of KPC-2- producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 53, n.6, p. 2702, 2009.

PELEG, A. Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 21, n.3, p. 538-582, Jul. 2008.

PITTET, D.; DONALDSON, L. **Clean Care is Safer Care: The First Global Challenge of the WHO World Alliance for Patient Safety.** **Infect. Control Hosp. Epidemiol**, v. 26, n.11, p. 891-895, Nov. 2005. Disponível em: https://www.who.int/patientsafety/information_centre/ICHE_Nov_05_CleanCare_1.pdf. Acesso em: 18 jun. 2020.

PONCE-DE-LEON, A. et al. Antimicrobial susceptibility of gram-negative bacilli isolated from intra-abdominal and urinary tract infections in Mexico from 2009 to 2015: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). **PloS one**, v. 13, n.6, p. e0198621, 2018.

PROCOP, G. W. *et al.* **Koneman Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas.** 7. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2018. 1446 p.

QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 20, n. 3, p. 440–458, 2007.

QUEIROZ, M. L. P. **Caracterização de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBLs), genes de resistência aos antimicrobianos e conteúdo plasmidial em cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* não tifóides isoladas do ambiente hospitalar e da comunidade.** Orientador: Vania Lucia Cerreira Merquior. 2012. 131 p. Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

RANAELI, M. Ali *et al.* Prevalence of the blaCTX-M and antibiotic resistance pattern among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* isolated from Zahedan, Southeast Iran. **Gene Reports**, [S.L.], v. 19, p. 1-6, jun. 2020.

ROESCH, E. W. **Importância da pressão de colonização bacteriana e da pressão seletiva do uso de antimicrobianos na aquisição de isolados de *Acinetobacter Baumannii* multirresistente em unidades de terapia intensiva.** 2017. 118 f. Tese (Doutorado) – Curso de Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/179766>. Acesso em: 24 ago. 2020.

ROOKE, J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 2-41, Jan. 2012.

- RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. Monitoring and improving the effectiveness of surface cleaning and disinfection. **American Journal of Infection Control**, [S.L.], v. 44, n.5, p.69-76, May 2016.
- SAMPIERI, R. H.; COLLADO, C. F.; LUCIO, M. del P. B. **Metodologia de Pesquisa**. 5. ed. Porto Alegre, Penso, 2013.
- SANCHEZ, M. B.; HERNANDEZ, A.; MARTINEZ, J. L. Stenotrophomonas maltophilia drug resistance. **Future Microbiol.**, v. 4, n.6, p.655-660, Aug. 2009.
- SANTOS, A. F. et al. Evaluation of MALDI-TOF MS in the microbiology laboratory. **J Bras Patol Med Lab**, [S.I.], v. 49, n.3, p. 191-197, Jun. 2013.
- SANTOS-JUNIOR, A. G. et al. Effectiveness of Surface Cleaning and Disinfection in a Brazilian Healthcare Facility. **Open Nurs. J.**, [s.l.], v. 12, n.1, p.36-44, Mar. 2018.
- SCHAFFER, K. Epidemiology of infection and current guidelines for infection prevention in cystic fibrosis patients. **Journal of Hospital Infection**, [s. l.], v. 89, n.4, p. 309-313, Apr. 2015.
- SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE (Brasília). SAMU. **Produção do Serviço de Atendimento Móvel de Urgência - SAMU processada pelo Sistema de Informações Ambulatoriais SIA/SUS**. Brasília, 26 jul. 2020. Disponível em: <http://info.saude.df.gov.br/area-tecnica/producao-de-servicos-samu/>. Acesso em: 26 jul. 2020.
- SILVA, K. C. da; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 48, n.2, p. 91-99, Apr. 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442012000200004&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 jun. 2020.
- SILVA, K. C. da; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **J Bras Patol Med Lab**, [S.I.], v. 48, n. 2, p. 91-99, Apr. 2012.
- SILVA, L. *et al.* Uncommon carbapenemase-encoding plasmids in the clinically emergent *Acinetobacter pittii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.I.], v. 73, n.1, p. 52-56, Oct. 2017.
- SIMAN, A. G.; BRITO, M. J. M. Mudanças na prática de enfermagem para melhorar a segurança do paciente. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, [S.I.], v. 37, p. 1-9, 2016.
- SOUSA, Valmi D.; DRIESSNACK, Martha; MENDES, Isabel Amélia Costa. REVISÃO DOS DESENHOS DE PESQUISA RELEVANTES PARA ENFERMAGEM. PARTE 1: DESENHOS DE PESQUISA QUANTITATIVA. *Rev Latino-Am Enfermagem*, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 1-7, maio-jun. 2007.
- SOZZI, J. S. R. *et al.* Pesquisa de bactérias patogênicas em superfícies e equipamentos de ambulâncias. **Revista Médica de Minas Gerais**, [S.I.], p.1-7, 2019.

SWENSON, C. E.; SADIKOT, R. T. Achromobacter Respiratory Infections. **Ann Am Thorac Soc**, [s.l.], v. 12, n.2, p. 252-258, Feb. 2015.

TAN, G. *et al.* Risk factors and antimicrobial resistance profiles of Pseudomonas putida infection in Central China, 2010–2017. **Medicine**, [s.l.], v. 98, n. 44, p. 1-7, Nov. 2019.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre, Artmed, 2017.

VALLE, A. R. M. da C. *et al.* Representações sociais da biossegurança por profissionais de enfermagem de um serviço de emergência. **Escola Anna Nery**, [S.I.], v. 12, n. 2, p. 304-309, jun. 2008.

VAN LOON, K.; HOLT, VOOR IN 'T, A. F.; VOS, Margreet C. A Systematic Review and Meta-analyses of the Clinical Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae **Antimicrob. Agents Chemother**, [s.l.], v. 62, n. 1, p. 1-18, Oct. 2017.

VASOO, S., BARRETO, J. N.; TOSH, P. K. Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician. **Mayo Clin Proc.**, v. 90, n.3, p.395-403, 2015.

VIEIRA, P. B.; PICOLI, S.U. Acinetobacter baumannii Multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos. **Rev. bras. ciênc. saúde.**, v. 19, n. 2, p. 151– 156, 2015.

WARDE, E.; DAVIES, E.; WARD, A. Control of a multidrug-resistant Acinetobacter baumannii outbreak. **British Journal of Nursing**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 242-248, 28 fev. 2019.

WHO. World Health Organization. Who. **World Alliance for Patient Safety: global patient safety challenge 2005-2006/world alliance for patient safety**. Genebra, WHO, 2005. 35 p. Disponível em: https://www.who.int/patientsafety/events/05/GPSC_Launch_ENGLISH_FINAL.pdf?ua=1. Acesso em: 20 jun. 2020.

