

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise microbiológica qualitativa e quantitativa do ar em salas cirúrgicas
do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia**

Julianne Vargas de Carvalho

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG
Fevereiro - 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise microbiológica qualitativa e quantitativa do ar em salas cirúrgicas
do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia**

Julianne Vargas de Carvalho

Prof. Dr. Geraldo Batista de Melo
(Orientador)

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG
Fevereiro - 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise microbiológica qualitativa e quantitativa do ar em salas cirúrgicas
do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia**

Julianne Vargas de Carvalho

Prof. Dr. Geraldo Batista de Melo
Instituto de Ciências Biomédicas

Homologado pela coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em ___/___/___

Vera Lúcia de Campos Brites
(Coordenadora)

Uberlândia - MG
Fevereiro - 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Análise microbiológica qualitativa e quantitativa do ar em salas cirúrgicas
do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia**

Julianne Vargas de Carvalho

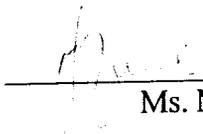
Aprovado pela Banca Examinadora em: 16/02/07 Nota: 8,5



Prof. Dr. Geraldo Batista de Melo



Ms. Karinne Spirandelli Carvalho



Ms. Maria José Nunes

Uberlândia, 16 de fevereiro de 2007

*“Dedico este trabalho aos meus pais e à
minha avó que não mediram esforços
para que os meus objetivos fossem
alcançados”.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e saúde e por me oferecer mais uma oportunidade para evoluir e me aprimorar como ser humano.

Aos mentores espirituais que estiveram comigo em todos os momentos me iluminando e orientando para o caminho certo. E ao meu anjo guardião que me protege e me guarda de todos os males.

Ao Prof. Dr. Geraldo Batista Melo, por ter me orientado neste trabalho, proporcionando-me amadurecimento acadêmico e científico (desculpe algumas falhas). Ao Prof. Dr. Paulo Gontijo Filho pela a co-orientação, com suas sugestões, repassando o seu grande conhecimento. E aos membros da banca examinadora por estarem participando deste trabalho e me avaliando.

À Claudete Freitas pela amizade, paciência, educação e pela colaboração na realização dos testes microbiológicos (obrigada por tudo). Também ao Ricardo pela paciência e atenção.

Ao Elias por toda ajuda que me proporcionou, pelas opiniões, incentivo e compreensão. Também à sua esposa Denise pelo seu jeito meigo e educado.

Às professoras Dayane, Renata, Helisângela e Lizandra pelo carinho e amizade e à professora Rose pelo companheirismo, incentivo, dedicação, ajuda e humildade (obrigada pela força).

Aos companheiros do laboratório de Microbiologia: Lilian, Cristiane, Rodolfo, Michelle Calixto, Michel, Bruna, Bárbara e Núbia pela amizade, atenção e pela ajuda que cada um me proporcionou.

À minha amiga enfermeira Michele, pela ajuda nos momentos mais difíceis, pelo companheirismo e educação.

Ao meu filho Gustavo, obra perfeita acabada; e um dia quando entender possa orgulhar-se da mãe que tentou crescer ao mesmo tempo em que ele também crescia. Perdoe-me pela ausência.

À minha mãe, ao meu pai, ao meu irmão, avó, bisavó, madrinha e tio Enilton pelo amor, carinho, incentivo, apoio,..., nos momentos em que mais precisei vocês estavam lá prontos a me ajudar. É com vocês que comemoro mais uma vitória, sei que acreditam no meu sucesso.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

RESUMO

A contaminação microbiológica do ar em sala cirúrgica é considerada como fator de risco para infecção de sítio cirúrgico. Este estudo foi realizado no centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia e teve como objetivos: a análise quantitativa da contaminação em salas com ar limpo e ultra-limpo utilizadas para cirurgia ortopédica; monitorar variáveis que influenciam na qualidade do ar; identificar os microrganismos presentes no ar e a susceptibilidade dos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp à oxacilina. A análise microbiológica do ar foi realizada pela exposição de culturas em placas de Petri expostas por 30 minutos no início e no final da cirurgia. A interpretação dos resultados foi realizada pelos critérios propostos pela ANVISA, IMA, NASA, "Gesamtkeimzahl" e do Reino Unido. No geral, as salas com ar limpo e ultra-limpo não mostraram diferenças microbiológicas, apesar de a última ser utilizada em cirurgia de prótese ortopédica. Os microrganismos mais prevalentes foram as bactérias gram-positivas (93%), com maior frequência *Staphylococcus* coagulase-negativo (60%) e *Staphylococcus aureus* (23%), com resistência à oxacilina de 14% e 45%, respectivamente. A sala com ar limpo apresentou contagem microbiana abaixo daqueles valores recomendados pela ANVISA e organizações internacionais, o mesmo não ocorrendo com a sala com ar ultra-limpo onde a contaminação foi semelhante a das salas com ar limpo.

Palavras-Chave: Contaminação do ar, sala cirúrgica, infecção nosocomial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
2.1. Hospital.....	5
2.2. Centro Cirúrgico.....	5
2.3. Cirurgias.....	5
2.4. Técnicas microbiológicas.....	5
2.4.1. Coleta do ar.....	5
2.4.2. Leitura e Interpretação.....	5
2.4.3. Estocagem das amostras.....	5
2.4.4. Identificação bacteriana.....	6
2.4.5. Caracterização de <i>Staphylococcus</i> spp e identificação do <i>S. aureus</i>	7
2.4.6. Produção da enzima catalase.....	7
2.4.7. Produção de coagulase livre.....	7
2.4.8. Teste de Susceptibilidade ao Antibiótico Oxacilina (Screening).....	7
3. RESULTADOS.....	8
4. DISCUSSÃO.....	13
5. CONCLUSÕES.....	17
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

1-INTRODUÇÃO

Infecção hospitalar (IH) é definida como qualquer infecção adquirida no hospital. A maioria destas infecções é evidenciada enquanto o paciente ainda encontra-se hospitalizado, mas algumas não são reconhecidas antes do paciente receber alta (TRABULSI; TOLEDO, 2002).

