

Perfil Epidemiológico dos Isolamentos dos Microrganismos ‘Problema’



The Epidemiological Profile of the Isolation of ‘Problem’ Microorganisms

Pedro ATILANO CARVALHO¹, Ana MONTEIRO², Bruno ALMEIDA², Filomena Horta CORREIA², Vera RESENDE^{1,2}, Carla NUNES^{2,3}, Sílvia LOPES³
 Acta Med Port 2019 Sep;32(9):600–605 ▪ <https://doi.org/10.20344/amp.10838>

RESUMO

Introdução: As infeções são um problema cada vez mais frequente e a presença de microrganismos resistentes cria impacto clínico e económico. Este estudo tem por objetivo determinar o perfil epidemiológico dos microrganismos ‘problema’ isolados num hospital do norte de Portugal.

Material e Métodos: Foram analisados todos os isolamentos microbiológicos, entre janeiro de 2014 a junho de 2015. Os dados foram tratados em software estatístico.

Resultados: Analisaram-se 8146 isolamentos microbiológicos, nos quais se obtiveram 23% de isolamentos de microrganismos ‘problema’ (por ordem decrescente de frequência: *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*), sendo 57,55% em doentes do sexo masculino. O mecanismo de resistência mais frequente foi a produção de betalactamase de espectro estendido no global dos isolamentos e a resistência à oxacilina nos microrganismos ‘problema’.

Discussão: Nesta amostra, observou-se uma incidência bastante superior de microrganismos problema àquela publicada noutros países, o que remete para a necessidade da melhoria de mecanismos de vigilância e tratamento destes casos. Os microrganismos que apresentaram mais resistências foram o *Staphylococcus aureus* (resistente à oxacilina) e o *Enterococcus* (resistente à vancomicina), tendo-se verificado que a média de idades nestes casos era superior à dos não resistentes. A maioria destes microrganismos foi isolada no internamento e unidades de cuidados diferenciados, o que os relaciona a infeções associadas aos cuidados de saúde.

Conclusão: A prevalência de infeção por microrganismos ‘problema’ no período estudado foi de 23%. É importante a deteção e o controle da disseminação destes microrganismos pelo seu impacto nos custos em saúde, morbidade e sobrevida dos doentes.

Palavras-chave: Infeção/epidemiologia; Portugal; Resistência Microbiana a Medicamentos

ABSTRACT

Introduction: Infections are a major problem and the presence of drug-resistant microorganisms has significant clinical and economic impact. The present study aims to evaluate the epidemiological profile of “problem” microorganisms isolated in a hospital in the north of Portugal.

Material and Methods: All isolated microorganisms were analyzed, between January 2014 and June 2015. Data obtained was then processed using statistical software.

Results: We analyzed 8146 microbiological isolations and found a prevalence of 23% of ‘problem’ microorganisms (in descending order of frequency: *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*), 57.55% of which isolated in male patients. The most frequent mechanism of drug resistance for the overall sample was the production of extended-spectrum beta-lactamase, and resistance to oxacillin for ‘problem’ microorganisms.

Discussion: In this sample, we observed a much higher prevalence of ‘problem’ microorganisms than that reported in other countries, which shows the need of improvement of surveillance mechanisms and treatment of these cases. Microorganisms that showed higher resistance were *Staphylococcus aureus* (resistant to oxacillin) and *Enterococcus* (resistant to vancomycin). Those were isolated in patients with a higher mean age compared to non-resistant microorganisms. Most of these microorganisms were isolated in hospitalized patients or intermediate and intensive care units, what relates them with healthcare associated infections.

Conclusion: The prevalence of infection by ‘problem’ microorganisms during the studied period was 23%. The detection and control of the spread of these microorganisms are paramount due to its impact on health costs, morbidity and survival of patients.

Keywords: Drug Resistance, Microbial; Infection/epidemiology; Portugal

INTRODUÇÃO

A medicina costumava ser simples, ineficaz e relativamente segura, agora é complexa, eficaz e potencialmente perigosa. Inovações trazem novos riscos e novas tecnologias oferecem novas possibilidades para resultados imprevistos.¹

A segurança do doente tem como objectivo *major* a evicção da ocorrência de acontecimentos adversos, resultantes de condições latentes do ambiente de trabalho ou de

erros humanos, que possam originar incidentes e/ou acidentes, com consequências negativas e/ou danos para a segurança e/ou saúde do doente.²

O desenvolvimento de infeções internas ou externas às unidades de saúde são, sem dúvida, um elemento fundamental na segurança do doente. Prevenir infeções requer a habilidade de as detetar quando elas ocorrem, o que faz com que o serviço de microbiologia desempenhe um papel fundamental (e muitas vezes esquecido) nos programas de

1. Serviço de Ortopedia. Centro Hospitalar de Entre o Douro e Vouga. Santa Maria da Feira. Portugal.

2. Escola Nacional de Saúde Pública. Universidade NOVA de Lisboa. Lisboa. Portugal.

3. Centro de Investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública. Universidade NOVA de Lisboa. Lisboa. Portugal.

