



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
FACULDADE DE BIOMEDICINA

AYAN MACHADO FERREIRA

IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli* EM
SUPERFÍCIES E DETECÇÃO DE AGENTES CONTAMINANTES DO
AR EM UMA UNIDADE DE SAÚDE, BELÉM- PARÁ.

BELÉM

2009

AYAN MACHADO FERREIRA

IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli* EM
SUPERFÍCIES E DETECÇÃO DE AGENTES CONTAMINANTES DO
AR EM UMA UNIDADE DE SAÚDE, BELÉM- PARÁ.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de
Biomedicina da Universidade Federal
do Pará, como requisito parcial para
a obtenção do grau de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Prof^a Dr^a Karla Tereza Silva Ribeiro

BELÉM
2009

AYAN MACHADO FERREIRA

IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli* EM
SUPERFÍCIES E DETECÇÃO DE AGENTES CONTAMINANTES DO
AR EM UMA UNIDADE DE SAÚDE, BELÉM- PARÁ.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de
Biomedicina da Universidade Federal
do Pará, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em
Biomedicina.

Belém (PA), 16 de dezembro de 2009.

Banca Examinadora:

Profª Drª Karla Tereza Silva Ribeiro (orientadora)
ICB – UFPA

Profª Drª Antonia Benedita Rodrigues Vieira
(ICB – UFPA)

Profª Drª Isabel Rosa Cabral
(ICB – UFPA)

Profª Drª Valéria Rodrigues de Oliveira – Suplente
(ICB – UFPA)

"Quando amamos e acreditamos do fundo de nossa alma, em algo, nos sentimos mais fortes que o mundo, e somos tomados de uma serenidade que vem da certeza de que nada poderá vencer a nossa fé. Esta força estranha faz com que sempre tomemos a decisão certa, na hora exata e, quando atingimos nossos objetivos ficamos surpresos com nossa própria capacidade."

(Paulo Coelho)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Angelo e Ana, e a meus irmãos, Andryo e Ananda que estiveram ao meu lado e me deram apoio e suporte incondicionais durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e pela saúde que possibilitaram a conclusão de mais uma jornada;

Aos meus pais pela confiança, paciência, carinho, apoio e dedicação;

À minha família (pais e irmãos) que aceitou e compreendeu minha ausência e, mesmo com a distância, me apoiou;

À família Tamasauskas, que me recebeu e me acolheu tão bem em sua casa, me dando todo amparo e assistência necessária ao longo desses anos de curso;

Aos demais familiares, avó, tios (as), primos (as), que muito auxiliaram e contribuíram ao longo dessa fase;

À Prof^a Dr^a Karla Ribeiro, pela sabia orientação prestada na elaboração deste trabalho e pela disponibilização dos recursos necessários à esta pesquisa;

Ao amigo Thiago Magalhães pelo companheirismo e apoio na execução desta pesquisa;

Aos amigos do laboratório de Microbiologia, em especial Rodrigo Oliveira e Raquel Bouth por toda ajuda e apoio oferecida, que foram fundamentais para realização e conclusão deste trabalho;

À gerencia da Unidade Municipal de Saúde que aceitou participar desta pesquisa;

À farmacêutica-bioquímica, Maria Benedita e demais funcionários, que nos receberam na unidade de saúde, e que muito nos auxiliaram e colaboraram com a realização desta investigação;

A todos, muito obrigado!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. DISSEMINAÇÃO DE MICRORGANISMOS.....	3
1.1.1. Contato com superfícies.....	3
1.1.2. Artrópodes.....	5
1.1.3. Ar.....	5
1.2. PATÓGENOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA.....	6
1.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
1.2.2. <i>Escherichia coli</i>	9
1.3. PREVENÇÃO E CONTROLE.....	10
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVOS GERAIS.....	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3. METODOLOGIA	13
3.1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO.....	14
3.2. AMOSTRAS	14
3.2.1. Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i> em superfícies.....	14
3.2.2. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> em superfícies.....	15
3.2.3. Contagem total de bactérias mesófilas no ar.....	15
3.3. ANÁLISE DOS DADOS.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. PESQUISA DE PATÓGENOS DE SUPERFÍCIE.....	17
4.2. PESQUISA DE BACTÉRIAS MESÓFILAS NO AR.....	20
5. CONCLUSÃO	28
6. SUGESTÃO	28
7. REFERÊNCIAS	29

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Agentes mais comuns de infecções nosocomiais.....	8
Figura 1. Percentual de amostras positivas para <i>Staphylococcus aureus</i> em superfícies de uma UBS de Belém-PA, em três coletas mensais de setembro a novembro de 2009.....	18
Figura 2. Percentual de amostras positivas para <i>S.aureus</i> por local de amostragem em superfícies de uma UBS de Belém-PA, em três coletas mensais de setembro a novembro de 2009.....	19
Figura 3. Percentual de amostras positivas para <i>Escherichia coli</i> em superfícies de uma UBS de Belém-PA, em três coletas mensais de setembro a novembro de 2009.....	19
Figura 4. Perfil de contaminação do ar do banheiro de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.....	22
Figura 5. Perfil de contaminação do ar da copa de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.....	22
Figura 6. Perfil de contaminação do ar do laboratório de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.	22
Figura 7. Perfil de contaminação do ar do consultório de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.....	23
Figura 8. Perfil de contaminação do ar da sala de curativo de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.....	23
Figura 9. Médias de UFC isoladas do ar de uma UBS de Belém-PA por ambiente investigado, entre agosto a novembro de 2009.....	24

Figura 10. Média da soma das contagens de todos os ambientes de uma UBS de Belém - PA, distribuídos entre os meses de agosto a novembro de 2009.....**25**

Figura 11. Percentual de amostras sugestivas de *Staphylococcus sp* detectadas no ar de uma UBS de Belém - PA, entre os meses de agosto a novembro de 2009.....**26**

Figura 12. Percentual de amostras sugestivas de *Staphylococcus sp* detectadas no ar por ambientes de uma UBS de Belém - PA, entre os meses de agosto a novembro de 2009.....**26**

RESUMO

O estabelecimento de saúde é inevitavelmente é um grande reservatório de patógenos virulentos e oportunistas, de modo que as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde podem ser adquiridas não apenas por pacientes, mas também, embora menos frequentemente, por visitantes e funcionários. Em vista disso, foi realizado um estudo descritivo em uma Unidade Básica de Saúde do município de Belém (PA), objetivando verificar o grau de contaminação de superfícies, fazendo uma análise qualitativa da ocorrência de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Foram investigados cinco locais em triplicata: a maçaneta interna do laboratório de Análises Clínicas, as torneiras da copa, do banheiro e do bebedouro, a mesa do consultório de Clínica Geral e telefone público. Foi realizada também a pesquisa da qualidade microbiológica do ar, e os ambientes escolhidos foram: o laboratório, a copa, o banheiro, o consultório e a sala de curativo. Para análise de superfícies, foram utilizados “swabs” estéreis para coleta das amostras. Após o período de incubação, foi observado o aspecto macroscópico das UFC e realizada a seleção dos isolados que seriam submetidos às provas fenotípicas: coloração de Gram e provas metabólicas para identificação das espécies. Na pesquisa de agentes microbianos no ar, foi utilizada a técnica de sedimentação passiva no ar interno da UBS, durante 20 minutos de exposição. Os resultados demonstraram a presença de *S. aureus* em 18,5% das amostras de superfícies coletadas, e o local de maior detecção foi o bebedouro (40%), enquanto que a *E.coli* foi isolada da torneira do banheiro representando 1,85%. Quanto a análise do ar, observou-se maior índice de contaminação foi na sala de curativos ($11,0 \times 10^1$ UFC/placa), sendo que no mês de agosto foi o de maior detecção ($11,2 \times 10^1$ UFC/placa). Foi verificada também a presença de isolados sugestíveis do gênero *Staphylococcus* em 55% das amostras isoladas do ar. Por meio dos resultados obtidos é possível concluir que a unidade apresenta condições higiênico-sanitárias satisfatórias, porém com a presença de áreas que necessitam de uma atenção redobrada pelos gestores.

Palavras-Chave: Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, Unidade Básica de Saúde, contaminação de superfície, qualidade microbiológica do ar.

1. INTRODUÇÃO

O conceito de biossegurança vem sendo cada vez mais difundido e valorizado, na medida em que o entendimento da responsabilidade do profissional envolvido em atividades que manipulam agentes biológicos, químicos, físicos, radioativos, dentre outros, não se limita às ações de prevenção de riscos derivados de sua atividade específica, mas também, do colega que labuta ao seu lado e de outras pessoas que participam direta ou indiretamente desta atividade. Além disso, todo ambiente que o circunda e a comunidade onde está localizada a instituição devem ser considerados, como espaços importantes a serem preservados e protegidos de ameaças e riscos, dos quais muitas vezes, nem mesmo estes últimos atores têm conhecimento (ODA *et al.*, 1998).

No Brasil, a legislação de biossegurança foi criada em 1995 e, apesar da grande incidência de doenças ocupacionais em profissionais de saúde, essa lei engloba apenas a tecnologia de engenharia genética, estabelecendo os requisitos para o manejo de organismos geneticamente modificados (PARANÁ, 2000).

A história da humanidade registra a crença dos homens voltada para a prática de rituais dirigidos aos deuses, a fim de garantir a prevenção de doenças individuais ou coletivas. A civilização elaborou várias teorias para explicar o contágio e a disseminação de doenças. Os egípcios, por exemplo, acreditavam que as doenças se propagavam pelo toque, enquanto os hebreus entendiam que as doenças eram contraídas pelo contato com roupas e outros objetos usados pelos doentes. Essas teorias, que indicam o contágio exclusivamente direto para explicar as doenças, continuaram vigentes por muitos séculos (ODA *et al.*, 1998).

Até meados do século XIX, acreditava-se que o contágio das doenças acontecia através da inalação de miasmas, ou seja, o ar fétido proveniente de matéria orgânica em putrefação carregaria consigo partículas danosas à saúde, e ao ser inalado pelas pessoas, essas ficariam doentes. Essa crença ficou conhecida como a teoria miasmática (JORGE, 2007).

A denominada "Teoria Bacteriológica", com o conceito de unicausalidade - para cada doença, um agente específico, torna-se predominante a partir do final do século XIX, época de acelerado progresso no conhecimento científico sobre as doenças transmissíveis, que se constituíam no principal problema de saúde das populações europeias (TERRIS, 1989).

O avanço no conhecimento sobre as doenças infecciosas e a melhoria nas condições de vida e de trabalho, traz a necessidade de serem explicados tanto os aspectos mais complexos das cadeias de transmissão dessas enfermidades, como a origem dos problemas de saúde decorrentes do aumento da expectativa de vida das populações. Neste contexto, a teoria unicausal vai sofrendo modificações, e já no início do presente século, especialmente a partir da década de 20, o modelo da multicausalidade torna-se dominante no campo da epidemiologia (BARATA, 1985).