As IHS causam um aumento significativo na morbidade, mortalidade e nos custos hospitalares. Representam um grande problema de saúde pública tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento. Além disso, tem importância humana, social e econômica (BOYCE, 2001).

Nos Estados Unidos da América (EUA), morrem, aproximadamente, 80 mil pessoas vítimas de infecções hospitalares, cerca de 5 a 10% dos pacientes internados, com um custo financeiro adicional de US\$ 4 bilhões por ano (YALCIN, 2003). Nas nações em desenvolvimento da América Latina este número pode chegar a 65%, tornando um reconhecido problema de saúde pública (KUPLICH, 2003).

Os fatores relacionados ao hospedeiro desempenham um papel fundamental na equação da infecção. O grau de resposta do hospedeiro difere em pessoas dependendo do grau de compromisso. Os muitos jovens são particularmente suscetíveis em função da imaturidade do sistema imune. Da mesma forma, os idosos sofrem um maior risco de infecção em razão da doença de base predisponente, perturbações do suprimento sanguíneo e imobilidade. Em todas as faixas etárias, a doença de base e o tratamento da doença podem predispor à infecção, enquanto os procedimentos invasivos permitem um acesso mais fácil dos microrganismos a tecidos previamente protegidos (MIMS et al., 1999).

Os principais patógenos relacionados à etiologia das infecções nosocomiais são: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (CARVALHO, 2005).

Muitos destes microrganismos são considerados oportunistas, incapazes de causar infecção em pessoas saudáveis com mecanismos de defesa inatos, mas podem causar infecções nos pacientes imunocomprometidos ou quando introduzidos durante o curso de procedimentos invasivos (SNYDMAN, 2002).

Staphylococcus aureus e *Staphylococcus* coagulase-negativo resistentes à meticilina são os agentes mais freqüentes em infecções hospitalares mundialmente, justificando o incremento no uso de antibióticos (MELO et al., 2005). A prevalência crescente do perfil de

resistência no ambiente hospitalar é motivo de preocupação e desafia as práticas de controle de infecção nos hospitais na maioria dos países (LEMMEN et al., 2004).

Entre as infecções hospitalares mais frequentemente associadas à bactéria *Staphylococcus aureus*, destacam-se as de sítio cirúrgico (MIMS et al., 1999).

As infecções de sítios cirúrgicos (ISC) têm se destacado dentre os demais sítios de infecção. A cirurgia constitui um fator de risco devido ao rompimento da barreira epitelial, desencadeando uma série de reações sistêmicas no organismo e facilitando a ocorrência do processo infeccioso que afeta os mecanismos locais de defesa. Além desse fator, durante a cirurgia podem ocorrer outros processos invasivos e de alta complexidade (OLIVEIRA et al., 2002).

Entre esses processos ocorridos durante a cirurgia são citados: anti-sepsia das mãos da equipe cirúrgica, preparação da área cirúrgica, a paramentação da equipe, as condições dos instrumentais, e dos campos cirúrgicos, a antibioticoprofilaxia, o número de profissionais na sala de operações, a técnica cirúrgica, o tempo de cirurgia, o estresse cirúrgico, o controle do sistema de climatização do ar da sala cirúrgica, dentre outras (PAULA, 2003).

O controle da contaminação ambiental no centro cirúrgico tem sido considerado como medida racional pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC-USA) na prevenção da ISC. O processo envolve tanto a limpeza de pisos, parede e equipamentos, quanto o acesso e trânsito de pessoas dentro da sala de operação durante a cirurgia, movimentação das portas, sistema de ventilação e paramentação adequada da equipe cirúrgica (CATANEO et al., 2004).

O Ministério da Saúde (MS), em virtude da crescente preocupação com a qualidade do ar de ambientes fechados climatizados artificialmente, aprovou a portaria nº 3.523, em 28 de agosto de 1998 que tem como objetivo minimizar o risco potencial à saúde dos usuários, controlar e reduzir a população microbiana do ambiente em face da permanência prolongada. Essa portaria regulamenta a definição de parâmetros físicos, químicos e biológicos, suas tolerâncias, métodos de controle, e pré-requisitos de projetos de instalação e de execução de sistemas de climatização (BRASIL, 1998).

Ainda regulamenta que todos os sistemas de climatização devem estar em condições adequadas de limpeza, manutenções, operação e controle visando à prevenção de riscos a saúde dos ocupantes de forma a evitar a difusão ou multiplicação de agentes nocivos à saúde humana e manter a boa qualidade do ar interno (BRASIL, 1998).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) exige que um sistema de ar condicionado para ambientes de ar limpo deva utilizar um filtro da classe G3, classificado

como grosso, em conjunto com um outro sistema adotando a utilização de filtros finos F8, que filtram partículas de 0,4µm e apresentam eficiência de 90 a 95% (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT, 2005).

E estabelece que para sala ultra-limpa deva utilizar um filtro grosso da classe G3 associado com filtros finos da classe F7 com eficiência de 80 a 90% para partículas de 0,4 µm de tamanho e com filtros absolutos A3 do tipo HEPA (*High Efficiency Particulate Air*), que apresentam 99,97% de eficiência e retém partículas de 0,3 µm (ABNT, 2005).

Alguns pesquisadores têm apontado o sistema de climatização artificial como um importante reservatório e fonte exógena de microrganismos, considerando a produção de bioaerossóis, ou seja, a veiculação de matéria particulada através dos filtros, insatisfatórios (AYLIFFE, 1991; EICKHORT, 1994 apud PAULA, 2003).