WHO. World Health Organization. **Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: early implementation 2020**. Genebra, WHO, 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332081/9789240005587-eng.pdf?ua=1>. Acesso em: 17 jun. 2020.

WHO. World Health Organization. **The First Global Patient Safety Challenge: "Clean Care is Safer Care"**. Genebra, WHO, 200-. Disponível em: [https://www.who.int/gpsc/clean_care_is_safer_care/en/#:~:text=International%20launch%20of%20the%20First,Advanced%20Draft\)%20were%20made%20available](https://www.who.int/gpsc/clean_care_is_safer_care/en/#:~:text=International%20launch%20of%20the%20First,Advanced%20Draft)%20were%20made%20available). Acesso em: 18 jun. 2020.

YABUUCHI, E.; YANO, I. Achromobacter gen. nov. and Achromobacter xylosoxidans (ex Yabuuchi and Ohyama 1971) nom. rev. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, [s.l.], v. 31, n. 4, p. 477-478, 1 out. 1981.

YAKUPOGULLARI, Y. *et al.* Is airborne transmission of *Acinetobacter baumannii* possible: A prospective molecular epidemiologic study in a tertiary care hospital. **Am. J. Infect. Control**, [s. l.], v. 44, n. 12, p. 1595-1599, 2016.

ZAGO, M.C.B. *et al.* First report of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* in Brazil. **Journal of Hospital Infection**, [S.L.], v. 92, n. 3, p. 298-299, mar. 2016.

ZANDER, E. *et al.* Characterization of blaOXA-143 Variants in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter pittii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.I.], v. 58, n. 5, p. 2704-2708, 24 fev. 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Instrumento de Coleta de Dados

Data: ____/____/____ Local da Coleta: () Serviço Público () Serviço Privado
Qual Base? _____ Placa da Ambulância: _____
Responsável pela aplicação do instrumento: _____
Responsável pela coleta microbiológica: _____
A ambulância foi coletada? () Sim () Não
Se não, por qual motivo? _____
Quem foi o responsável pela higienização da ambulância? _____
Sexo do responsável pela higienização: () Feminino () Masculino
Hora da coleta da amostra: _____
Itens coletados: () Colchão () Grades () Alças () Traçado
Houve transporte de paciente antes da coleta? () Sim () Não
Motivo da saída da ambulância da base: () Atendimento () Remoção/Transferência
Paciente foi transportado de onde para onde? _____
Há relato de o paciente ser colonizado (precaução)? () Sim () Não
Se sim qual? () Contato () Aerossol () Gotícula
Qual o germe da identificado? _____
Houve limpeza ou desinfecção da unidade? () Sim () Não

Qual a técnica/produto utilizado? (Se houver protocolo na instituição, considerar que foi aplicado a técnica do protocolo).

Houve realização de procedimentos invasivos na unidade (IOT, Sondagem Vesical, Aspiração, Drenagem de Tórax, SNG, Sutura, Punção)? () Sim () Não
Se sim qual(is)?

Tabela de Inspeção Visual

Item	Limpo	Sujo
Colchão Maca (região sacral)		
Maca - Grades de Proteção		
Maca – Alça das mãos		
Traçado		

Limpo = ausência de sujeidade

Sujo = presença de qualquer sujeidade

APÊNDICE B

Gabarito do Instrumento de Coleta de Dados

Data: ____/____/____ Local da Coleta: () Serviço Público () Serviço Privado
Qual Base Escrever qual a base da coleta (sobradinho, samambaia.....) Placa da Ambulância:
Colocar o número da placa da ambulância

Responsável pela aplicação do instrumento: O nome de quem tá preenchendo

Responsável pela coleta microbiológica: O nome que passou o SWAB

A ambulância foi coletada? () Sim () Não

Se não, por qual motivo? Maca retida, ambulância mudou perfil.....

Quem foi o responsável pela higienização da ambulância? Cargo de quem fez (enfermeiro, técnico em enfermagem, socorrista, médico) Se não foi feita por “NF”

Sexo do responsável pela higienização: () Feminino () Masculino

Hora da coleta da amostra: Hora em que você conseguiu aplicar o instrumento

Itens coletados: () Colchão () Grades () Alças

Houve transporte de paciente antes da coleta? () Sim () Não

Motivo da saída da ambulância da base: () Atendimento - quando saiu para uma chamado de urgência ou emergência () Remoção/Transferência – quando saiu para transferir um paciente de lugar a outro (consulta, transferência de hospital, etc.)

Paciente foi transportado de onde pra onde? Casa p/ hospital, casa p/ clínica, hospital p/ hospital, hospital p/ casa.

Há relato de o paciente ser colonizado (precaução)? () Sim () Não

Se sim qual? () Contato () Aerossol () Gotícula

Qual o germe da identificado? Escrever o nome descrito pela equipe (KPC, Pseudomonas, e. coli, etc.)

Houve limpeza ou desinfecção da unidade? () Sim () Não

Qual a técnica/produto utilizado?

Pedir para que descreva o que ele fez. P. ex. borrifou álcool 70% e passou um pano depois.

Ouve realização de procedimentos invasivos na unidade (IOT, Sondagem Vesical, Aspiração, Drenagem de Tórax, SNG, Sutura, Punção)? () Sim () Não

Se sim qual(is)?

Considerar apenas se o procedimento foi feito em cima da maca.

Tabela de Inspeção Visual

Item	Limpo	Sujo
Colchão Maca (região sacral)		
Maca - Grades de Proteção		
Maca – Alça das mãos		
Traçado		

Limpo = ausência de sujidade

Sujo = presença de qualquer sujidade

APÊNDICE C

Checklist da Equipe de Coleta de Dados

Ação	Check
Preparar a caixa de isopor	
Chegar à base as 07:00 ou às 18:00 horas	
Se apresentar ao responsável pela base	
Procurar/esperar o enfermeiro responsável pela unidade	
Explicar o procedimento de coleta	
Pedir a participação na pesquisa	
Coletar assinatura do TCLE	
Aplicar o questionário	
Coletar as amostras com os <i>Swabs</i>	
Identificar os <i>Swabs</i> com o nº da placa da ambulância, local da base e local da coleta (Alça, Grade, Colchão, Traçado)	
Acondicionar os <i>swabs</i> identificados no isopor	
Transportar/guardar os <i>swabs</i> até a entrega na FCE.	

*Pedir para o enfermeiro acompanhar a coleta dos *swabs*.