A tendência dessas modificações é a ampliação da importância atribuída aos fatores ambientais e do hospedeiro, na determinação dos problemas de saúde. A origem da doença passa então, a ser explicada pela denominada "tríade epidemiológica", ou seja, pela interação do agente etiológico com o hospedeiro humano, em um ambiente composto de elementos físicos, biológicos e sociais, que modulam esta relação. A noção de causa - condição de presença obrigatória para a ocorrência da doença - será substituída pelo conceito de "fator de risco", entendido como aquela condição cuja presença aumentará a "probabilidade", de ocorrência do problema de saúde (BARATA, 1985).

O ambiente de estabelecimentos de saúde, no caso específico deste estudo, uma Unidade Básica de Saúde, incluindo o ar, a água e as superfícies inanimadas que cercam o paciente, guarda íntima relação com as Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde, podendo proporcionar focos de contato e de transmissão de agentes patogênicos (ANDRADE *et al.*, 2000).

A Portaria N° 2.616/98 do Ministério da Saúde conceitua Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS) como aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder

ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (WENZEL, 1992; RABHAE, 2000).

A IRAS no Brasil e no mundo é considerada um problema crítico, gerando problemas sociais e econômicos (WENZEL, 1992; RABHAE, 2000). Representam um sério problema de saúde pública, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos, causando aumento significativo na morbidade, mortalidade e custos hospitalares (BOYCE, 2001). Nos Estados Unidos da América 5 a 10% dos pacientes adquirem IRAS, resultando em aproximadamente 80.000 mortes e um custo financeiro adicional de US\$ 4 bilhões por ano (YALCIN, 2003).

A importância do ambiente como reservatório secundário de microrganismos multiresistentes foi levantado nas últimas décadas (SHIOMORI *et al.*, 2002). No entanto, prevalecem as evidências de que a ocorrência de IRAS, não se relaciona com os níveis de contaminação microbiana do ar, superfícies e fômites, que não existem parâmetros aceitos para níveis de contaminação permitidos, particularmente de superfícies, além de que programas rotineiros de amostragem microbiológica ambiental, realizados sem objetivos epidemiológicos específicos, são desnecessários e economicamente injustificáveis, com base no estudo por Maki *et al.*, (1982).

1.1. DISSEMINAÇÃO DE MICRORGANISMOS

1.1.1. Contato com superfícies

No mecanismo de transmissão de infecção nos estabelecimentos de saúde, as mãos contaminadas dos funcionários atuam como importante meio de disseminação. Os artigos de múltiplos usos em estabelecimentos de saúde podem se tornar veículos de agentes infecciosos, se não sofrerem processos de descontaminação após cada uso. Os locais onde estes artigos são processados e as pessoas que os manuseiam também podem tornar-se fontes de infecção para hospedeiros suscetíveis (BRASIL, 1994).

As doenças infecto-contagiosas se destacam como as principais fontes de transmissão de microrganismos para pacientes e para profissionais (HOEFEL & SHENEIDER, 1997). Uma importante fonte de contaminação refere-se ao contato direto com fluidos corpóreos durante a realização de procedimentos invasivos ou através da manipulação de artigos, roupas, lixo e até mesmo as superfícies contaminadas, sem que medidas de biossegurança sejam utilizadas (SEQUEIRA, 2001). Daí a importância da biossegurança que, aplicada nos estabelecimentos de saúde, corresponde à adoção de normas e procedimentos seguros e adequados à manutenção da saúde dos pacientes, dos profissionais e dos visitantes (SCHEIDT *et al.*, 2006).

Agentes patogênicos podem ser transferidos para as mais diversas superfícies através do contato direto (dedos, pele, cabelos, equipamentos, respingos de sangue ou saliva, microrganismos do meio ambiente e/ou potencialmente patogênicos), e podem ser carreados pelos indivíduos presentes no local. A contaminação agrava-se pelo manuseio de equipamentos, entrada e saída de pessoas no ambiente onde os microrganismos podem ser lançados e disseminados, contaminando todo o espaço físico (AUTIO, 1980; TEIXEIRA & VALLE, 1996).

Os itens hospitalares são reservatórios de patógenos promovendo a contaminação cruzada do estabelecimento de saúde, e, particularmente das mãos, justificando a sua limpeza/desinfecção (CARVALHO, 2005).

Mesmo locais que aparentemente estejam limpos a olho nu, podem ser o habitat de microrganismos, desde que simplesmente haja uma pequena quantidade de material orgânico, ou uma pequena gota de medicamento que em procedimentos de emergência pode não ser percebido. O ponto de origem de um processo infeccioso para o paciente pode estar nos equipamentos que os cercam, por meio de mecanismos de veiculação envolvendo, em muitas vezes, os agentes de saúde. Este por si só apresentam uma vasta microbiota vivendo em simbiose na epiderme, ou em sítios fisiológicos colonizados, levando em consideração que tanto os pacientes, quanto os agentes de saúde, podem ser portadores assintomáticos de certas espécies, o que fariam deles além de reservatórios ambulantes, veículo de

proliferação ativo. Contudo, boa parte é de caráter transitório, e pode ser removido com uma boa e correta lavagem das mãos (MOREIRA, 2002).

1.1.2. Artrópodes

Diversos insetos foram estudados quanto ao seu papel como vetores mecânicos de microrganismos patogênicos em diversos ambientes. As moscas e as baratas foram as mais estudadas, devido à sua clara afinidade com os hábitos humanos (BIDAWID *et al.*, 1978; IMBIRIBA, 1979; ADEYEMI & DIPEOLU, 1984; FURLANETTO *et al.*, 1984; KHIN NWE OO *et al.*, 1989; COHEN *et al.*, 1991; LEVINE & LEVINE, 1991; FOTEDAR *et al.*, 1991; PARALUPPI *et al.*, 1996; IWASA *et al.*, 1999).

Uma investigação em um hospital escola em Praga, Checoslováquia, acusou a presença de 161 diferentes tipos de artrópodes, sendo que as baratas, moscas e formigas representam a maioria das coletas. Após análise microbiológica de cada um deles, observando inclusive a presença de microrganismos resistentes, os autores concluíram que estes artrópodes representaram um alto grau de risco, especialmente para indivíduos imunocomprometidos (SRÁMOVÁ *et al.*, 1992).

1.1.3. Ar

Os contaminantes biológicos ou bioaerossóis, constituídos por fungos, bactérias, algas, ácaros, amebas utilizam-se de matéria particulada (pólen, fragmentos de insetos, escamas de pele humana e pêlos) como substrato, onde se multiplicam, dobrando a população a cada 20 segundos, pois dependem do parasitismo celular para reprodução. Surtos de IRAS podem estar associados à contaminação de filtros de ar condicionado por estes bioaerossóis (DANTAS, 1998).

Os bioaerossóis quando presentes no ar interno, podem causar irritações, alergias, doenças e outros efeitos tóxicos (GRIGOREVSKI-LIMA *et al.*, 2006; LIMA DE PAULA, 2003). O indivíduo é contaminado por via aérea quando o agente microbiano é inalado e retido no trato respiratório em local propício ao seu desenvolvimento. Fatores como a imunidade do indivíduo, a dimensão das

partículas, a profundidade da penetração e a dosagem mínima do agente capaz de provocar a doença, são fatores ligados à infectividade (ROSA & DE MELO LISBOA, 2005).

O homem pode ser infectado pela inalação de poeira infecciosa, que é a poeira contendo microrganismos patogênicos. A poeira infecciosa pode ter origem em fontes humanas ou ambientais. Quando a pessoa espirra ou tosse, as grandes gotículas de aerossóis que são expelidas e depositadas sobre superfícies, tais como roupas de cama ou assoalho, posteriormente evaporam e deixam um resíduo. A movimentação destes resíduos – ao manusear o lenço seco, ao arrumar a cama ou ao varrer o assoalho - pode produzir partículas de poeira, que podem adicionar microrganismos patogênicos ao ar circulante. A disseminação de infecções transmitidas pela poeira é acentuada quando as pessoas se movimentam em áreas pouco ventiladas (MELO *et al.*, 2004).

Alguns microrganismos patogênicos são capazes de sobreviver por períodos relativamente longos na poeira. Isto pode criar um perigo significativo, particularmente em hospitais, clínicas, consultórios médicos e odontológicos, onde podem contribuir com a disseminação de várias doenças. As infecções transmitidas pelo ar podem ser restritas ao trato respiratório ou podem disseminar-se para outras áreas do corpo. (MELO *et al.*, 2004).

O principal efeito da inadequada qualidade do ar em ambientes internos ou externos se dá no sistema respiratório humano. Assim, as doenças no sistema respiratório, são aquelas de maior importância no estudo da qualidade do ar interno (QUADROS, 2008).

1.2. PATÓGENOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

Diferentes microrganismos como bactérias, fungos e vírus causam IRAS. O grupo de patógenos, no entanto, que se destaca são as bactérias que constituem a flora humana e que normalmente não trazem risco a indivíduos saudáveis, devido sua baixa virulência, mas que podem causar infecção em indivíduos com estado

clínico comprometido, sendo denominadas de bactérias oportunistas (BRASIL, 2004b).

1.2.1. *Staphylococcus aureus*

Dentre os microrganismos associados à etiologia das IRAS, o *Staphylococcus aureus* permanece como um importante patógeno (ver tabela 1) (MUNDIM *et al.*, 2003).

São bactérias Gram positivas, imóveis, não formadores de esporos que mais resistem às adversidades ambientais, são anaeróbios facultativos e com diâmetro de 0,5 µm a 1,5 µm. Podem sobreviver por meses em amostras clínicas secas, são relativamente resistentes ao calor e podem tolerar uma concentração aumentada de sal. No entanto, apesar dos antimicrobianos existentes, da melhora das condições sanitárias e das medidas de controle de IRAS, este microrganismo continua a ser um dos mais importantes patógenos para o homem. Encontram-se na forma de cocos, que se dividem em mais de um plano para formar uma estrutura semelhante a cachos de uva (HOLT *et al.*, 1994; BAIRD-PARKER, 1990; BRASIL, 2004a).

Indivíduos sadios são colonizados intermitentemente desde a amamentação, e podem albergar o microrganismo na nasofaringe, ocasionalmente na pele e raramente na vagina. A partir destes sítios, o *S. aureus* pode contaminar a pele e membranas mucosas do paciente, objetos ou outros pacientes por contato direto ou por aerossol, ocasionando infecções letais por conta dos fatores de virulência ou através de resistência aos antimicrobianos atualmente utilizados (BRASIL, 2004a).

O *S. aureus* é o patógeno humano mais importante do gênero *Staphylococcus*. As manifestações clínicas das doenças causadas por esse patógeno variam desde intoxicações alimentares, ou infecções cutâneas de pouca importância, até infecções hospitalares graves, principalmente da corrente sanguínea (BROOKS *et al.*, 2000). Infecções causadas por *S. aureus* acometem

pacientes em todas as faixas etárias, com maior frequência nos extremos de idade, em especial em pacientes com idade acima de 50 anos (MOREIRA *et al.*, 1998).