As partículas microbianas, incluindo algas, fungos, bactérias, esporos e vírus, estão entre os principais grupos de contaminantes do ar encontrados em ambientes climatizados, que podem ser provenientes do ar externo, do sistema de climatização, do mobiliário e principalmente, dos seus ocupantes. A contaminação por essas partículas causa conseqüências adversas aos usuários, destacando-se infecções (GONTIJO FILHO et al., 2000).

O Departamento de Higiene da Universidade de Perugia na Itália projetou um sistema de monitoramento microbiológico de ambientes, uma parte fundamental deste sistema é o monitoramento do ar pelo "Index of Microbial Air Contamination" (IMA). De acordo com o IMA, a coleta passiva do ar pela exposição de placas de Petri reflete a deposição de microrganismos em número proporcional ao nível da contaminação microbiológica do ar (PASQUARELLA; PITZURRA; SAVINO, 2000).

A pesquisa abordou as salas do centro cirúrgico onde são realizadas cirurgias ortopédicas, nas quais são utilizados materiais de implante não orgânico, que aumentam o risco de infecção. A infecção hospitalar resultante de contaminação da prótese implica na necessidade de ser retirada resultando em transtornos aos pacientes usualmente idosos e com outras doenças, acréscimo no tempo da internação e elevação nos custos. Devido a estes aspectos é importante estudar a qualidade microbiológica do ar quando da realização destas cirurgias.

A implantação de próteses é amplamente realizada nos bons hospitais, proporcionando melhor qualidade de vida aos pacientes que sem esta opção estariam condenados a uma pior qualidade de vida. Entretanto, apesar de todos os esforços e melhoria de questões técnicas, essa cirurgia pode resultar em complicação gravíssima, a infecção (ERCOLE; CHIANCA, 2002).

Devido a esse agravo em cirurgias de próteses ortopédicas foi analisada a qualidade microbiológica do ar nas salas cirúrgicas durante cirurgias ortopédicas de prótese e osteossíntese relacionadas com ar ultra-limpo e limpo, objetivando quantificar e identificar os microrganismos presentes no ar que potencialmente podem estar associados a estas infecções ortopédicas, bem como verificar a susceptibilidade de amostras de *Staphylococcus* spp à oxacilina.

2-MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Hospital:

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia é um hospital de ensino que oferece nível terciário de atendimento e possui 500 leitos.

2.2 - Centro Cirúrgico:

Possui 12 salas de cirurgias, 11 em funcionamento, as quais são destinadas às cirurgias ortopédicas as salas 2, 4 e 6. As que são dotadas de filtro absoluto e oferecem ar ultra-limpo são as salas 4, 6, 7, 8, 9 e 10.

2.3 - Cirurgias:

Foram coletadas amostras do ar durante as cirurgias ortopédicas de osteossíntese e implantação de prótese.

2.4 - Técnicas microbiológicas:

2.4.1 - Coleta do ar:

Foram feitas coletas do ar utilizando-se técnicas de exposição (método de sedimentação) de placas de Petri de 90 mm de diâmetro distribuídas próximas à mesa cirúrgica (duas placas de “Trypticase Soy Agar”) por 30 minutos à 1m de altura, durante o momento da incisão cirúrgica e por 30 minutos antes do término da cirurgia. Os meios de cultura Ágar Manitol Salgado, Ágar MacConkey e Ágar Sabouraud foram utilizados nessas mesmas condições.

2.4.2 - Leitura e Interpretação:

As placas de Petri com meios de cultura expostas na sala cirúrgica foram incubadas a 37°C por 24/48h e a leitura foi realizada pela determinação do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por m², por m³ e por dm²/h; com exceção das placas com o meio Ágar Sabouraud que foi realizada a leitura após 3/5 dias de incubação à temperatura ambiente.

2.4.3 - Estocagem das amostras

As amostras foram caracterizadas quanto à morfologia e ao comportamento frente

à coloração de Gram e repicadas para ágar estoque em tubos contendo “Trypticase Soy Broth” (TSB) acrescidos de glicerol 20%, incubadas à 37° C por 24h e mantidas no freezer a -20°C. No momento da identificação as culturas foram descongeladas à temperatura ambiente para a preparação do inóculo e subcultivadas para TSB e posteriormente para “Trypticase Soy Agar” (TSA).

2.4.4 - Identificação bacteriana:

As amostras foram coradas pelo método de Gram, objetivando-se a observação da morfologia e das características tinturiais.

Técnica para coloração de Gram (Método de Gram)

1. Preparar um esfregaço do material em estudo e secá-lo ao ar.
2. Fixar o material à lâmina, passando a lâmina três ou quatro vezes pela chama de um bico de Bunsen.
3. Colocar a lâmina sobre um suporte de coloração e cobrir a superfície da mesma com solução de cristal de violeta. Após 1 minuto, lavar bem a preparação com água destilada.
4. Cobrir o esfregaço com iodo de Gram (lugol), deixar por 1 minuto. Lavar normalmente com água.
5. Suspender a lâmina entre o indicador e o polegar e banhar a superfície com algumas gotas de descorante acetona-álcool, até que a cor violeta não seja mais arrastada, por 10 segundos ou menos.
6. Lavar com água corrente e colocar a lâmina sobre o suporte. Cobrir a superfície com o contraste safranina ou fuccina, por 1 minuto. Lavar com água corrente.
7. Colocar a preparação em um suporte de coloração em posição vertical, deixando que o excesso de água esorra e o esfregaço seque.
8. Examinar o esfregaço corado ao microscópio óptico com a objetiva 100 x de imersão (óleo). As bactérias Gram-positivas coram-se em azul-escuro e as Gram-negativas, em vermelho-rosa.