Critérios de exclusão

- Ambulância que teve a maca retida no hospital
- Ambulância que estava como unidade intermediária
- Ambulância que mudou de carro, isto é, que a unidade está ativa em um carro com placa diferente ao do primeiro dia da coleta.
- Excluir se unidade mudou de perfil (avança/intermediária) entre os dias da coleta.
- Excluir quem se recusar a assinar o TCLE.

Orientações Gerais

- Reforce o sigilo dos dados
- Seja cortês e cordial

- Informe que a coleta demora em torno de 5 minutos para ser completada
- Pergunte em “tom de amizade” sobre a realização da limpeza/desinfecção. Sugestão: “E aí, deu para fazer alguma medida de limpeza e desinfecção da unidade”
- Se questionado, apresentar o objetivo do estudo.
- Ligue para o Bruno em caso de dúvidas durante a coleta: 99130-XXXX.

Objetivo da Pesquisa

Identificar cepas de bactérias gram-negativas resistentes a carbapenem isoladas de macas de ambulâncias de suporte avançado de vida, em um serviço público e um privado.

APÊNDICE D



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciência da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Enfermagem

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Convidamos o (a) Senhor(a) a participar do projeto de pesquisa Efetividade da limpeza e desinfecção de ambulâncias de suporte avançado de vida, sob a responsabilidade do pesquisador Bruno Côrte Santana. O projeto faz parte das exigências do Programa de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade de Brasília.

O objetivo desta pesquisa é analisar a efetividade da limpeza e desinfecção de superfícies altamente tocadas, em ambulâncias de suporte avançado de vida do Distrito Federal.

O (a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio da resposta de algumas perguntas sobre a realização da Limpeza e Desinfecção na ambulância onde você trabalha, em quatro momentos do dia, em que você chegar no local onde a sua ambulância fica baseada esperando um novo atendimento, com um tempo estimado de 5 minutos cada vez que você tiver que responder as perguntas.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são de constrangimento, uma vez que algumas informações sobre a limpeza e desinfecção da ambulância e do tipo de atendimento realizado serão perguntadas ao enfermeiro da ambulância, para garantir que nenhum constrangimento ocorra, a perguntas ocorrerão em particular e em local reservado de outras pessoas. Se você aceitar participar, estará contribuindo para que se possa ter conhecimento sobre qual a efetividade da limpeza e desinfecção realizada e conhecimento da microbiota da sua unidade, de maneira que se possa, no futuro, se necessário, propor medidas que melhoram a limpeza e desinfecção das ambulâncias de forma a reduzir o risco os profissionais e pacientes que transitam na ambulância.

O (a) Senhor (a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o (a) senhor (a).

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo durante as perguntas a serem respondidas ou durante a coleta de amostras na ambulância. Também não há compensação financeira relacionada a sua participação, que será voluntária. Se existir qualquer despesa adicional relacionada diretamente à pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) a mesma será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você deverá buscar ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o (a) Senhor (a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para Bruno Côrte Santana, na Universidade de Brasília no telefone (61) 99130-XXXX, disponível inclusive para ligação a cobrar ou entre em contato por e-mail: bruno.cortesantana@gmail.com.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ceilândia (CEP/FCE) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes

áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa, podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-8434 ou do e-mail cep.fce@gmail.com, horário de atendimento das 14h:00 às 18h:00, de segunda a sexta-feira. O CEP/FCE se localiza na Faculdade de Ceilândia, Sala AT07/66 – Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED) – Universidade de Brasília - Centro Metropolitano, conjunto A, lote 01, Brasília – DF. CEP: 72220-900.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FEPECS-SES/DF. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa, podem ser obtidos através do telefone: (61) 2017 2132 ramal 6878 ou e-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com.

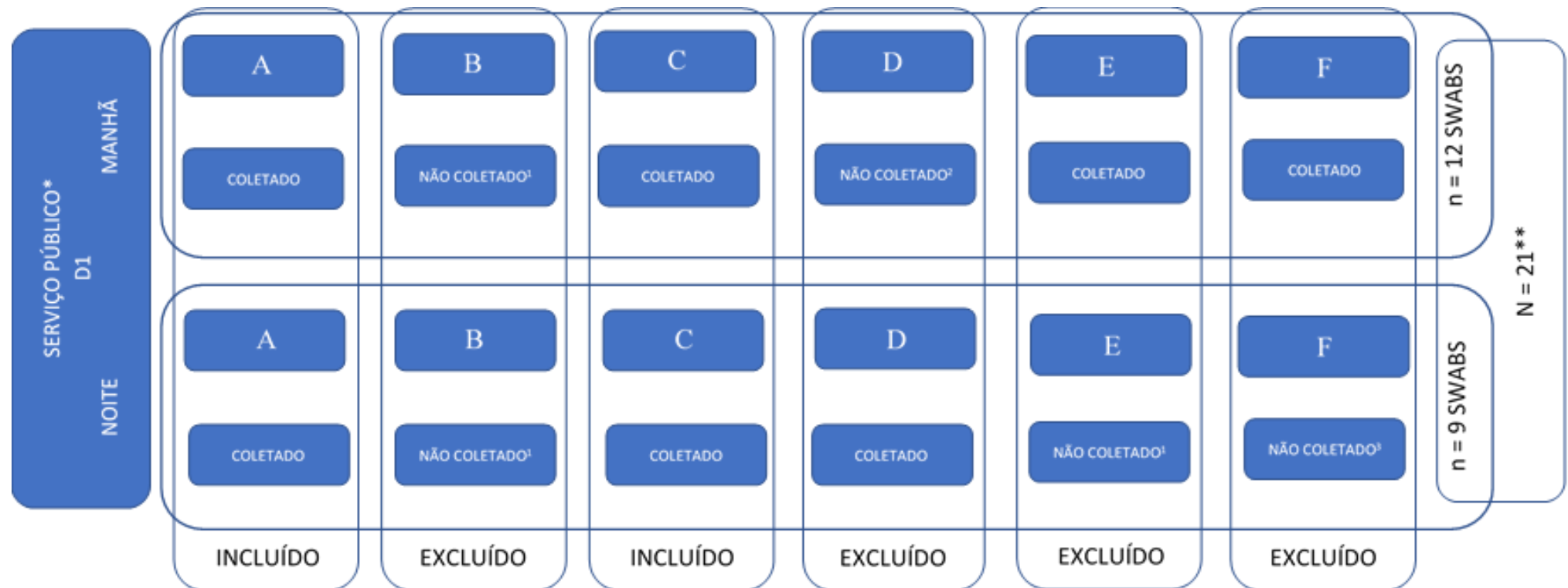
Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor (a).