Em certas situações, *S. aureus* pode expressar genes que sintetizam fatores de virulência, que, além de promoverem a aderência ao tecido danificado, podem diminuir as funções de defesa do organismo. Além do mais, essa bactéria secreta exotoxinas e enzimas que podem causar uma variedade de infecções cutâneas e sistêmicas, incluindo furúnculos, abscessos do choque tóxico e síndrome do choque tóxico neonatal (IWATSUKI *et al.*, 2006).

A identificação das espécies de *Staphylococcus* sp é de grande importância devido ao aumento de seu significado clínico. É importante reconhecer prováveis reservatórios, para avaliar a distribuição dessas espécies bacterianas envolvidas em complicações infecciosas de estabelecimentos de saúde e promover o monitoramento da incidência de resistência entre elas (KEIM, 2005).

Tabela 1. Agentes mais comuns de infecções nosocomiais.

Patógeno	Sítios comuns de isolamento do patógeno
Bactérias Gram negativas	
<i>Escherichia coli</i>	Trato urinário, feridas cirúrgicas, sangue
<i>Pseudomonas sp</i>	Trato urinário, trato respiratório, queimaduras
<i>Klebsiella sp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
<i>Proteus sp</i>	Trato urinário, feridas cirúrgicas
<i>Enterobacter sp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
<i>Serratia sp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
Bactérias Gram positivas	
<i>Streptococcus sp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pele, feridas cirúrgicas, sangue
<i>Staphylococcus epidermitis</i>	Pele, feridas cirúrgicas, sangue
Fungi	
<i>Candida albicans</i>	Trato urinário, sangue
outros	Trato urinário, sangue, trato respiratório

Fonte: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2004.

1.2.2. *Escherichia coli*

Farmer III (1995) relata que os organismos da família Enterobacteriaceae são bacilos Gram negativos, e incluem os seguintes gêneros de importância clínica: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, dentre outros. As diferentes linhagens de enterobactérias são associadas com abscessos, pneumonias, meningites, sepses e infecções de feridas, trato urinário e intestinal.

Koneman *et al.*, (2008) afirmam a alta transmissibilidade do gênero *Escherichia*. Este gênero compreende cinco espécies, das quais a *E. coli* é a espécie de maior importância clínica dentre as bactérias do gênero *Escherichia*. O reservatório da bactéria é o próprio homem e a transmissão se faz pela ingestão de água e alimentos contaminados e também pelo contato pessoal. Este microrganismo está associado a diversas doenças e, dentre elas, as manifestações clínicas no trato gastrointestinal (PRÈRE & FAYET, 2005; TRABULSI *et al.*, 2008). A habilidade desses microrganismos na produção de doenças está associada a sua diversidade antigênica.

Muitos antígenos foram descritos e são usados para classificar as linhagens para fins epidemiológicos (SHELTON *et al.*, 2006). Dentre os fatores de virulência das *E. coli* destacam-se, principalmente, elementos estruturais (LPS, cápsula), aqueles associados à adesão (adesinas) e aqueles relacionados à invasão (exotoxinas) (PRÈRE & FAYET, 2005).

Um grande número de *E. coli* está presente no trato gastrointestinal humano. Estas bactérias são comumente causadoras de sepse, meningites neonatais, infecções de trato urinário e gastroenterites. A maioria das infecções é endógena, exceto meningite neonatal e gastroenterite (PRÈRE & FAYET, 2005). As linhagens associadas às gastroenterites estão subdivididas em cinco grupos patogênicos principais: *E.coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E.coli* enterohemorrágica (EHEC), *E.coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC) (SONG *et al.*, 2005; VIDAL *et al.*, 2005; SHELTON *et al.*, 2006).

1.3. PREVENÇÃO E CONTROLE

As normas de Biossegurança (Lei 8974/1995) quando não atendidas adequadamente, tornam os materiais, os equipamentos e o laboratório potencialmente perigosos, levando os profissionais ligados diretamente a sua rotina, e até mesmo estagiários e visitantes a serem vítimas pela exposição a agentes nocivos à saúde (CARVALHO, 1999).

Dentre as atividades executadas no cotidiano dos Estabelecimentos de Saúde, há a limpeza de unidade, reconhecendo-a como uma das formas de mantê-los biologicamente seguro (ANDRADE, 2000).

Para a realização da desinfecção de superfície, vários agentes químicos desinfetantes podem ser utilizados. O passo inicial para a desinfecção incorre no conhecimento de cada um desses produtos nos seus aspectos principais, como seu mecanismo de ação sobre os microrganismos, toxicidade para o manipulador e ação deletéria para o equipamento a ser desinfetado. A escolha adequada do desinfetante proporciona sucesso do processo de desinfecção (YASSAKA *et al.*, 2005).

No Brasil, vários produtos têm sido indicados, devendo os mesmos possuir princípios ativos fenólicos ou compostos orgânicos e inorgânicos liberadores de cloro ativo, ou princípios quaternários de amônia ou de alcoóis, ou outros que atendam à legislação atual específica (BRASIL, 1994).

A maioria dos Estabelecimentos de Saúde já tem procedimentos de desinfecção e de esterilização dos equipamentos e outras superfícies que compõem o leito do paciente, contudo alguns fatores afetam a eficiência destes procedimentos, ou seja, muitos germicidas acabam sendo neutralizados pelos microrganismos o que diminuem drasticamente seu efeito eliminador, além disso, muitos organismos patogênicos apresentam a capacidade de se agruparem em uma superfície inanimada, formando várias camadas bacterianas revestindo a superfície, originando então o que chamamos de biofilme, sendo assim, a penetração dos agentes químicos é parcial ou totalmente inibida, devido, em muitas vezes que os endósporos bacterianos são muito mais resistentes aos germicidas que as células

vegetativas, isso devido ao seu metabolismo diminuto e seu baixo índice de utilização de água (MADIGAN, 2004).

Anwar (1990) concorda que a superfície que apresenta biofilmes compostos por bactérias patogênicas causa dramáticas mudanças na habilidade e no alvo de ação das moléculas do antimicrobiano, que deveriam ultrapassar o envelope celular. Vários estudos laboratoriais têm mostrado que a composição de microrganismos de superfícies são consideravelmente flexíveis, e seu crescimento regulado naturalmente pelo ambiente.

A identificação e o controle de agentes infecciosos nos vários ambientes de Estabelecimentos de Saúde são de fundamental importância para os profissionais de saúde e toda a sua equipe, para os pacientes que frequentam ou permanecem internados nestes locais, como também para os acadêmicos, futuros profissionais de saúde. As pesquisas sobre estes microrganismos contaminantes, colonizadores ou patogênicos nos Estabelecimentos de Saúde levará a um maior conhecimento e entendimento destes microrganismos, buscando uma conscientização cada vez maior da importância do controle da IRAS (MELO *et al.*, 2004).

De acordo com Santos (2006) a realização de pesquisas sobre quais tipos de microrganismos que o ambiente de Estabelecimentos de Saúde deve combater primeiramente, virá somar esforços no conhecimento de tais agentes, além de contribuir para o enriquecimento da literatura científica, pois quando se trata de estudos que relacionam microrganismos de superfícies destes ambientes, há necessidade de mais análises de dados da comunidade, para não ficar somente como base e critério avaliativo informações de outros estados como quadro comparativo, pois sabe-se que os microrganismos sofrem efeitos diretamente de temperatura, clima, dentre outros, ou seja, são totalmente mutáveis e adaptáveis a cada ambiente (SANTOS, 2006).

O grande número de horas despendidas por pessoa em ambientes internos, especialmente em centros urbanos, é uma justificativa social para a realização deste trabalho. A qualidade de vida das pessoas é grandemente

influenciada pela qualidade do ar que respiram na maior parte do tempo. Pode-se afirmar que as pessoas nas áreas urbanas passam, geralmente, mais de 80% de seu tempo em ambientes fechados, como residências, escritórios, veículos e *Shopping Centers* (ZHANG, 2004; STATHOLOUPOU *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2007).

A inadequada qualidade do ar em ambientes internos está associada à perda de produtividade e abstenção no ambiente de trabalho (JONES, 1999; SPENGLER *et al.*, 2004). Portnoy *et al.*, (2001) associaram a exposição a poluentes do ar interno a um aumento da incidência e prevalência mundial de asma.

No caso específico de uma unidade de saúde, a qualidade do ar pode exercer uma influência direta e de grande significância na velocidade de recuperação dos pacientes e na ocorrência de IRAS. Em unidades de atendimento de portadores de câncer e de doenças imunodepressoras, como a AIDS, estudos desta natureza ganham ainda maior importância (QUADROS, 2008).

Embora persistam as observações feitas por Maki (1982) que o ambiente não tem impacto nas taxas de IRAS. Atualmente esta situação está sendo reavaliada em função da importância crescente de bactérias resistentes a antibióticos, das mãos de profissionais de saúde na transmissão de IRAS e de estudos de surtos (BOYCE *et al.*, 1997; RUTALA & WEBER, 2001; OIE *et al.*, 2002)

A Unidade Básica de Saúde em estudo aceitou participar deste trabalho de conclusão de curso por seu caráter investigativo, acadêmico e científico e de maneira alguma com fins de fiscalização, para que seja evitado inconvenientes usos dos resultados obtidos, optou-se pela não identificação, critério de seus administradores que eticamente foi atendido.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS.

Este trabalho tem como objetivo geral verificar a presença de microrganismos em superfícies inanimadas e avaliar a qualidade do ar interno de uma Unidade Básica de Saúde (UBS) do município de Belém-Pará.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analisar qualitativamente a ocorrência de bactérias contaminantes de superfícies em uma UBS de Belém-PA.
- Verificar a presença de linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* a partir de esfregaços de superfícies.
- Observar aspectos morfológicos das UFC na superfície do meio e realizar a caracterização fenotípica dos isolados de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* através de provas bioquímicas convencionais.
- Avaliar a qualidade do ar circulante em áreas internas da UBS, mediante a análise da contaminação microbiológica.
- Analisar a relação entre os níveis de contaminação de superfícies e do ar.

3. METODOLOGIA

No período de agosto a novembro de 2009 foi realizado um estudo do tipo descritivo, para verificar as condições higiênico-sanitárias das superfícies e do ar interno em uma Unidade Básica de Saúde, do município de Belém-PA. Foi feita uma primeira visita *in locu* na área a ser estudada, para um reconhecimento local e mapeamento das áreas a serem investigadas.

3.1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

A Unidade Básica de Saúde está localizada em um bairro periférico de Belém. É uma unidade de grande porte, que atende especialidades bem diversificadas. Os casos de doenças com maior frequência nessa unidade são de doenças respiratórias, atendendo em sua grande maioria crianças e demais moradores de baixa renda do bairro e de regiões adjacentes.