2.4.5 - Caracterização de *Staphylococcus spp* e identificação do *S. aureus*

Após a confirmação das características utilizadas pelo método de Gram, submeteram-se as referidas amostras nas provas de catalase e coagulase.

2.4.6 - Produção da enzima catalase

Foi verificada em lâmina de microscopia pela mistura da suspensão bacteriana com o peróxido de hidrogênio a 3%. A produção de bolhas é indicativo da produção da enzima. As amostras padrão *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 foram utilizadas como controles positivo e negativo, respectivamente.

2.4.7 - Produção de coagulase livre

Realizada a partir de colônias isoladas que foram transferidas para um tubo contendo plasma de coelho diluído 1:4 em solução salina. A leitura para verificação da produção do coágulo foi feita após 4 h, com confirmação do resultado negativo em 24 h, após a incubação à 35°C. Amostras padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 foram utilizadas como controles positivo e negativo, respectivamente.

2.4.8 - Teste de Susceptibilidade ao Antibiótico Oxacilina (Screening)

As amostras de *Staphylococcus sp* foram subcultivadas em TSA e encubadas por 24 horas. Cerca de 2 a 3 colônias foram semeadas em caldo TSB e encubadas a 37 °C por 24 horas. Acrescentou-se solução salina até atingir a turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala Mac Farland ($1-2 \times 10^8$ UFC/ml).

Utilizou-se o aplicador de Stears para inocular as amostras na superfície do ágar Mueller-Hinton adicionado de 4% de NaCl e 6 µg/ml de Oxacilina, colocou as placas na estufa a 37 °C por 24 horas. Verificou-se se houve crescimento microbiano (resistentes) ou não (susceptíveis).

3 - RESULTADOS

Foram coletadas amostras do ar por meio de exposição de placas (9 cm de diâmetro), durante 30 minutos no início e no final do ato cirúrgico em seis cirurgias. Duas cirurgias foram de prótese total de quadril, uma de artrodese tríplice e três de osteossíntese. Uma das salas cirúrgicas avaliadas na qual foi realizada a cirurgia de artrodese tríplice (sala 4) era de ar ultra-limpo e as demais de ar limpo.

Na Tabela 1 estão as características do ambiente cirúrgico durante os seis procedimentos avaliados. O tempo cirúrgico entre as seis cirurgias variou de 25 minutos a 150 minutos, variando também o total de pessoas presentes na sala e o número de vezes que a porta foi aberta durante a cirurgia.

Tabela 1 Características do ambiente na sala de cirurgia durante os seis procedimentos cirúrgicos avaliados

Procedimento Cirúrgico	Ar	Sala	Tempo Cirúrgico (min.)	Abertura da Porta*	Total de Pessoas
Osteossíntese de Fratura	Limpo	2	25	>60	8
Prótese Total de Quadril	Limpo	2	120	41	10
Osteossíntese de Joelho	Limpo	3	80	23	8
Artrodese Tríplice	Ultra-limpo	4	110	39	7
Osteossíntese de Fratura	Limpo	2	60	36	6
Prótese Total de Quadril	Limpo	2	150	61	9

*n.º de vezes em que a porta foi aberta durante a cirurgia

A contagem de mesófilos totais no ar das salas de cirurgia comparadas com o Índice de Contaminação Microbiológica do ar (IMA) está na Tabela 2. Observou-se uma maior contagem dos mesófilos totais no início das cirurgias, excetuando-se nas cirurgias 4 e 5.

Tabela 2 Contagem de mesófilos totais no início e fim das cirurgias no ar das salas, durante cirurgias ortopédicas, comparadas com o Índice de Contaminação Microbiológica do Ar (IMA)*

Cirurgia	Coleta (momento)	Contaminação do ar (ufc/dm ² /h)	Sala	Nível máximo (ufc/dm ² /h)
1	Início	7,42	Limpa	39
	Final	4,29	Limpa	39
2	Início	3,52	Limpa	39
	Final	1,56	Limpa	39
3	Início	1,95	Limpa	39
	Final	0,78	Limpa	39
4	Início	-	Ultra-limpa	9
	Final	4,7	Ultra-limpa	9
5	Início	0,78	Limpa	39
	Final	1,17	Limpa	39
6	Início	23,82	Limpa	39
	Final	2,73	Limpa	39

*UFC / placa de TSA (Trypticase Soy Agar) com 90 mm de diâmetro

‡PASQUARELLA et al. J.H.I., (2000) 46: 241-256

Os microrganismos isolados das salas cirúrgicas foram: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo, bastonete gram-positivo e fungos. Destes, o mais freqüentemente encontrado foi o *Staphylococcus* coagulase-negativo (60,4%), seguido de *Staphylococcus aureus* (22,9%), conforme mostra a Tabela 3. Não foi encontrada nenhuma amostra de bastonetes gram-negativos.

Os resultados dos testes de susceptibilidade à oxacilina dos microrganismos classificados no gênero *Staphylococcus* spp também estão na Tabela 3. Entre as culturas de *Staphylococcus aureus* foram observadas resistência à oxacilina em proporção de 45%, enquanto 55% das amostras eram sensíveis. Entre os *Staphylococcus* coagulase-negativo, 13,8% eram resistentes e 86,2% apresentaram sensibilidade.