Nome / assinatura do Participante da Pesquisa

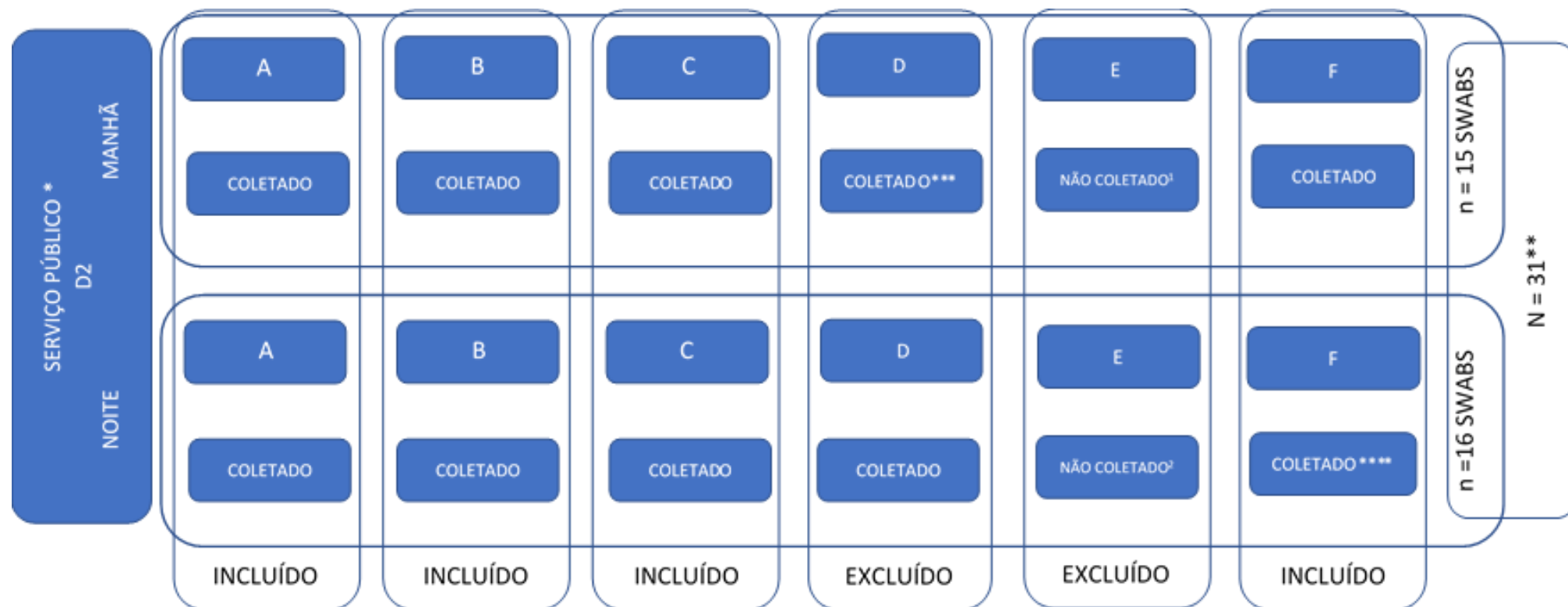
Bruno Côrte Santana
Pesquisador Responsável/Nome e assinatura

Brasília, _____ de _____ de _____.