3.2. AMOSTRAS

As amostras foram coletadas em triplicatas, abrangendo as seguintes superfícies ambientais: a maçaneta interna da porta do laboratório de Análises Clínicas, torneira do bebedouro, mesa do consultório de clinica geral, torneiras da pia da copa e do banheiro, além do telefone público presente no interior da unidade. Para as coletas do material, foram utilizados “swabs” estéreis, umidificados em solução salina a 0,85% no momento da coleta. Em condições assépticas, os “swabs” foram inoculados em tubos contendo Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI), identificados de acordo com ambiente investigado e armazenado em caixa isotérmica, em seguida encaminhado ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará. Os tubos foram então incubados a 35°C por 24 horas, para análise de cultura positiva e prosseguimento da identificação.

3.2.1. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em superfícies

Na pesquisa de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp foi utilizado para o isolamento em Ágar Manitol-Sal em Placa de Petri, seguindo a incubação a 35° C por 24 horas. Após a incubação. As UFC que apresentaram características compatíveis com *Staphylococcus aureus* foram selecionadas e isoladas em Agar Nutriente. Em seguida, as colônias selecionadas foram submetidas à confirmação microscópica através da coloração pelo método de Gram. Posteriormente, as amostras que apresentaram esfregaço com arranjo e coloração característicos da espécie foram submetidas às provas da catalase, testes de sensibilidade à

novobiocina, pelo método de difusão em Ágar Mueller-Hinton, e o teste da coagulase em tubo, utilizando plasma de coelho liofilizado (Coagu-Plasma LB).

3.2.2. Pesquisa de *Escherichia coli* em superfícies

Foi utilizado Ágar MacConkey em Placa de Petri, para verificar a presença de microrganismos Gram negativos, especialmente enterobactérias, uma vez que este meio é seletivo para este grupo de bactérias. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas, posteriormente foi feita a seleção de colônias com características morfológicas semelhantes à espécie *Escherichia coli*. Os isolados selecionados, foram inoculados em Ágar TSI, para verificar o comportamento destes frente a fermentação de açúcares e produção ou não de gás, dando prosseguimento, aquelas que apresentaram padrão de fermentação característico, foram submetidos aos testes complementares, por meio de provas bioquímicas: Indol, VM, VP, Motilidade, Citrato de Simmons e Lisina (KONEMAN, 2008).

3.2.3. Contagem total de bactérias mesófilas no ar

Também foi realizado um estudo sobre sedimentação de bactérias presentes no ar em meios específicos para a contagem e isolamento. Assim no isolamento de bactérias foi utilizado o Agar padrão para contagem em placa (Plate Count). As placas foram abertas e expostas por 20 minutos, os ambientes foram: o laboratório de análises clínicas, a sala de curativos, a copa, o consultório de clínica geral e o banheiro. As mesmas foram armazenadas, transportadas e no laboratório, incubadas durante 24 horas em estufa a 35° C. Após o período de incubação, foi realizada análise macroscópica, pela observação dos aspectos da colônia (cor, textura, pigmentação), em seguida, procedeu-se com a contagem das colônias em cada placa. As UFC, seguindo a sequência de crescimento em cultivos, foram contabilizadas com auxílio de um contador de colônias e, por fim, análise microscópica. Para visualização das bactérias sob microscopia óptica, os isolados bacterianos foram submetidos à técnica de coloração de Gram.

Mesmo tendo havido interferência dos resultados devido ao crescimento de fungos em algumas placas, até mesmo em alguns momentos dificultando as

análises das bactérias mesófilas, sob o risco de exposição e conseqüente contaminação do ambiente de trabalho do laboratório de microbiologia, devido à ausência no laboratório de um local propício ao estudo destes microrganismos, optou-se pela não análise e contabilização dos mesmos.

3.3. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos de sazonalidade e o perfil de cada ambiente, quanto aos resultados das análises microbiológicas, foram armazenados em planilhas específicas, seguindo a análise descritiva para elaboração de tabelas e gráficos, de acordo com as orientações de programa *BioEstat*, versão 4.0 (AYRES *et al.*, 2005).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estabelecimento de saúde funciona como um centro onde bactérias, vírus e muitos outros microrganismos podem ser transmitidos de uma pessoa para outra. Constantemente, temos notícia de casos de infecções adquiridas durante a internação, ou mesmo após a alta (DIAS, 2009).

O grau de contaminação de superfícies reflete o padrão de higiene, bem como a aplicação das medidas de controle disponíveis, sendo influenciado principalmente pela contaminação do ar (PASQUARELLA *et al.*, 2003; DANCER, 2004).

São considerados pacientes de risco, além das crianças e os idosos, portadores de diabetes, pacientes com o sistema imunológico deprimido, ou que usaram antibióticos por longo prazo, ou ainda que foram submetidos a procedimentos invasivos como cirurgias, colocação de sondas ou de cateteres, entubação. (DIAS, 2009).

Os patógenos implicados nas IRAS são transmitidos ao indivíduo tanto via endógena, ou seja, pela própria microbiota do paciente quanto pela via exógena. Esta última inclui veículos como mãos, secreção salivar, fluidos corpóreos, ar e

materiais contaminados, como por exemplo, equipamentos e instrumentos utilizados em procedimentos médicos (BRASIL, 2004b).

A classificação proposta por Spaulding (1968) para itens inanimados (instrumentos, aparelhos, implantes e outros materiais) quanto aos riscos de transmissão de infecção no ambiente do estabelecimento de saúde, inclui as superfícies tais como mesas de cabeceira, maçanetas e pisos. Estas são classificadas como itens não críticos que são definidos como objetos que não entram em contato com a pele ou, quando isto ocorre, o fazem com a pele intacta dispensando as práticas rotineiras de desinfecção. Entretanto, recentemente isto vem sendo questionado em virtude da possibilidade da transmissão de patógenos a partir de superfícies próximas a pacientes infectados ou colonizados pelas mãos de profissionais de saúde contaminadas ao tocar essas superfícies e disseminá-los no estabelecimento de saúde (WIDMER & FREI, 2003).

Dancer (2004) considerou que a transmissão de *S. aureus* ocorre através da combinação de aerossóis e mãos contaminadas em superfícies e sugere que contagens inferiores a 1 UFC/cm² de microrganismos “indicadores”, como por exemplo *S. aureus* e inferiores a 5 UFC/cm² para microrganismos aeróbios, em superfícies hospitalares passíveis de contaminação das mãos, sejam utilizadas na avaliação de limpeza/contaminação das superfícies. Apesar de não existir uma recomendação de coleta periódica de amostras de ambiente incluindo superfícies, existem sugestões de uma conexão entre hospitais sujos e aumento do número de infecções (PASQUARELLA *et al.*, 2000; DANCER, 2004).

4.1. PESQUISA DE PATÓGENOS DE SUPERFÍCIE

Foram investigados cinco pontos de amostragem, sendo a amostragem em triplicata, com coletas mensais por um período de três meses (de setembro a novembro), totalizando 54 amostras.

Dentre as 54 amostras houve a confirmação da presença da espécie *Staphylococcus aureus* em 18,5% (n=10) (Figura 1).

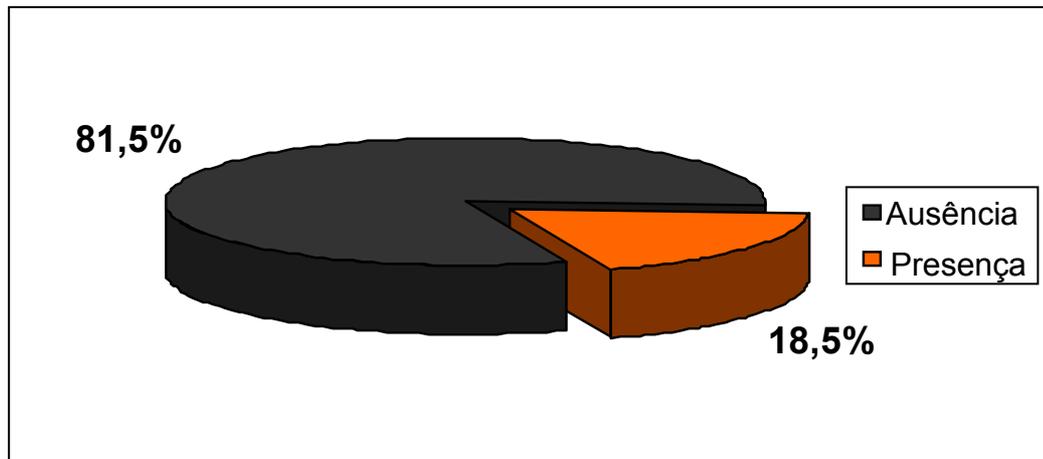


Figura 1. Percentual de amostras positivas para *Staphylococcus aureus* em superfícies de uma UBS de Belém-PA, em três coletas mensais de setembro a novembro de 2009.

Ferreira (2005) relata que um estudo epidemiológico realizado em um hospital universitário no Rio de Janeiro, demonstrou 24 espécies de bactérias causadoras potenciais de IRAS, durante o período de agosto de 1995 a julho de 1997, identificando *Staphylococcus aureus* em mais de 20% das amostras, um resultado bem semelhante ao encontrado nesta pesquisa.

Carvalho (2005) relatou que aproximadamente 40% das superfícies de enfermarias pesquisadas no Hospital das Clínicas – Universidade Federal Uberlândia, estavam contaminadas por *S. aureus*, independentemente se ocupadas por pacientes infectados ou não, refletindo a importância deste microrganismo no hospital.

Entre as 10 amostras em que foi verificada a presença de *S. aureus*, 40% (n=4) destes pertenciam ao material coletado do bebedouro, 20% (n=2) foram provenientes da torneira do banheiro, e a mesma porcentagem para mesa do consultório. A maçaneta interna do laboratório, assim como o telefone público, apresentaram positiva (10%). Nesta investigação, não foi confirmada a presença de *S. aureus* na torneira da copa (Figura 2).