Tabela 3 Microrganismos isolados no ar das salas de cirurgia e resistência das amostras de *Staphylococcus* spp à Oxacilina

Microrganismo	n.º de isolados (%)	Oxacilina	
		R* (%)	S‡ (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11 (22,9)	5 (45)	6 (55)
<i>Staphylococcus</i> Coagulase Negativa	29 (60,4)	4 (13,8)	25 (86,2)
Bastonetes Gram-Positivos	5 (10,4)	-	-
Fungos filamentosos	3 (6,3)	-	-
Total	48 (100)	-	-

*Resistente

‡ Sensível

Houve uma predominância de *Staphylococcus* coagulase-negativo em todos os ambientes avaliados. O *Staphylococcus aureus* foi detectado somente nas salas onde o ar é limpo, dados evidenciados na Tabela 4.

Tabela 4 Contagem de microrganismos isolados das salas cirúrgicas com ar limpo e ultra-limpo nos meios de cultivo primário: Ágar Manitol Salgado, Ágar Trypticase Soja e Ágar Sabouraud em ufc/m²

Cirurgia (n.º)	Sala	<i>S. aureus</i>	SCN*	BGP [‡]	Fungo
1	Limpa	4,2 x 10 ³	3,2 x 10 ³	-	1,6 x 10 ³
2	Limpa	-	7,0 x 10 ²	7,0 x 10 ²	3,1 x 10 ²
3	Limpa	-	1,5 x 10 ³	-	-
4	Ultra-limpa	-	9,4 x 10 ²	-	-
6	Limpa	9,8 x 10 ²	9,4 x 10 ³	-	-

**Staphylococcus* coagulase negativa

[‡] Bastonete Gram-Positivo

**Os dados referente às amostras do ar da cirurgia 5 não foram identificados

Os resultados da contagem do ar (análise quantitativa) do centro cirúrgico foram comparados com diferentes padrões internacionalmente aceitos, que incluem: os padrões italianos (Tabela 2), indianos (Tabela 5), alemães (Tabela 6), americanos (Tabela 7) e padrões nacionais (Tabela 8).

Tabela 5 Contagem microbiana do ar durante cirurgias ortopédicas, interpretadas referente Kelkar*

Cirurgia (n.º)	Coleta (momento)	Contaminação do ar (ufc/m ³)	Sala	Nível máximo (ufc/m ³)**	Classificação
1	Início	31,7	Limpa	180	Aceitável
	Final	18,3	Limpa	180	Aceitável
2	Início	15	Limpa	180	Aceitável
	Final	6,7	Limpa	180	Aceitável
3	Início	8,3	Limpa	180	Aceitável
	Final	3,3	Limpa	180	Aceitável
4	Início	-	Ultra-limpa	?	?
	Final	20	Ultra-limpa	?	?
5	Início	3,3	Limpa	180	Aceitável
	Final	5	Limpa	180	Aceitável
6	Início	101,7	Limpa	180	Aceitável
	Final	11,7	Limpa	180	Aceitável

*KELKAR et al., J.H.I. (2005) 60: 81-84

**Para salas com ar ultra-limpo não é citado o nível máximo permitido (experimento 4)

De acordo com a técnica do IMA, técnica indiana e alemã, os resultados mantiveram

dentro dos padrões aceitáveis, como mostram as Tabelas 02, 05 e 06, respectivamente.

Tabela 6 Contagem microbiana do ar durante cirurgias ortopédicas, interpretadas de acordo com a técnica de "Gesamtkeimzahl" (Alemanha)*

Cirurgia (n.º)	Coleta (momento)	Contaminação do ar (ufc/dm ² /h)	Sala	Categoria de "Gesamtkeimzahl"***	
				Intervalo (ufc/dm ² /h)	Classificação
1	Início	7,42	Limpa	0-60	Ótima
	Final	4,29	Limpa	0-60	Ótima
2	Início	3,52	Limpa	0-60	Ótima
	Final	1,56	Limpa	0-60	Ótima
3	Início	1,95	Limpa	0-60	Ótima
	Final	0,78	Limpa	0-60	Ótima
4	Início	0	Ultra-limpa	?	?
	Final	4,7	Ultra-limpa	?	?
5	Início	0,78	Limpa	0-60	Ótima
	Final	1,17	Limpa	0-60	Ótima
6	Início	23,82	Limpa	0-60	Ótima
	Final	2,73	Limpa	0-60	Ótima

* PASQUARELLA et al. J.H.I., (2000) 46: 241-256

**Para salas com ar ultra-limpo não é citado o nível máximo permitido (experimento 4)

De acordo com os padrões americanos (NASA), o máximo permitido para sala cirúrgica ultra-limpa é 3,5 ufc/m³. No nosso estudo foi encontrado um número de 20 ufc/m³ no final da cirurgia, valor não aceitável para este tipo de sala, assim como não é aceitável o valor de 101,7 ufc/m³ (cirurgia 6) em sala limpa, onde o máximo permitido é 88,4 ufc/m³, conforme a Tabela 07.

Tabela 7 Contagem microbiana do ar durante cirurgias ortopédicas, interpretadas referente a técnica da National Aeronautics and Space Administration (NASA)*

Cirurgia (n.º)	Coleta (momento)	Contaminação do ar (ufc/m ³)	Sala	Nível máximo (ufc/m ³)	Classificação
1	Início	31,7	Limpa	88,4	Aceitável
	Final	18,3	Limpa	88,4	Aceitável
2	Início	15	Limpa	88,4	Aceitável
	Final	6,7	Limpa	88,4	Aceitável
3	Início	8,3	Limpa	88,4	Aceitável
	Final	3,3	Limpa	88,4	Aceitável
4	Início	-	Ultra-limpa	3,5	Aceitável
	Final	20	Ultra-limpa	3,5	Não aceitável
5	Início	3,3	Limpa	88,4	Aceitável
	Final	5	Limpa	88,4	Aceitável
6	Início	101,7	Limpa	88,4	Não aceitável
	Final	11,7	Limpa	88,4	Aceitável

*PASQUARELLA et al. J.H.I., (2000) 46: 241-256

De acordo com a classificação da ANVISA (Brasil), na sexta cirurgia, no início do ato cirúrgico, o valor de 101,7 ufc/m³ e 83,3 ufc/m³ não é aceitável para salas cirúrgicas especializadas em ortopedia, sendo o máximo permitido igual a 50 ufc/m³, conforme a Tabela 08.