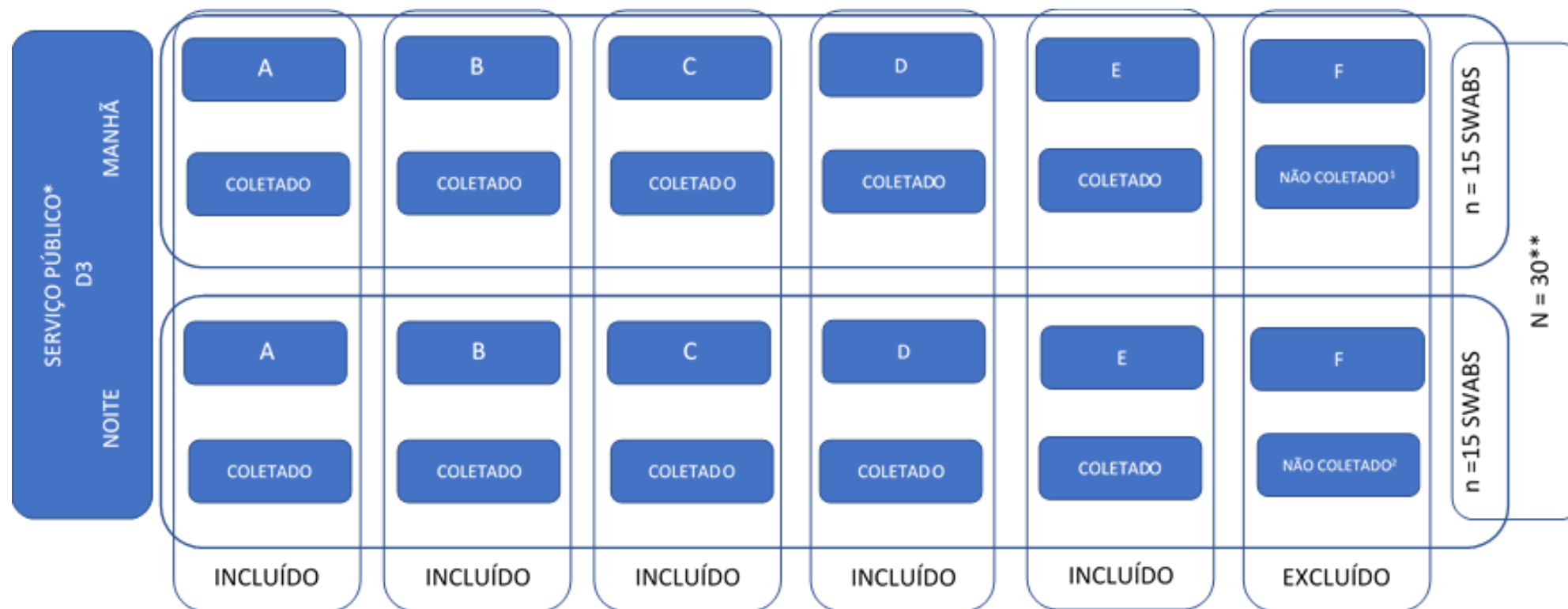
APÊNDICE E



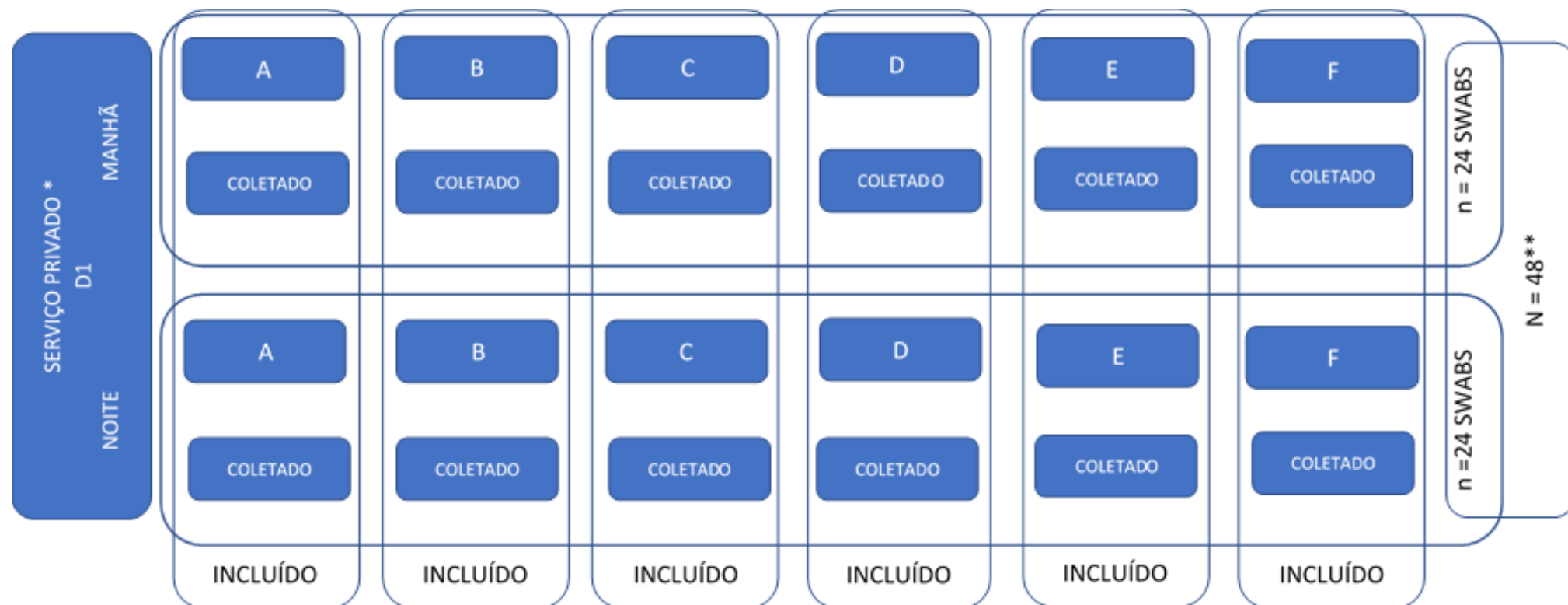
¹Excluído, pois a unidade não estava na base no momento da coleta; ²Excluído, pois a maca estava retida; ³Excluído, pois a não estava como unidade avançada. *Cada cidade conta com apenas 1 ambulância avançada; **Todas as amostras coletadas foram analisadas. As amostras que se enquadraram nos critérios de exclusão do ponto de vista microbiológico só foram excluídas posteriormente.



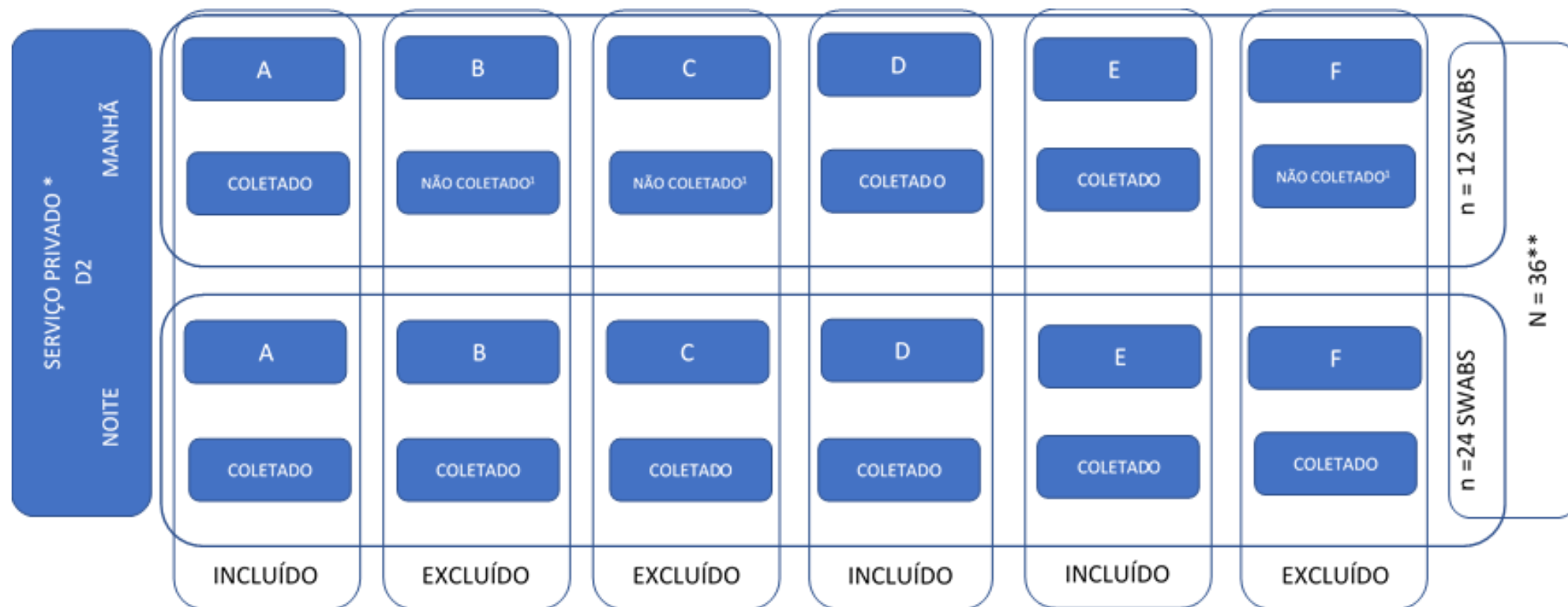
¹Excluído, pois a maca estava retida; ²Excluído, pois a maca não estava na ambulância. *Cada cidade conta com apenas 1 ambulância avançada; **Todas as amostras coletadas foram analisadas. As amostras que se enquadraram nos critérios de exclusão do ponto de vista microbiológico só foram excluídas posteriormente. ***Foi excluído, pois a ambulância coletada pela manhã não foi a mesma coletada nos outros dias; ****Foi coletado 1 SWAB repetido da maca.