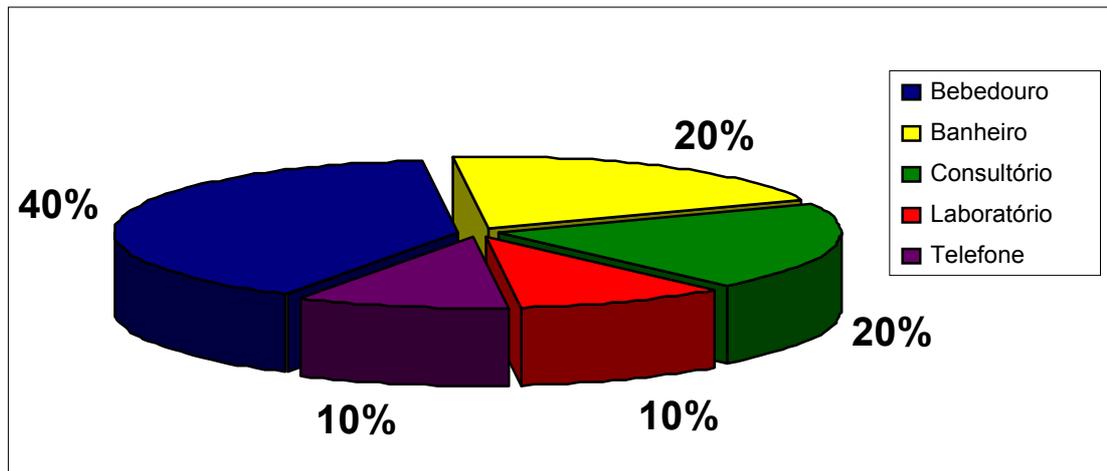


Figura 2. Percentual de amostras positivas para *S.aureus* por local de amostragem em superfícies de uma UBS de Belém-PA, em três coletas mensais de setembro a novembro de 2009.

Oie *et al.*, (2002) relataram em maçanetas de enfermarias de pacientes infectados e não infectados contagens de 1 a 9 UFC/maçaneta naquelas positivas (27%) para *S. aureus*.

Moreira (2002) em sua pesquisa com três tipos de bancadas (mármore, granito e fórmica) em hospitais, também encontrou cepas do gênero *Staphylococcus* em todas elas. Contudo, é correto afirmar que qualquer lugar é passível de encontrar microrganismos, mas o fator que tira isso da normalidade é a sua colonização demasiada, tornando-as fontes em potencial ou coadjuvante de IRAS, levando em consideração o fator preponderante da veiculação pelos profissionais de saúde.

Na pesquisa de *Escherichia coli*, este estudo demonstrou que houve a identificação dessa enterobactéria em 1,85% (n=1), dos locais investigados (Figura 3). A amostra positiva foi proveniente da torneira do banheiro.

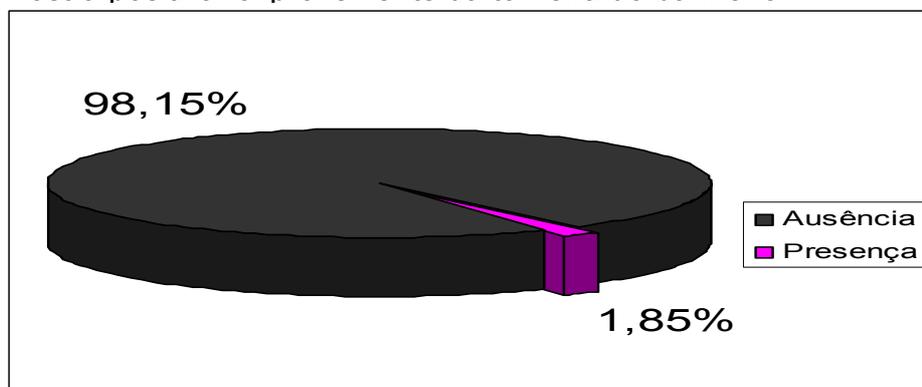


Figura3. Percentual de amostras positivas para *Escherichia coli* em superfícies de uma UBS de Belém-PA, em três coletas mensais de setembro a novembro de 2009.

Feitosa *et al.*, (2008) descreveram que dentre as bactérias encontradas em seu estudo realizado em um hospital público de Morrinhos - GO, no período chuvoso a *E. coli* foi a mais abundante, perfazendo um total de 32,56% dos pontos amostrados. Já no período de estiagem, observou-se que os maiores índices de contaminação foram representados por *E. coli* e *Enterobacter sp*, ambas correspondendo a 25,59% das amostras coletadas.

Andrade *et al.*, (2000) em seu trabalho sobre a condição microbiológica dos leitos, antes e depois de sua limpeza concordaram em dizer que todas as superfícies de um estabelecimento de saúde devem ser bem limpas, em especiais as horizontais que devido à força natural da gravidade favorece o depósito de sujidade e propagação de microorganismos formadores de biofilmes, e ainda apresenta um dado comparativo sobre superfícies verticais que apresentam uma média de contaminação de três microrganismos por 25 cm², frente a superfícies horizontais que demonstram uma contaminação em cerca de 380 microrganismos por 25 cm². No presente estudo foi observado que em todos os pontos positivos, tanto para *S. aureus* quanto para *E. coli*, a quantificação ultrapassou a contagem de 300UFC/5cm².

Atualmente os guias da “*Association for Professional in Infection Control and Epidemiology*” (APIC) e “*Centers for Disease Control and Prevention*” (CDC) recomendam a limpeza e desinfecção das superfícies mais frequentemente tocadas pelas mãos com maior periodicidade (GARNER & FAVERO, 1986; RUTALA, 1996).

4.2. PESQUISA DE BACTÉRIAS MESÓFILAS NO AR

Segundo Kenny *et al.*, (1999), a exposição a microrganismos aéreos ou outros bioaerossóis pode resultar em uma sensibilização respiratória (asma ou aoveolite), e em efeitos toxicológicos no pulmão, como febre de inalação ou síndrome da poeira orgânica tóxica. Isto pode contribuir para uma debilitação progressiva da saúde.

No Brasil foram publicados dois textos com instruções e atos normativos do Governo Federal que contemplavam ambientes climatizados de forma

generalizada, nenhum deles referiu padrões exclusivamente hospitalares. Somente após a morte do ministro Sérgio Mota, ocorrida em abril de 1998, provável vítima da Síndrome do Edifício Doente, segundo noticiado pela Radiobrás (1998), surgiu a primeira norma de ambientes climatizados (ANFONSO *et al.*, 2004).

Na pesquisa de bactérias mesófilas no ar, as contagens de UFC observadas nos cinco ambientes investigados, durante as quatro coletas, compreendidas entre os meses de agosto a novembro de 2009, estão descritas nas figuras 4 a 8.

Nas análises realizadas no banheiro, o mês de maior contaminação foi agosto ($8,3 \times 10^1$ UFC/placa) e o de menor foi setembro ($3,1 \times 10^1$ UFC/placa) (Figura 4).

Nas análises realizadas na copa, o mês de maior contaminação foi novembro ($10,0 \times 10^1$ UFC/placa), e o de menor foi setembro ($3,1 \times 10^1$ UFC/placa). (Figura 5).

Nas análises realizadas no laboratório, o mês de maior contaminação foi novembro ($4,5 \times 10^1$ UFC/placa), e o de menor foi outubro ($0,7 \times 10^1$ UFC/placa) (Figura 6).

Nas análises realizadas no consultório, o mês de maior contaminação foi novembro ($0,9 \times 10^1$ UFC/placa), e o de menor foi outubro ($0,4 \times 10^1$ UFC/placa) (Figura 7).

Nas análises realizadas no consultório, o mês de maior contaminação foi agosto ($>30,0 \times 10^1$ UFC/placa), e o de menor foi setembro ($1,2 \times 10^1$ UFC/placa) (Figura 8).

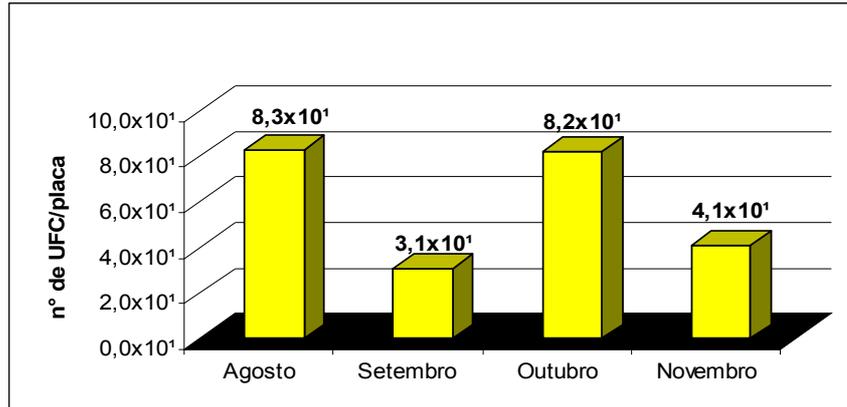


Figura 4. Perfil de contaminação do ar do banheiro de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.

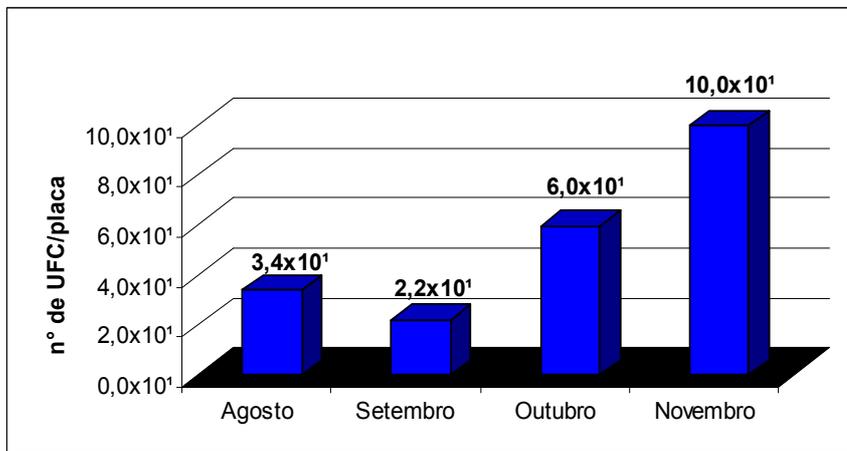


Figura 5. Perfil de contaminação do ar da copa de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.

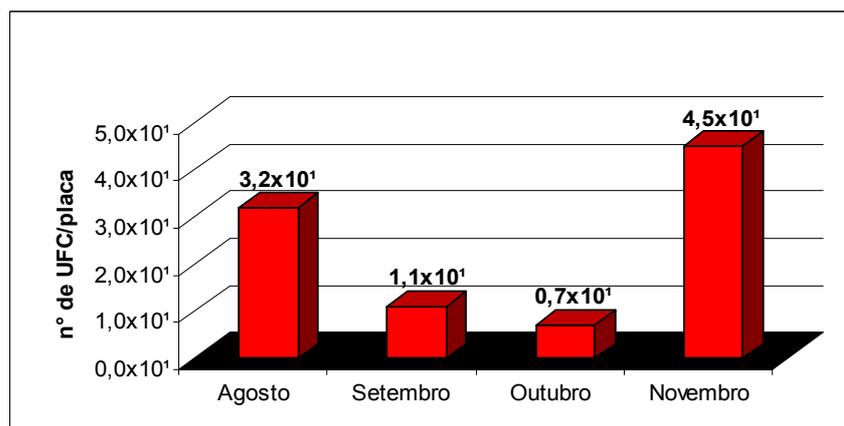


Figura 6. Perfil de contaminação do ar do laboratório de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.