Tabela 8 Contagem microbiana do ar nos diferentes meios de cultura durante cirurgias ortopédicas, interpretadas conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)* em ufc/m³

Cirurgia (n.º)	Coleta (momento)	Sala	Tripticase Soja	Manitol Salgado	Nível máximo (ufc/ m ³)**
1	Início	Limpa	31,7	26,6	50
	Final	Limpa	18,3	18,3	50
2	Início	Limpa	15	18,3	50
	Final	Limpa	6,7	15	50
3	Início	Limpa	8,3	11,7	50
	Final	Limpa	3,3	8,3	50
4	Início	Ultra-limpa	-	-	50
	Final	Ultra-limpa	20	-	50
5	Início	Limpa	3,3	3,3	50
	Final	Limpa	5	3,3	50
6	Início	Limpa	101,7*	83,3*	50
	Final	Limpa	11,7	13,3	50

*ANVISA, 2003

**Nível máximo aceito para salas cirúrgicas especializadas em ortopedia

*Nível não aceitável

Na Tabela 08 também estão demonstrados os resultados das amostras do ar das salas cirúrgicas nos meios de cultura "Trypticase Soy Agar" e Agar Manitol Salgado em ufc/m³.

4 - DISCUSSÃO

As infecções adquiridas no hospital representam uma das principais causas de morbidade, mortalidade e custos hospitalares (BOYCE, 2001), em países como o Brasil há a falta de recursos humanos, financeiros, laboratório, programa de controle de infecção, e como conseqüências disto, os pacientes estão sujeitos a maior risco de adquirir infecções hospitalares (GONTIJO FILHO, 2000).

Sendo assim, a infecção hospitalar constitui um dos grandes problemas enfrentados pelos profissionais da saúde e pacientes, com destaque para as infecções de sítio cirúrgico. Estima-se, no Brasil, que as ISC ocorram após 11% das cirurgias (ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE ESTUDOS E CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES, SP – APECIH, 2001). Muitos pesquisadores reconhecem que a maioria das infecções cirúrgicas é de origem endógena (70-80%) e a segunda causa de transmissão da ISC é a equipe cirúrgica, caracterizadas principalmente pelas vias aéreas superiores e mãos dos profissionais, além da contaminação por artigos médico-hospitalares e o ar ambiente (GRAZIANA, 1994).

Como mencionado na Introdução, o controle da contaminação ambiental do centro cirúrgico tem sido considerado como medida racional pelo CDC para prevenir a ISC. Esse controle não se limita somente a limpeza de pisos paredes e equipamentos; incluindo também o controle do acesso e do trânsito de pessoas dentro da sala de cirurgia durante o procedimento, movimentação das portas, sistema de ventilação e paramentação adequada da equipe cirúrgica (CATANEO et al., 2004).

O ambiente cirúrgico deve ser limpo e seguro. Procedimentos para alcançar este objetivo levam em consideração questões arquitetônicas. Os centros cirúrgicos são considerados áreas críticas devido ao grande risco de contaminação onde se realizam procedimentos de risco. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária exige normas destinadas ao exame e aprovação dos projetos físicos para estabelecimentos assistenciais de saúde. Entre as exigências incluem-se, também, as condições do ar ambiental em instalações com ar condicionado e ventilação, para unidades médico-assistenciais (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, BR – ANVISA, 2002).

Contaminação microbiológica do ar em sala de operação é considerada como fator de risco para infecções cirúrgicas (LANDRIN; BISSERY; KAC, 2005). A contagem microbiana é mais intensa nos momentos de maior turbulência do ar que coincide com a maior

movimentação da equipe e no final da cirurgia, quando a equipe remove a paramentação (HUMPHREYS; TAYLOR, 2002).

Explorando as vantagens (estéril, econômico e prático) de placas de Petri para medir a contaminação microbiológica do ar, o Departamento de Higiene da Universidade da Perugia (Italia) usa a técnica desde 1978 para monitorar ambientes do hospital. Provou ser uma ferramenta de confiança e útil para monitorar a contaminação microbiológica de superfície que estabelece do ar em todo ambiente. E a interpretação dos dados coletados (contagem microbiana) é analisada quanto aos níveis máximos de contaminação aceitáveis para cada ambiente do hospital (PASQUARELLA; PITZURRA; SAVINO, 2000).

Na interpretação dos resultados das coletas do ar do centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, os dados foram comparados com a técnica indiana, com a técnica alemã, com os padrões do IMA (Itália), da NASA (USA) e da ANVISA (Brasil); já que em cada país existe um número máximo de unidades formadoras de colônias aceitável para diferentes tipos de ambiente no hospital.

De acordo com a técnica do IMA, técnica indiana e alemã, os resultados mantiveram dentro dos padrões aceitáveis. Conforme os níveis máximos aceitáveis pela NASA, na sala ultra-limpa, no final da cirurgia, encontrou-se um valor seis vezes mais alto do que o máximo aceitável, também em uma das salas limpas (cirurgia 6), no início, o valor da contagem microbiana ultrapassou os padrões aceitáveis e foi bem mais alta do que as demais salas, provavelmente como reflexo da porta da sala cirúrgica ter permanecido aberta por cerca de duas horas antes do início da cirurgia.