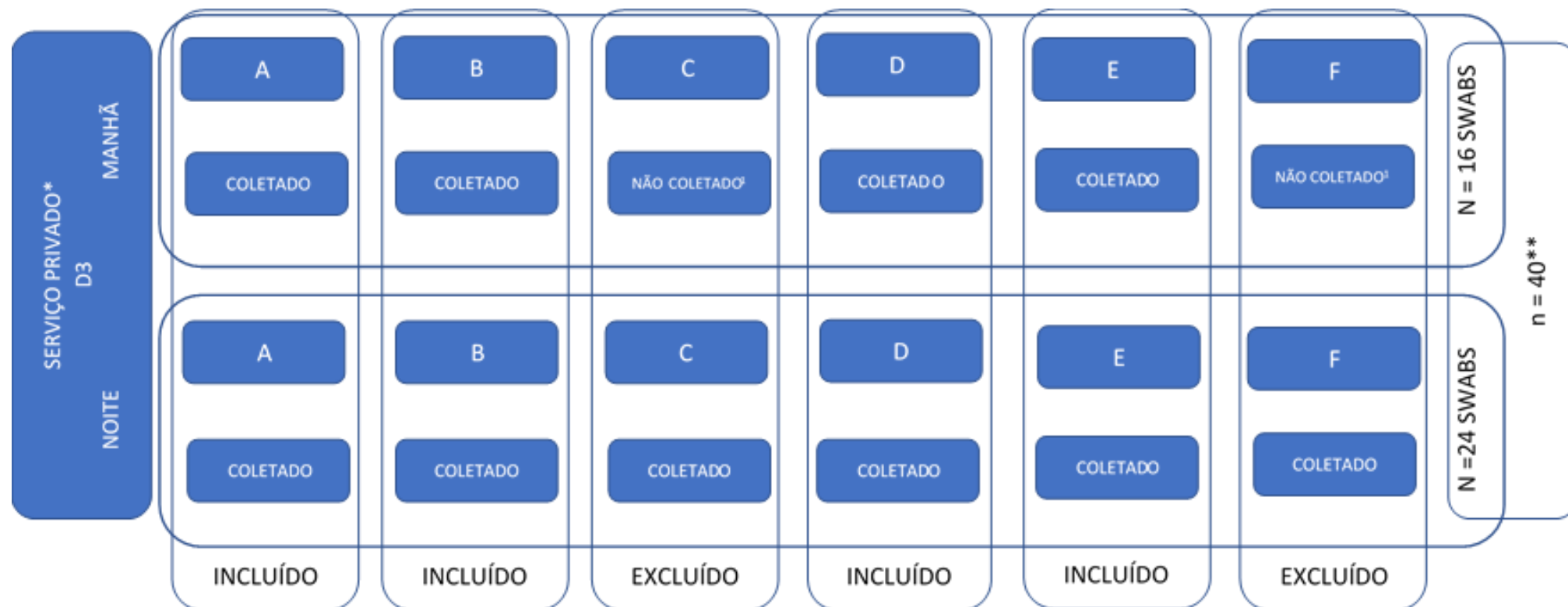
¹Excluído, pois a maca estava retida; ²Excluído, pois não era avançada. *Cada cidade conta com apenas 1 ambulância avançada; **Todas as amostras coletadas foram analisadas. As amostras que se enquadraram nos critérios de exclusão do ponto de vista microbiológico só foram excluídas posteriormente.



*Uma única base que conta com 6 unidades avançadas; **Todas as amostras coletadas foram analisadas. As amostras que se enquadraram nos critérios de exclusão do ponto de vista microbiológico só foram excluídas posteriormente.



¹Excluído, pois a ambulância não estava na base; *Uma única base que conta com 6 unidades avançadas; **Todas as amostras coletadas foram analisadas. As amostras que se enquadraram nos critérios de exclusão do ponto de vista microbiológico só foram excluídas posteriormente.



¹Excluído, pois a ambulância não estava na base; *Uma única base que conta com 6 unidades avançadas; **Todas as amostras coletadas foram analisadas. As amostras que se enquadraram nos critérios de exclusão do ponto de vista microbiológico só foram excluídas posteriormente.

ANEXOS

ANEXO A

UNB - FACULDADE DE
CEILÂNDIA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efetividade da limpeza e desinfecção de ambulâncias de suporte avançado de vida.

Pesquisador: Bruno Côrte Santana

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 02140518.7.0000.8093

Instituição Proponente: Faculdade de Ceilândia - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.091.400

Apresentação do Projeto:

Introdução: A preocupação com o controle de infecções é presente no ambiente hospitalar há mais de trinta anos, entretanto em ambulâncias essa preocupação é pouco exposta na literatura. Organizações nacionais e internacionais tem demonstrado preocupação em controlar a disseminação de infecções e de germes multirresistentes, e tem proposto a necessidade de se avaliar a efetividade desse controle assim como de formular conhecimento a respeito. **Objetivo:** Analisar a efetividade da limpeza e desinfecção de superfícies altamente tocadas, em ambulâncias de suporte avançado de vida do Distrito Federal. **Material e Métodos:** Estudo prospectivo de abordagem quantitativa, a ser desenvolvido no período de um ano, em um serviço público e um privado de ambulâncias de suporte avançado de vida do Distrito Federal. Com entrevista de enfermeiros e análise da efetividade da limpeza e desinfecção. Para entrevista será utilizado um instrumento próprio. Para análise da efetividade da limpeza e desinfecção será utilizado à inspeção visual, Teste de Bioluminescência do Trifosfato de Adenosina (ATP), Cultura Microbiológica em meios adequados e Antibiograma por meio de Disco-Difusão e Crescimento Inibitório Mínimo. O banco de dados será submetido ao processo de validação por dupla digitação e, posteriormente, exportado para o Statistical Package for the Social Science – SPSS (versão 22.0), para a realização da análise estatística. ANOVA será utilizado para análise dados com distribuição normal, e Mann-Whitney para comparação entre os grupos. A significância estatística definida como erro tipo I deverá ser menor que 0,05 ($p < 0,05$).

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) **CEP:** 72.220-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 **E-mail:** cep.fce@gmail.com

Continuação do Parecer: 3.091.400

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar a efetividade da limpeza e desinfecção de superfícies altamente tocadas, em ambulâncias de suporte avançado de vida do Distrito Federal.