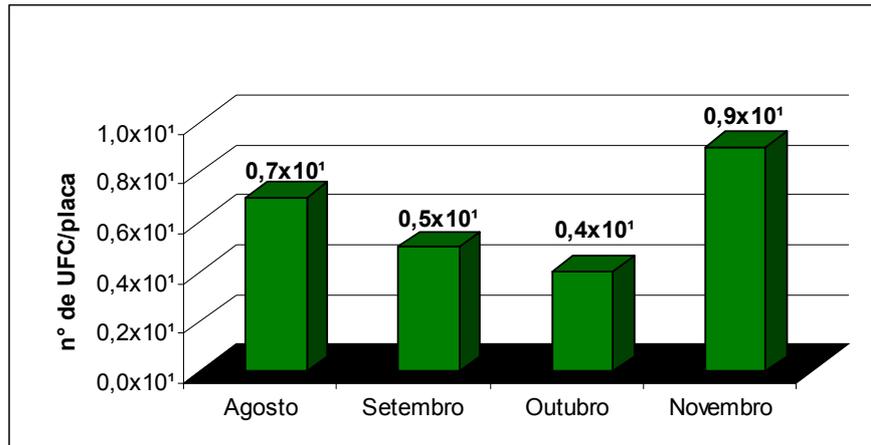


Figura 7. Perfil de contaminação do ar do consultório de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.

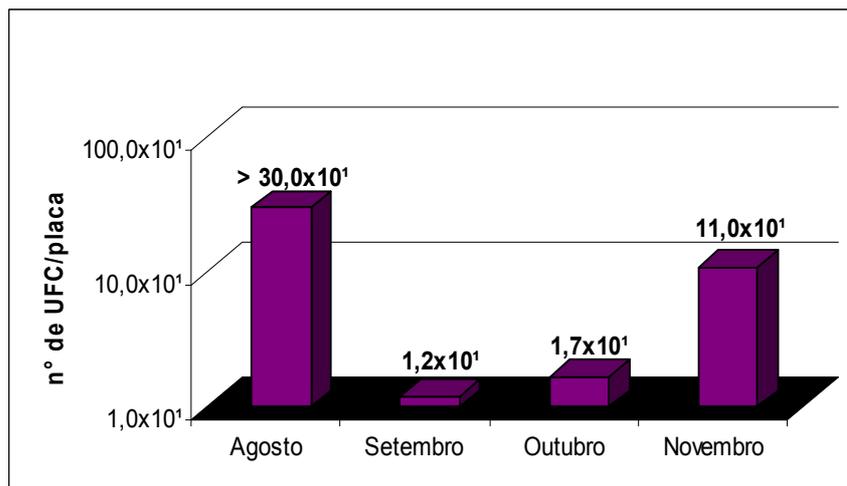


Figura 8. Perfil de contaminação do ar da sala de curativo de uma UBS de Belém - PA, entre agosto a novembro de 2009.

Com estes valores de UFC observados, foi possível a obtenção das médias, por ambiente investigado. As médias foram às seguintes: banheiro: $5,9 \times 10^1$ UFC/placa; laboratório: $2,4 \times 10^1$ UFC/placa; consultório: $0,6 \times 10^1$ UFC/placa; copa: $5,4 \times 10^1$ UFC/placa e sala de curativos: 11×10^1 UFC/placa (Figura 9).

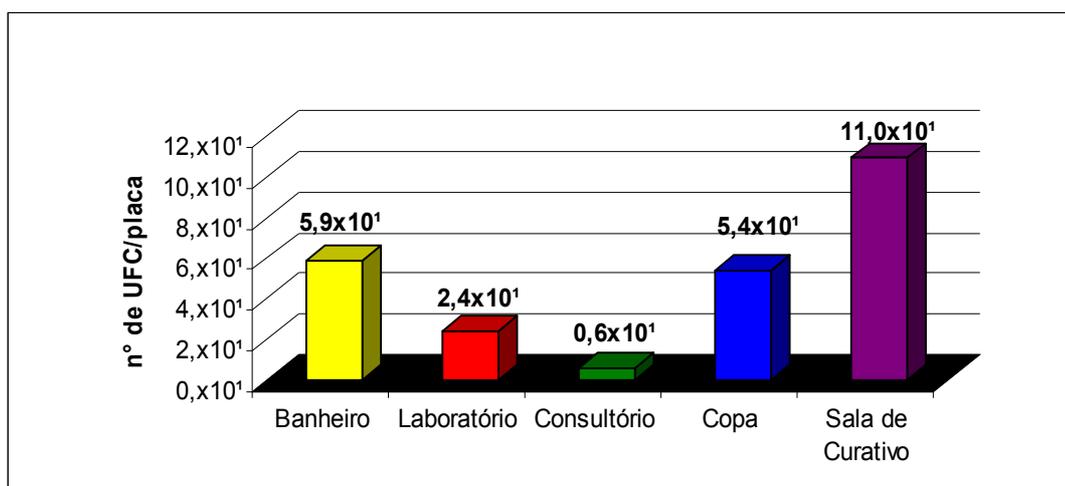


Figura 9. Médias de UFC isoladas do ar de uma UBS de Belém-PA por ambiente investigado, entre agosto a novembro de 2009.

Pode-se observar que o ambiente que apresentou maior crescimento bacteriano, foi a sala de curativos com média de $11,0 \times 10^1$ UFC/placa, essa média deve-se ao fato de a primeira coleta (agosto) ter apresentado valor de contagem superior a 300 UFC/placa e conseqüentemente elevando a média final, por outro lado o local de menor contaminação foi o consultório de Clínica Geral 6×10^1 UFC/placa, mantendo índices reduzidos.

Utilizando método de sedimentação em placa, Pasquarella *et al.*, (2000) propuseram o índice-padrão denominado Índice de Contaminação Microbiológica do Ar (IMA), para avaliação microbiológica de ar a ser adotada na Europa. Propuseram também que nos hospitais, em salas cirúrgicas e enfermarias, tenham contagens máximas de $2,5 \times 10^1$ e $5,0 \times 10^1$ UFC/placa de bactérias mesófilas totais, respectivamente.

Carvalho (2005) avaliando a qualidade microbiológica de ar de enfermarias de pacientes infectados (casos) ou não por *S. aureus* (controle), encontrou valores referentes ao IMA abaixo de $5,0 \times 10^1$, sendo observadas contagens de $4,13 \times 10^1$ UFC/placa e $2,65 \times 10^1$ UFC/placa de mesófilos aeróbios nas enfermarias de casos e controles, respectivamente.

No presente estudo, os resultados da contagem evidenciaram que os locais que apresentaram as maiores taxas de contaminação em ordem decrescente foram: a sala de curativo, o banheiro e a copa. Esses números podem ser explicados pela ocorrência de um ambiente turbulento em função da presença de portas e janelas abertas nos locais e a falta de um sistema de climatização que garanta adequada renovação do ar, tendo em vista que os locais de menor detecção foram o laboratório e o consultório, os únicos pontos que possuem o sistema de climatização interna.

Tomando como ponto de vista, a média da soma das contagens de todos os ambientes, distribuídos entre os meses em que as coletas foram realizadas, temos os seguintes resultados: agosto: $11,23 \times 10^1$ UFC/placa; setembro: $2,03 \times 10^1$ UFC/placa; outubro: $4,25 \times 10^1$ UFC/placa e novembro: $7,63 \times 10^1$ UFC/placa (Figura 10).

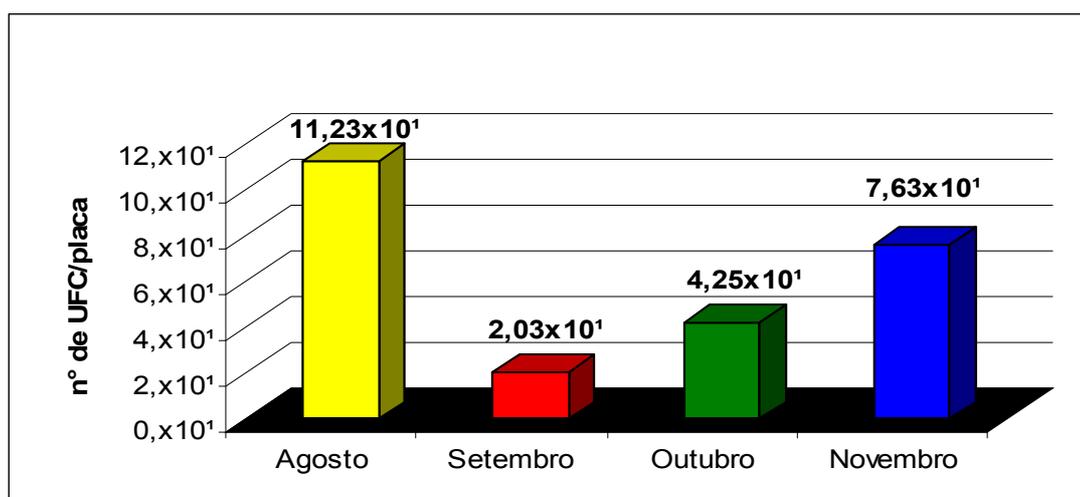


Figura 10. Média da soma das contagens de todos os ambientes de uma UBS de Belém - PA, distribuídos entre os meses de agosto a novembro de 2009.

Em relação às contagens realizadas ao longo dos quatro meses, observa-se que o mês de agosto ($11,23 \times 10^1$ UFC/placa) foi o que apresentou maior valor e o período de menor crescimento foi setembro ($2,03 \times 10^1$ UFC/placa), podendo ser considerado como reflexo do reforço dos serviços de limpeza prestados à unidade, uma vez que em posse dos primeiros resultados, estes foram relatados a equipe técnica da UBS e repassados aos demais funcionários, antes mesmo que as coletas posteriores fossem realizadas. Entretanto, foi observado também um aumento

gradativo ao longo dos meses seguintes, não se pode afirmar ao certo as causas desse aumento, mas fatores como o clima, aumento do fluxo de pessoas podem ter contribuído para este resultado.

As placas deixadas abertas, para verificação da contaminação do ar nos diversos ambientes, demonstraram que do total de 20 amostras coletadas, em 55% (n=11) foi possível a identificação de UFC com características fenotípicas, coloração Gram e arranjo compatíveis com possíveis integrantes do gênero *Staphylococcus*, uma bactéria que para vários autores caracteriza-se pelo aspecto cosmopolita e praticamente onipresente nos ambientes (MANGRAM, 1999; NUNES, 2005) (Figura 11).