Conforme a classificação da ANVISA (Brasil), a sala cirúrgica especializada em ortopedia é classificada como nível 03 (área onde existem fortes evidências de alto risco de eventos adversos de seus ocupantes ou pacientes) onde o máximo permitido de partículas biológicas totais no ar ambiental é 50 ufc/m^3 e na sexta cirurgia, no início do ato cirúrgico, os valores encontrados foram $101,7 \text{ ufc/m}^3$ e $83,3 \text{ ufc/m}^3$, ultrapassando o nível máximo aceitável, destacando novamente que a sala permaneceu aberta antes do início da cirurgia favorecendo a entrada dos microrganismos na sala.

Em relação ao monitoramento microbiológico do ar, na sala com ar ultra-limpo, no início da cirurgia não houve crescimento microbiano demonstrando claramente a segurança do filtro deste tipo de sala que proporciona alta eficiência às manobras assépticas, porém, com o decorrer da cirurgia a contagem microbiana aumentou possivelmente em consequência do

número de pessoas presentes na sala, da movimentação da equipe e principalmente da abertura e fechamento constante da porta da sala de operação.

As contagens microbianas entre as salas com ar limpo e ultra-limpo não foram diferentes, ao contrário do que se esperava. Embora a avaliação da contagem do ar na sala ultra-limpa no tempo zero fosse zero, após uma hora de cirurgia o valor da contagem foi igual ou maior do que a maioria das avaliações realizadas nas salas consideradas limpas.

Os microrganismos isolados do ar da sala cirúrgica foram: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo, bastonete gram-positivo e fungos. Essa contaminação aérea pode ser oriunda de fômites, paciente e profissionais de saúde em decorrência da movimentação dos seres presentes na sala e/ou do paciente submetido ao processo cirúrgico, incluindo aparelhos, instrumentos giratórios formadores de aerossóis; ou seja, da aeromicrobiota (PAULA, 2003).

Houve uma predominância de bactérias gram-positivas, destacando-se *Staphylococcus* coagulase-negativo (60,4%); que são os microrganismos mais freqüentes da microbiota normal da pele, e quando de traumas ou realização de cirurgias e procedimentos invasivos podem atingir o tecido sub.epitelial/corrente sanguínea e causar infecções (BOYCE, 1996); e *Staphylococcus aureus* (23%).

Quanto a resistência das amostras de *Staphylococcus* spp à oxacilina, entre as culturas de *Staphylococcus aureus* foram observadas uma proporção de 45% e entre os *Staphylococcus* coagulase-negativo uma proporção de 13,8%, essa freqüência muito baixa pode ter resultado da não utilização de uma concentração mais baixa (0,5 µg/ml) atualmente recomendada pelo "Clinical and Laboratory Standards Institute" (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005).

E a detecção desta resistência é essencial no tratamento apropriado das infecções estafilocócicas, evitando uma terapêutica ineficaz, riscos para o paciente e o uso desnecessário de vancomicina, antimicrobiano de escolha no tratamento de infecções por estafilococos resistentes à oxacilina.

Uma variedade de microrganismos tem forte tendência a aderir a diversas superfícies abióticas e bióticas. Uma vez aderidos à superfície de um determinado substrato, estes são capazes de formar verdadeiras comunidades microbianas designadas de biofilme (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999). Dependendo da sua adesão e multiplicação à superfície de corpos estranhos presentes e de falhas do sistema imunológico do paciente podem causar patologias graves (KLOOS; BANNERMAN, 1994).

As infecções relacionadas com biofilme estão usualmente associadas com a presença de próteses ortopédicas, válvulas cardíacas, cateter urinário e enfermidades clínicas. Sob o ponto de vista do processo de adesão celular, os microrganismos que aderem a diferentes superfícies abióticas e bióticas são altamente resistentes a diversos agentes microbianos. Bactérias que são capazes de formar biofilme em prótese estão comumente associadas com infecções persistentes, aumentando o tempo de tratamento dos pacientes (NGUYEN et al., 2002).

E uma das complicações mais comuns na cirurgia é a infecção. Estimativas mostram que as taxas de infecção na Holanda são em média 1-2% para implantes de quadril e 2-4% para implantes de joelho. O número de recolocações comuns espera-se dobrar sobre os 20 anos seguintes; se a taxa de infecção não for reduzida, a incidência dobrará também, conduzindo o paciente infectado à morbidade, ao aumento de permanência no hospital e aos custos hospitalares aumentados (KNOBBEN et al., 2006).

5-CONCLUSÕES

Quanto a análise quantitativa os resultados das amostras encontravam-se dentro dos níveis máximos permitidos para salas limpas e ultra-limpas comparados com a técnica indiana, alemã e com os padrões do IMA (Itália), porém comparando-se com os padrões da NASA (USA), os resultados das contagens ultrapassaram os níveis máximos permitidos, em sala ultra-limpa no final da cirurgia e em uma sala limpa no início da cirurgia. Também conforme a ANVISA (Brasil) na mesma sala limpa, no início da cirurgia, os valores encontrados estavam acima do máximo permitido.

As contagens microbianas entre as salas com ar limpo e ultra-limpo não foram diferentes, ao contrário do que se esperava, mostrando que as qualidades destes tipos de salas mantiveram-se equivalentes.

Houve uma predominância de bactérias gram-positivas, destacando-se *Staphylococcus* coagulase-negativo (60%) e *Staphylococcus aureus* (23%). Quanto à resistência destas amostras à oxacilina, foi observada uma proporção de 14% e 45%, respectivamente.

A eficiência dos filtros, principalmente do absoluto (microbiológico) implica no cuidado com a preservação da qualidade do ar quanto à presença de partículas o que acarreta que a porta deve permanecer fechada, inclusive antes da chegada do paciente e a equipe cirúrgica deve ser reduzida na sala para que não haja risco de contaminação do ar e, particularmente da prótese e da ferida operatória, causando danos à saúde do paciente.