Objetivo Secundário:

- Identificar o protocolo institucional para limpeza e desinfecção das ambulâncias;
- Caracterizar os tipos de atendimento realizados pelas ambulâncias de suporte avançado de vida;
- Identificar a efetividade da limpeza e desinfecção das superfícies selecionadas, por meio de inspeção visual, Bioluminescência do Trifosfato de Adenosina e crescimento microbiano.
- Estimar a prevalência e quantificar as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas Aeruginosa* e de bactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) nas ambulâncias;
- Determinar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase e *Pseudomonas aeruginosa* aos antibióticos e estabelecer a prevalência desse perfil segundo a procedência das amostras.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos da pesquisa serão de constrangimento uma vez que algumas informações sobre a limpeza e desinfecção da ambulância e do tipo de atendimento realizado serão perguntadas ao enfermeiro da ambulância. Para garantir que nenhum constrangimento ocorra, a perguntas ocorrerão numa sala fechada, composta por mesa e cadeiras, onde permanecerão apenas o entrevistador e o entrevistado, será explicado ao entrevistado o conteúdo das perguntas e somente após a explicação as perguntas serão feitas. Também será ressaltado ao entrevistado a confidencialidade de sua identidade.

Benefícios:

Espera-se que o trabalho contribua para que se possa ter conhecimento sobre qual a efetividade da limpeza e desinfecção realizada em ambulâncias de suporte avançado de vida e se tenha

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) **CEP:** 72.220-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 **E-mail:** cep.fce@gmail.com

UNB - FACULDADE DE
CEILÂNDIA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.091.400

conhecimento da microbiota da ambulância, de maneira que se possa, no futuro, se necessário, propor medidas que melhoram a limpeza e desinfecção das ambulâncias de forma a reduzir o risco aos profissionais e pacientes que transitam na ambulância, na perspectiva da segurança do paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de mestrado de Bruno Cortê Santana que está sendo realizado no Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade de Brasília sob a orientação da professora Paula Regina de Souza Hermann.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos foram adequadamente apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há Pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Protocolo de pesquisa em consonância com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Cabe ressaltar que compete ao pesquisador responsável: desenvolver o projeto conforme delineado; elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento; manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa; encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1237051.pdf	14/12/2018 18:33:04		Aceito
Outros	Carta_pendencias2.pdf	14/12/2018 18:31:35	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	carta_para_encaminhamento_de_pendencias2.doc	14/12/2018 18:30:27	Bruno Côrte Santana	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final_alterado.docx	10/12/2018 22:09:22	Bruno Côrte Santana	Aceito

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) **CEP:** 72.220-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 **E-mail:** cep.fce@gmail.com

UNB - FACULDADE DE
CEILÂNDIA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.091.400

Outros	Termo_Vida.pdf	30/10/2018 12:00:02	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_responsabilidade.pdf	30/10/2018 09:43:54	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_FEPECS.pdf	30/10/2018 09:43:13	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_proponente.pdf	30/10/2018 09:42:52	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Carta.pdf	30/10/2018 09:42:20	Bruno Côrte Santana	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto.pdf	30/10/2018 09:39:10	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	curriculo_Paula.pdf	23/10/2018 21:21:07	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	curriculo_Helio.pdf	23/10/2018 21:20:54	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	curriculo_Bruno.pdf	23/10/2018 21:20:38	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Carta_CEP.doc	23/10/2018 21:14:36	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	termo_proponente.doc	23/10/2018 20:45:10	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	termo_de_concordancia_de_instituicao_coparticipante_especifico_para_secretaria_de_saude_df.doc	23/10/2018 20:41:26	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	termo_de_concordancia_de_instituicao_coparticipante.doc	23/10/2018 20:41:15	Bruno Côrte Santana	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_de_responsabilidade_e_compromisso_do_pesquisador.doc	23/10/2018 20:40:40	Bruno Côrte Santana	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_cep_SES.doc	23/10/2018 20:40:23	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	modelo_de_planilha_de_oramento.doc	23/10/2018 20:39:35	Bruno Côrte Santana	Aceito
Cronograma	Cronograma.doc	23/10/2018 20:38:47	Bruno Côrte Santana	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66
Bairro: CEILÂNDIA SUL (CEILÂNDIA) **CEP:** 72.220-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-8434 **E-mail:** cep.fce@gmail.com

UNB - FACULDADE DE
CEILÂNDIA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.091.400

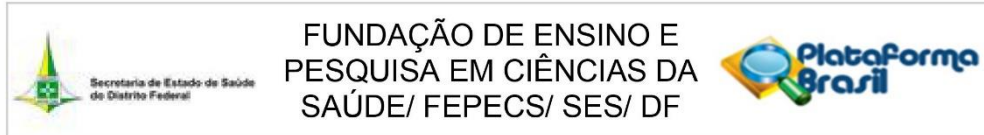
BRASILIA, 18 de Dezembro de 2018

Assinado por:
Dayani Galato
(Coordenador(a))

Endereço: UNB - Prédio da Unidade de Ensino e Docência (UED), Centro Metropolitano, conj. A, lote 01, Sala AT07/66
Bairro: CEILANDIA SUL (CEILANDIA) **CEP:** 72.220-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-8434 **E-mail:** cep.fce@gmail.com

Página 05 de 05

ANEXO B



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efetividade da limpeza e desinfecção de ambulâncias de suporte avançado de vida.

Pesquisador: Bruno Côrte Santana

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 02140518.7.3001.5553

Instituição Proponente: DISTRITO FEDERAL SECRETARIA DE SAUDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.153.400

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de mestrado do programa de pós-graduação em enfermagem da faculdade de ciências da saúde FS/UnB, tendo como objetivo analisar a efetividade da limpeza e desinfecção de superfícies altamente tocadas, em ambulâncias de suporte avançado de vida do Distrito Federal.

O projeto foi submetido ao CEP da FS/UnB e aprovado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

-Analisar a efetividade da limpeza e desinfecção de superfícies altamente tocadas, em ambulâncias de suporte avançado de vida do Distrito Federal.