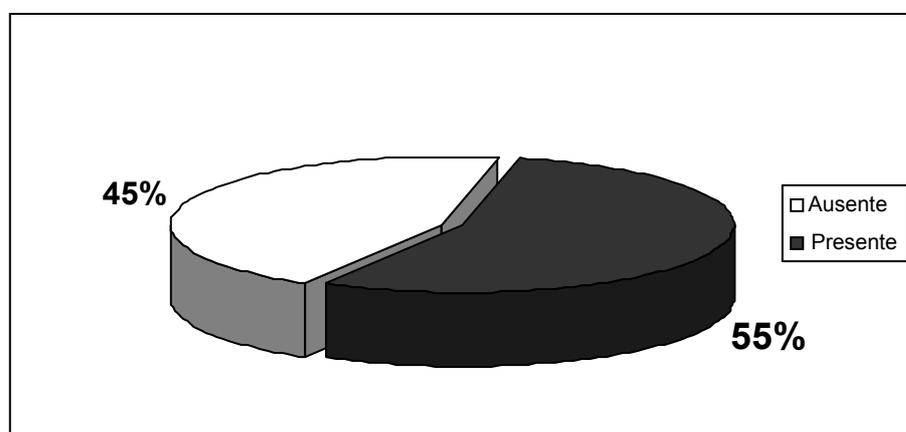


Figura 11. Percentual de amostras sugestivas de *Staphylococcus sp* detectadas no ar de uma UBS de Belém - PA, entre os meses de agosto a novembro de 2009.

Foi observada a presença sugestiva do gênero *Staphylococcus*, devido à ocorrência de 18 isolados com as características da espécie, os quais estavam presentes nas seguintes proporções: banheiro 27,8% (n=5), laboratório 22,2% (n=4), consultório 22,2% (n=4), copa 16,7% (n=3), sala de curativo 11,1% (n=2). (ver figura 12)

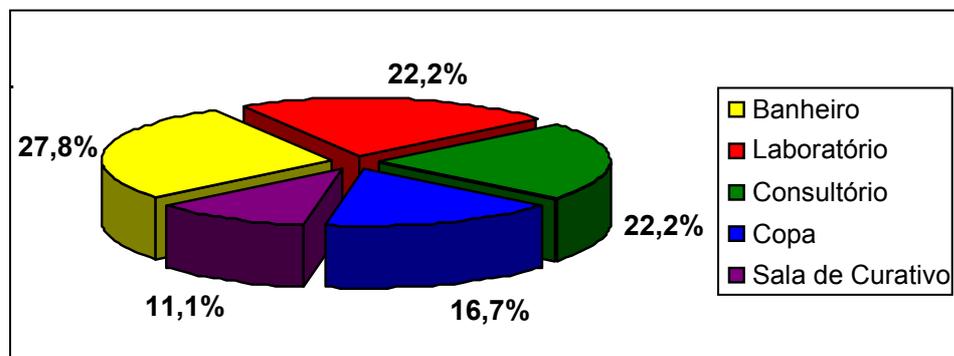


Figura 12. Percentual de amostras sugestivas de *Staphylococcus sp* detectadas no ar por ambientes de uma UBS de Belém - PA, entre os meses de agosto a novembro de 2009.

A identificação de *Staphylococcus sp.*, foi apenas sugestiva pois foi baseada em características morfológicas de coloração Gram e arranjo microscópico, não tendo sido, estas amostras, submetidas a confirmação por métodos específicos.

Embora ainda não existam padrões oficiais na legislação brasileira para investigar a presença de microrganismos no ar em Estabelecimentos de Saúde, a presença de *Staphylococcus sp.* pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Esse fato evidencia a necessidade real de capacitação dos funcionários e criação de equipes de trabalho multidisciplinares que visem à implementação do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (LIMA, 2007).

Até o momento, nenhuma metodologia padrão foi definida para o controle da qualidade microbiológica do ar de ambientes internos. A variedade de métodos disponíveis hoje para a coleta e enumeração de microrganismos do ar, cada um com características peculiares, dificulta a elaboração ou a escolha de uma metodologia padronizada (NUNES, 2005).

Não existe uma legislação brasileira específica para pesquisa de bactérias mesófilas no ar, pode ser feito um comparativo com outros autores, tomando por base seus padrões estabelecidos, sempre se levando em consideração as diferenças entre os locais e a origem geográfica dos estudos.

De acordo com a literatura, as evidências estão aumentando no sentido de que o ambiente contribui significativamente, na disseminação de infecções nos estabelecimentos de saúde. Embora as investigações sobre esta associação sejam complexas, e de custos financeiros altos, elas são necessárias e fundamentais (CARVALHO, 2005).

Práticas rotineiras de limpeza e desinfecção diárias eficientes desses locais, com uso principalmente de solução de hipoclorito e saponáceos, segundo recomendações da diretoria, podem justificar a baixa contaminação dos ambientes.

5. CONCLUSÃO

➤ Contaminação das superfícies:

- A análise qualitativa da presença de *S. aureus* e *E. coli* indicou um monitoramento satisfatório, com percentuais de detecção bem reduzidos;

➤ Contaminação do ar:

- Não foi possível determinar se os índices estão de acordo com percentuais legais aceitos para ambientes internos de estabelecimentos de saúde, porém com base em outros autores, em sua maioria, as análises demonstraram resultados aceitáveis;

Os resultados observados neste estudo, tanto da análise das superfícies, quanto da contaminação do ar demonstraram um reduzido grau de contaminação.

6. SUGESTÃO

Sugere-se que locais que apresentaram índices fora dos padrões observados, na análise como um todo, mereça uma atenção especial. Em posse dos resultados, espera-se que sirva como motivo para sensibilização de todos os profissionais desta área, para a importância sobre os cuidados com combate e prevenção da disseminação de agentes infecciosos.

7. REFERÊNCIAS

- AFONSO, M.S.M.; TIPPLE, A.F.V.; SOUZA, A.C.S.; PRADO, M.A.Do & ANDERS, P.S. **A qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados e sua influência na ocorrência de infecções.** Revista Eletrônica de Enfermagem, v.06, n.02, p.181-188, 2004.
- ADEYEMI, O. & DIPEOLU, O.O. **The numbers and varieties of bacteria carried by filth flies in sanitary and unsanitary city area.** Int J Zoonoses (2): 195-203, 1984.
- ANDRADE, D.; ANGERAMI, E.L.S. & PADOVANI, C.R. **Condições Microbiológicas dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza.** Revista de Saúde Pública, v.34, n.2, p.163-9, abr. 2000.
- ANWAR, H.; DASGUPTA, M.K.; COSTERTON, W. **Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antibacterial agents.** Rev. American Society for Microbiology. v.34, n.11, p.2043-2046. Nov., 1990.
- AUTIO K. L. *et al.*,. **Studies on cross: contamination on the dental clinic.** J. Am. Dent. Assoc., v. 100, n. 3, p. 358-61, Mar. 1980.
- AYRES, M., M. AYRES JUNIOR, D. L. AYRES, A. S. SANTOS. **BioEstat 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas.** Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia; Belém: Imprensa Oficial do Estado do Pará, 324p. 2005.
- BARATA, R.C.B.A. **Historicidade do conceito de causa.** Textos de Apoio - Epidemiologia 1, Rio de Janeiro, ABRASCO, 1985.
- BAIRD-PARKER, A.C. The staphylococci: an introduction. **The Journal of Applied Bacteriology**, v. 19, p. 15-85, 1990.
- BIDAWID, S.P.; EDESON, J.F.B.; IBRAHIM, J. & MATOSSIAN, R.M. **The role of nonbiting flies in the transmission of enteric pathogens (*Salmonella species and Shigella species*) in Beirut, Lebanon.** Annals of Tropical Medicine and Parasitology. 72 (2) : 117-121, 1978.
- BOYCE, J.M.; POTTER-BYNOE, G.; CHENEVERT, C.; KING, T. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.18, n.9, p.622-627, sep. 1997.
- 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. **Coordenação de Controle de infecção Hospitalar. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde.** 2a ed. Brasília; p. 50, 1994.

- FOTEDAR, R.; BANERJEE SHRINIWAS, U. & VERMA, A. **Cockroaches (*Blattella germanica*) as carriers of microorganisms of medical important in hospitals.** *Epidemiol. Infec.* 107: 181-187, 1991.
- FURLANETTO, S.M.P.; CAMPOS, M.L.C.; HÁRSI, C.M.; BURALLI, G.M. & ISHIHATA, G.K. **Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomia* (Diptera, Calliphoridae) no Brasil.** *Rev Microbiol.* 15(3) 170-174, 1984.
- GARNER, J.S.; FAVERO, M.S. CDC Guideline for Handwashing and Hospital Environmental Control 1985. **Infection Control**, v.7, n.4, p. 231-243, 1986.
- GRIGOREVSKI-LIMA, A.L.; SILVA-FILHO, R.G.; LINHARES, L.F. & COELHO, R.R.R. **Occurrence of actinomycetes in indoor air in Rio de Janeiro, Brazil.** *Building and Environment*, v.41, p.1540-1543. ISSN 0360-1323. 2006.
- HOEFEL, H.H.K & SHENEIDER, L.O. O profissional de saúde na cadeia epidemiológica In: RODRIGUES, E.A.C. **Infecções hospitalares: prevenção e controle.** São Paulo: Savier; p.78-86. 1997.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's manual of systematic bacteriology.** 9. ed. Baltimore: Willians e Wilkins, 754 p.1994.
- IMBIRIBA, A.S. **Incidência de enterobactérias encontradas em lotes de moscas, em abatedouros de Curitiba-PR e arredores.** *Arq Biol Tecnol.* 22(2): 197-206, 1979.
- IWASA, M.; MAKINO, S.; ASAKURA, H.; KOBORI, H. & MORIMOTO, Y. **Detection os *Escherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Dipera: Muscidae) at a cattle farm in japan.** *Journal of Medical Entomology.* 36 (1): 1 08-112, 1999.
- IWATSUKI, K.; YAMASAKI, O.; MORIZANE, S.; OONO T. Staphylococcal cutaneous infections: Invasion, evasion and aggression. **Journal of Dermatological Science**, v. 42, p. 203-214, 2006.
- JONES, A.P. **Indoor air quality and health.** *Atmospheric Environmental.* v.33, n.1, p.4535-4564, ISSN 1352-2310. 1999.
- JORGE, K.C. **A modificação da vida urbana da cidade de São Paulo no século XIX a partir das ações sanitárias – A construção de cemitérios e a prática de sepultamentos.** In: XXIV Simpósio Nacional de História: História e Multidisciplinariedade, Territórios e Deslocamentos, 2007, São Leopoldo - RS. Anais do XXIV Simpósio Naciinal de História, 2007. Associação Nacional de História – ANPUH XXIV SIMPÓSIO NACIONAL DE HISTÓRIA. 2007.
- KEIM, L.S. **Mapeamento dos estafilococos coagulase negativo no hospital universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense, no período de 1998 a 2002.** Niterói, RJ: UFF, 2005.132 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2005.