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Tratamento de ar em estabelecimento assistenciais de saúde (EAS) – Requisitos para projeto e execução das instalações.** NBR 7256. Rio de Janeiro, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Regulamento técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimento assistenciais de saúde.** RDC-50, Brasília, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Consulta Pública n.º 109. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2003.

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE ESTUDOS E CONTROLE DE INFECÇÕES HOSPITALARES – APECIH. **Prevenção de Infecção de sítio cirúrgico.** São Paulo: APECHI, 2001.

BOYCE, J. M. Coagulase-negative staphylococci. In: MAYHALL, C. G. (Ed.). **Hospital Epidemiology and infection control.** Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1996. p. 306-334.

BOYCE, J. M. MRSA patients: proven methods to treat colonization and infection. **Journal of Hospital Infection**, v. 48 Suppl A:S9-S14, aug. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.º 3523, de 28 de agosto de 1998. **Diário Oficial da União**, Brasília, 31/08/1998. Seção 1;40-42.

CARVALHO, K. S. **Contaminação de superfícies em enfermarias de pacientes com infecções por *Staphylococcus aureus* no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.** 2005. 48 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas)-Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

CATANEO, C.; SILVEIRA, C. A.; SIMPIONATO, E.; CAMARGO, F. C.; QUEIROZ, F. A.; CAGNIN, M. C. O preparo da equipe cirúrgica: aspecto relevante no controle da contaminação ambiental. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 12, n. 2, p. 283-286, mar./ abr. 2004.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.** 5th ed., v.20, Approved -Standard M7-A5. Wayne, Pennsylvania, 2005.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, p. 1318-1322, 1999.

ERCOLE, F. F.; CHIANCA, T. C. M. Infecção de sítio cirúrgico em pacientes submetidos a artroplastias de quadril. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 10, n. 2, p. 157-165, mar./ abr. 2002.

GONTIJO FILHO, P. P.; SILVA, C. R. M.; KRITSKI, A. L. Ambientes climatizados, portaria 3.523 de 28/8/98 do Ministério da Saúde e padrões de qualidade do ar de interiores do Brasil. **Jornal de Pneumologia**, v. 26, n. 5, p. 254-258, set. 2000.

GRAZIANA, K. U. Controle da contaminação ambiental da unidade de centro cirúrgico. **Enfoque**, v. 1, n. 21, p. 19-22, jan. 1994.

HUMPHREYS, H.; TAYLOR, E. W. Operating theventilation standards and tho risk of postoperative infection. **Journal of Hospital Infection**, v. 50, n. 2. p. 85-90, feb. 2002.

KELKAR, U.; BAL, A. M.; KULKARNI, S. Fungal contamination of air conditioning units in operating theatres in India. **Journal of Hospital Infection**, v. 60, n. 1, p. 81-84, may. 2005.

KLOOS, W. E.; BANNERMAN, T. L. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, Chicago, v. 7, n. 1, p. 117-140, jan. 1994.

KNOBBEN, B. A. S.; VAN HORN, J. R.; VAN DER MEI, H. C.; BUSSCHER, H. J. Evaluation of measures to decrease intra-operative bacterial contamination in orthopaedic implant surgery. **Journal of Hospital Infection**, v. 62, n. 2, p. 174-180, feb. 2006.

KUPLICH, N. M. **Proposta metodológica para comparar taxas de infecção de sítio cirúrgico entre cirurgiões**. 2003. 71 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia)-Programa de Pós Graduação em Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

LANDRIN, A.; BISSERY, A.; KAC, G. Monitoring air sampling in operating theatres: can particle counting replace microbiological sampling? **Journal of Hospital Infection**, v. 61, n. 1, p.27-29, sep. 2005.

LEMMEN, S. W.; HÄFNER, H.; ZOLLDANN, D.; STANZEL, S.; LÜTTICKEN, R. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. **Journal of Hospital Infection**, v. 56, n. 3, p. 191-197, mar. 2004.

MELO, G. B.; MELO, M. C.; GAMA, A. P.; CARVALHO, K. S.; JESUS, T. C.; BONETTI, A. M.; GONTIJO FILHO, P. P. Analysis of the genetic diversity of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 2, p.126-130, apr./june 2005.

MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIN, D.; WILLIAMS, R. Infecção hospitalar, Esterilização e Desinfecção. In: _____. **Microbiologia Médica**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1999. cap.34, p.481-499.

NGUYEN, L. L.; NELSON, C. L.; SACCENTE, M.; SMELTZER, M. S.; WASSELL, D. L.; MCLAREN, S. G. Detecting bacterial colonization of implanted orthopaedic devices by ultrasonication. **Clin. Orthop.**, v. 403, p. 29-37, 2002.

OLIVEIRA, A. C.; MARTINS, M. A.; MARTINHO, G. H.; CLEMENTE, W. T.; LACERDA, R. A. Estudo comparativo do diagnóstico da infecção do sítio cirúrgico durante e após a internação. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n. 6, p. 717-722, dez. 2002.

PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; SAVINO, A. The index of microbial air contamination. **Journal of Hospital Infection**, v. 46, n. 4, p. 241-256, dec. 2000.

PAULA, J. F. L. **Aeromicrobiota do ambiente cirúrgico**: princípios e peculiaridades da climatização artificial. 2003. 116 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)-Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

SNYDMAN, D. R. Infecções Nosocomiais e Iatrogênicas. In: SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N. C.; EISENSTEIN, B. I.; MEDOFF, G. (Ed.) **Microbiologia**: Mecanismos das Doenças Infecciosas. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap.72, p.589-592.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. de. Epidemiologia das infecções bacterianas. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. cap.15, p.127-130.

YALCIN, A. N. Socioeconomic burden of nosocomial infections. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 57, n. 10, p. 450-456, oct. 2003.