Objetivos Específicos:

- Identificar o protocolo institucional para limpeza e desinfecção das ambulâncias;
- Caracterizar os tipos de atendimento realizados pelas ambulância de suporte avançado de vida;
- Identificar a efetividade da limpeza e desinfecção das superfícies selecionadas, por meio de inspeção visual, Bioluminescência do Trifosfato de Adenosina e crescimento microbiano;
- Estimar a prevalência e quantificar as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de Staphylococcus spp., Pseudomonas Aeruginosa e de de bactérias produtoras de Klebsiella pneumoniae Carbapenemase (KPC) nas ambulâncias;

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

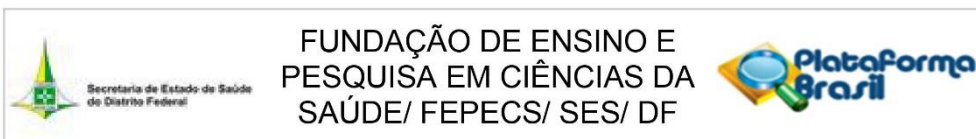
CEP: 70.710-904

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.153.400

- Determinar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase e *Pseudomonas aeruginosa* aos antibióticos e estabelecer a prevalência desse perfil segundo a procedência das amostras.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos da pesquisa serão de constrangimento uma vez que algumas informações sobre a limpeza e desinfecção da ambulância e do tipo de atendimento realizado serão perguntadas ao enfermeiro da ambulância. Para garantir que nenhum constrangimento ocorra a perguntas ocorrerão numa sala fechada, composta por mesa e cadeiras, onde permanecerão apenas o entrevistador e o entrevistado, será explicado ao entrevistado o conteúdo das perguntas e somente após a explicação as perguntas serão feitas. Também será ressaltado ao entrevistado a confidencialidade de sua identidade.

Benefícios:

Espera-se que o trabalho contribua para que se possa ter conhecimento sobre qual a efetividade da limpeza e desinfecção realizada em ambulâncias de suporte avançado de vida e se tenha conhecimento da microbiota da ambulância, de maneira que se possa, no futuro, se necessário, propor medidas que melhoram a limpeza e desinfecção das ambulâncias de forma a reduzir o risco aos profissionais e pacientes que transitam na ambulância, na perspectiva da segurança do paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Estudo prospectivo de abordagem quantitativa, que será desenvolvido em 12 ambulâncias de suporte avançado da Vida UTI Móvel e do Serviço de Atendimento Móvel de Urgência – SAMU 192 do Distrito Federal;
- A coleta de dados será realizada ao longo de 1 ano;
- O TCLE foi apresentado com clareza nas informações, faltando apenas correção das informações referentes ao CEP/FEPECS;
- O instrumento de coleta de dados a ser usado nas entrevistas possui um campo que permite a identificação do participante na pesquisa.

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

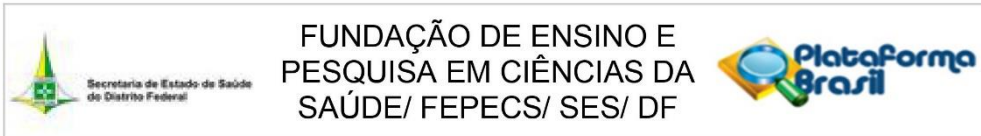
UF: DF

Município: BRASÍLIA

CEP: 70.710-904

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



FUNDAÇÃO DE ENSINO E
PESQUISA EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE/ FEPECS/ SES/ DF

Continuação do Parecer: 3.153.400

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto: Apresentada

Termo de Concordância/Anuência: Apresentado

Curriculum Vitae: Apresentados

Cronograma da pesquisa: Apresentado – coleta de dados prevista para 1º semestre/2019

Planilha de Orçamento: Apresentada

TCLE: Apresentado

Crítérios de Inclusão e Exclusão: Definidos

Recomendações:

- No instrumento de coleta de dados, o campo: "Quem foi o responsável pela higienização da ambulância"? Deverá ser evitado o uso de nomes que permita a identificação do participante ou de terceiros na pesquisa;
- No TCLE, substituir a informação referente ao CEP/FEPECS pelo seguinte texto: "Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FEPECS-SES/DF. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 2017 2132 ramal 6878 ou e-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Situação do Parecer: APROVADO

O pesquisador assume o compromisso de garantir o sigilo que assegure o anonimato e a privacidade dos participantes da pesquisa e a confidencialidade dos dados coletados. Os dados obtidos na pesquisa deverão ser utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo.

O pesquisador deverá encaminhar relatório parcial e final de acordo com o desenvolvimento do projeto da pesquisa, conforme Resolução CNS/MS nº 466 de 2012.

O presente Parecer de aprovação tem validade de até dois anos, mediante apresentação de relatórios parciais, e após decorrido esse prazo, caso necessário, deverá ser apresentada emenda para prorrogação do cronograma.

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

UF: DF

Município: BRASILIA

CEP: 70.710-904

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com

Continuação do Parecer: 3.153.400

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_3091400.pdf	21/12/2018 22:40:00	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Carta_emendas.pdf	21/12/2018 22:39:02	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	modelo_de_documento_para_submissao_de_emendas.doc	21/12/2018 22:38:27	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Carta_pendencias2.pdf	14/12/2018 18:31:35	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	carta_para_encaminhamento_de_pendencias2.doc	14/12/2018 18:30:27	Bruno Côrte Santana	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final_alterado.docx	10/12/2018 22:09:22	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_Vida.pdf	30/10/2018 12:00:02	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_responsabilidade.pdf	30/10/2018 09:43:54	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_FEPECS.pdf	30/10/2018 09:43:13	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Termo_proponente.pdf	30/10/2018 09:42:52	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Carta.pdf	30/10/2018 09:42:20	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	curriculo_Paula.pdf	23/10/2018 21:21:07	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	curriculo_Helio.pdf	23/10/2018 21:20:54	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	curriculo_Bruno.pdf	23/10/2018 21:20:38	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	Carta_CEP.doc	23/10/2018 21:14:36	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	termo_proponente.doc	23/10/2018 20:45:10	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	termo_de_concordancia_de_instituicao_coparticipante_especifico_para_secretaria_de_saude_df.doc	23/10/2018 20:41:26	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	termo_de_concordancia_de_instituicao_coparticipante.doc	23/10/2018 20:41:15	Bruno Côrte Santana	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	tcle_cep_SES.doc	23/10/2018 20:40:23	Bruno Côrte Santana	Aceito

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

CEP: 70.710-904

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Secretaria de Estado de Saúde
do Distrito Federal

FUNDAÇÃO DE ENSINO E
PESQUISA EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE/ FEPECS/ SES/ DF



Continuação do Parecer: 3.153.400

Justificativa de Ausência	tcle_cep_SES.doc	23/10/2018 20:40:23	Bruno Côrte Santana	Aceito
Outros	modelo_de_planilha_de_oramento.doc	23/10/2018 20:39:35	Bruno Côrte Santana	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 19 de Fevereiro de 2019

Assinado por:
DILLIAN ADELAINÉ CESAR DA SILVA
(Coordenador(a))

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS

Bairro: ASA NORTE

CEP: 70.710-904

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)2017-2127

E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com