- KENNY, L.C.; BOWRY, A.; CROOK, B. & STANCLIFFE, J.D. **Field Testing of a Personal Size-selective Bioaerosol Sampler**. *Annals of Occupational Hygiene*. v.43, n.6, p.393-404. ISSN 0003-4878, 1999.
- KHIN NWE OO; SEBASTIAN, A.A. & AYE, T. **Carriage Of enteric bacterial pathogens by house flies in Yangon, Myanmar**. *J Diarrhoeal Dis Res*. 7 (3-4), 81-84, 1989.
- KONEMAN, E. W. *et al.*,. **Diagnóstico Microbiológico**, Texto e Atlas Colorido. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, , 1760 p, 2008.
- LEVINE, O.S. & LEVINE, M.M. **Houseflies (*Musca domestica*) as Mechanical Vectors of Shigellosis**. *Rev Infect Dis*. 13(4): 688-696, 1991.
- LIMA DE PAULA, J.F. **Aeromicrobiota do ambiente cirúrgico: princípios e peculiaridades da climatização artificial**. p.128. Dissertação (Mestrado em enfermagem fundamental) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.
- LIMA, J. C. **Ocorrência de *Staphylococcus sp.* em ambiente hospitalar, caracterização de superfícies e adesão de *staphylococcus aureus* em sondas nasoenterais de poliuretano e silicone**. Viçosa, MG: UFVV. 163f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. Brasil. 2007.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. *Prentice Hall*. 10ª Ed., São Paulo: 2004.
- MAKI, D.G.; ALVARADO, C.J.; HASSEMER, C.A. & ZILZ, M.A. **Relation of the inanimate hospital environmental to endemic nosocomial infection**. *England Journal of Medicine*, v.307, n.25, p.1562-1566, dec. 1982.
- MANGRAM, Alicia J. HORAN, Teresa C. PEARSON, Michele L. SILVER, Leah C. JARVIS, William R. **Guideline for prevention of surgical site infection**. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 20, n. 4, p. 247 – 278. Minneapolis: University of Minnesota, 1999.
- MELO, S.C de O.; OLIVEIRA, R de C.B.W. & ARAÚJO, M.R.B. de. **Isolamento e identificação de fungos oportunistas em unidades hospitalares nas cidades de Patos de Minas e Paracatu/MG**. *Revista Eletrônica Perquirere*, v. 1, n.1, 13p. 2004.
- MOREIRA, L.R.C. **Bancadas hospitalares: superfícies e porosidades como fontes potenciais de infecção**. 115p. Tese (Mestrado em Bioengenharia) – Programa de Pós-Graduação do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento do Vale do Paraíba, Univap, São José dos Campos/SP, 2002.
- MOREIRA, M.; MEDEIROS, E.A.S.; PIGNATARI, A.C.C.; WEY, S.B.; CARDO, D.M. **Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus***

aureus resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 44, n. 4, p. 263-268, 1998.

MUNDIM, G.J.; DEZENA, R.A.; OLIVEIRA, A.C. S.; SILVA, P. R.; CARDOSO, M.; PEREIRA, G.A.; MORAIS, C.A.; TERRA, A.P.S. **Avaliação da presença de *Staphylococcus aureus* nos leitos do Centro de Terapia Intensiva do Hospital Escola da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à posição no colchão antes e após a limpeza.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 6, p. 685-688, 2003.

NUNES, Zilma das Graças. **Estudo da Qualidade Microbiológica do Ar de Ambientes Internos Climatizados.** 2005.163 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária / Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde / Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2005.

ODA, L. *et al.*,. **Biossegurança em laboratórios de saúde pública.** Brasília: Ministério da Saúde, 1998.

OIE, S.; HOSOKAWA, I.; KAMIYA, A. **Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** Journal of Hospital Infection, v.51, n.2, p.140-143, jun. 2002.

PARALUPPI, N.D.; VASCONCELOS, J.C. de; CASTELLON, E.G. & SILVA, M. do S.B. da. **Calliphoridae (Díptera) in Manaus: IV. Bactéria isolated from blowflies collected in street markers.** Acta Amazonica. 26 (1-2) 93-96, 1996.

PARANÁ. Secretaria de Saúde do Estado. **Manual de biossegurança e segurança química em laboratório de saúde pública – Lacen. Mais de um século de história.** Curitiba, 2000.

PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; HERREN, T.; POLETTI, L. & SAVINO, A. **Lack of influence of body exhaust gowns on aerobic bacterial surface counts in mixed-ventilation operating theatre. A study of 62 hip arthroplasties.** Journal of Hospital Infection, v.54, n.1, p.2-9, may. 2003.

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.

PORTNOY, J.M.; FAPPLAN, S. & CHARLES, S.A. **A procedure of evaluation of the indoor environment.** Aerobiologia. v.17, p.43-48. Dordrecht. ISSN: 1573-3025, 2001.

PRÈRE, M.F.; FAYET, O. A new genetic test for the rapid identification of shiga-toxines producing (STEC), enteropathogenic (EPEC) *E. coli* isolates from children. **Pathologie Biologie**, Paris, v.53, p.466–469, 2005.

QUADROS, M.E. **Qualidade do ar em ambientes internos hospitalares: parâmetros físico-químicos e microbiológicos.** 134p. Dissertação (Mestrado

em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008.

RABHAE, G.N; RIBEIRO-FILHO, N; FERNANDES, A.T. Infecção do Sítio Cirúrgico. In: Fernandes, A.T, Fernandes, M.O.V; Ribeiro-Filho, N. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. São Paulo: Atheneu; p. 479-505, 2000.

RADIOBRÁS [on line]. Disponível em <http://www.radiobras.gov.br/anteriores/1998/sinopses_2004.htm#1>. Acesso em 28 maio. 2009.

ROSA, E. & DE MELO LISBOA, H.M. **Dispersão de aerossóis no sistema de tratamento de esgotos por lodo ativado na ETE Florianópolis – SC**. Revista de estudos ambientais, v.7, n.1. p.26-38. Blumenau: Editora da FURB, 2005. ISSN 1516-3911, jan/jul 2005.

RUTALA, W.A. APIC guideline for selection and use of disinfectants 1994, 1995 and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, Inc. **American Journal of Infection Control**, v.24, n.4, p.313-342, 1996.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Surface disinfection: should we do it? **Journal of Hospital Infection**, v.48 suppl A: S64-S68, aug. 2001.

SANTOS, H.D.H. **Microorganismos em equipamentos de uma unidade de tratamento intensivo de um hospital de Cuiabá-MT**. p.56. Monografia (Graduação em Bacharel em Ciências Biológicas) - Centro Universitário GPA de Ciências Agrárias e Biológicas, UNIVAG. Várzea Grande – Mato Grosso. 2006.

SPAUDING, E.H. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: BLOCK, S.S. (eds) **Disinfection, sterilization and preservation**. Lea & Febiger, Philadelphia, p.517-531, 1968.

SCHEIDT, K.L.S.; ROSA, L.R.S. & LIMA, E.F.A. **As Ações De Biossegurança Implementadas Pelas Comissões De Controle De Infecções Hospitalares**. Rev Enferm UERJ, Rio de Janeiro; 14(3):372-77, set. 2006.

SEQUEIRA, E.J.D. **Saúde ocupacional e medidas de biossegurança**. In: MARTINS, M.A. Manual de infecções hospitalares. 2ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu; p 643-73. 2001.

SHELTON, D.R.; KARNS, J.S.; HIGGINS, J.A.; VAN KESSEL, J.A.S.; PERDUE, M.L.; BELT, K.T.; RUSSELL-ANELLI, J.; DEBROY, C. Impact of microbial diversity on rapid detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in surface waters. **FEMS Microbiology Letters**, England, v.261, p. 95–101, 2006.

SHIOMORI, T.; MIYAMOTO, H.; MAKISHIMA, K.; YOSHIDA, M.; FUJIYOSHI, T.; UDAKA, T.; INABA, T. & HIRAKI, N. **Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicilin-resistant Staphilococcus aureus contamination**. Journal of Hospital Infection, v.50, n.1, p.30-35, jan. 2002.

- SONG, T.; TOMA, C.; NAKASONE, N.; IWANAGA, M. Sensitive and rapid detection of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by a loop-mediated isothermal amplification method. **FEMS Microbiology Letters**, England, v.243, p.259–263, 2005.
- SPENGLER, J.D.; SAMET, J.M. & MCCARTHY, J.F. **Indoor Air Quality Handbook**. New York: McGraw-Hill, 1448p. ISBN 0074455494, 2004.
- SRÁMOVÁ, H.; DANIEL, M.; ADSOLONOVÁ, V.; DEDICOVÁ, D.; JEDLICKOVÁ, Z.; LHOTOVÁ, H., PETRÁS & P. SUBERTO VÁ, V. **Epidemiological role of arthropods detectable in health facilities**. *Journal of Hospital Infection*. 20: 281-292, 1992.
- STATHOULOPOU, O.I.; ASSIMAKOPOULOS, V.D.; FLOCAS, V.A. & HELMIS, C.G. **An experimental study of air quality inside large athletic halls**. *Building and Environmental*. v.43, n.5, p.793-803, ISSN 0360-1323; maio 2008.
- TEIXEIRA, P. & VALLE, S. **Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar**. RJ: Editora FioCruz, 362p. 1996.
- TERRIS, M. Desarrollo historico -Discusión. In: **El desafio de la epidemiologia: problemas y lecturas seleccionadas**. Washington, D.C., OPS Publicación Científica n. 505, 1989.
- TRABULSI, L.R. ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F. & CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3 a ed .São Paulo: Atheneu. p 207-248, 2008.
- VIDAL, M.; KRUGER, E.; DURÁN, C.; LAGOS, R.; LEVINE, M.; PRADO, V.; TORO, C.; VIDAL, R. Single Multiplex PCR Assay To Identify Simultaneously the Six Categories of Diarrheagenic *Escherichia coli* Associated with Enteric Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, United States, v. 43, p.5362–5365, 2005.
- ZHANG, Y. **Indoor Air Quality Engineering**. Boca Raton: CRC Press, p.615 ISBN: 1566706742. 2004.
- YALCIN, A.N. Socioeconomic burden of nosocomial infections. **Indian Journal of Medical Science**. v.57, n.10, p.450-456, oct. 2003.
- YASSAKA, C.; OSPEDALL, K.Z.; MELLO R.A. & PERISSUTTI, G.E. **Análise da contaminação presente em ambientes de laboratório**. 11.p, Iniciação científica. Universidade Tuiuti do Paraná. 2005.
- WANG, S.; ANG, H.M.; TADE, M.O. **Volatile organic compounds in indoor environment and photocatalytic oxidation: State of the art**. *Environmental International*, v.33, n.5, p.694-705, Amsterdam: Elsevier, ISSN 0160-4120. 2007.
- WENZEL, R.P. **Preoperative antibiotic prophylaxis**. *N Engl J Méd*; 5: 337-9, 1992.
- WIDMER, A.F.; FREI, R. **Decontamination, disinfection and sterilization**. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; PFALLER, M.A.; YOLKEN, R.H. (Ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. 8^a ed. Washington: ASM Press, . p.77-108. 2003.