✉ Autor correspondente: Vera Resende. vera.resende@chedv.min-saude.pt

Recebido: 25 de maio de 2018 – Aceite: 23 de abril de 2019 | Copyright © Ordem dos Médicos 2019



prevenção das infeções.³ Algumas das principais funções desempenhadas pelos serviços de microbiologia são a vigilância, deteção precoce e orientação antimicrobiana no tratamento das infeções. O serviço é, ainda, peça fundamental nas comissões de infeção e no ensino.³

O primeiro passo para uma correta atuação nestas variadas áreas é conhecer a realidade local de cada serviço de microbiologia.

Neste sentido, a nível nacional e nos termos da alínea a) do nº 2 do artigo 2º do Decreto Regulamentar nº 14/2012, de 26 de janeiro, foi emitida a Norma da Direção Geral da Saúde n.º 004/2013 datada de 21/02/2013 sobre a Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos, de microrganismos 'problema' (MP). Em que se entende como MP, os microrganismos que causam frequentemente doença e com taxas de resistência epidemiologicamente significativa, e que de acordo com a referida norma devem ser pesquisados: (i.) *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*); (ii.) *Acinetobacter spp.* (iii.) *Enterobacteriaceae*; (iv.) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*); (v.) *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*; (vi.) *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumonia*). Inclui o registo das infeções causadas pelo *Clostridium difficile*.⁴

Várias espécies microbianas apresentam propriedades patogénicas, alérgicas, tóxicas ou infecciosas para os humanos. A exposição a estes microrganismos pode provocar diversos efeitos na saúde.^{5,6} A severidade dos efeitos da exposição a agentes microbianos depende, entre outros fatores, da sua toxicidade, da carga microbiana e o tempo de exposição e, ainda, da idade e estado nutricional dos indivíduos expostos.⁷

Os MP são microrganismos que pelas suas propriedades têm o potencial de causar efeitos severos na saúde dos doentes, pelo que este estudo tem por objetivo determinar o perfil epidemiológico dos isolamentos de MP num hospital do norte de Portugal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo observacional, longitudinal, retrospectivo dos isolamentos microbiológicos de uma unidade hospitalar do norte de Portugal, num período de 18 meses (janeiro de 2014 a junho de 2015). Todos os isolamentos foram provenientes de produtos biológicos humanos e monitorizados para a resistência a antibióticos.

Os dados recolhidos para o estudo foram o microrganismo isolado, resistência ao antibiótico — *extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL), oxacilina e vancomicina, o tipo de produto biológico, o local de colheita da amostra, o género e a idade do indivíduo.

O presente estudo não incluiu participantes seres humanos (diretamente ou através do estudo dos seus dados pessoais) pelo que se considerou não haver necessidade de parecer de comissão de ética.

Análise estatística

Os dados foram tratados no *software* estatístico IBM *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS),

versão 20.0. Considerou-se uma probabilidade de erro tipo 1 de 0,05 em todas as análises inferenciais.

Para a caracterização da amostra recorreu-se à estatística descritiva, calculando o número de casos (n) e percentagem (%) para as variáveis qualitativas e média, mediana, mínima, máxima e desvio padrão para a variável quantitativa idade.

Para avaliar se a média de idades dos indivíduos era afetada pelo nível de resistência recorreu-se à ANOVA *one-way* como descrito em Maroco (2014). O pressuposto da distribuição normal da variável dependente (idade) nos diferentes grupos definidos pela resistência aos antibióticos foi avaliado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors. O pressuposto de homogeneidade de variância foi validado com o teste de Levene.

A classificação dos sujeitos (microrganismos isolados) foi efetuada com uma análise de *clusters* não hierárquica *K-means* com o método de Ward usando a distância euclidiana quadrada como medida de dissimilaridade entre sujeitos. Como critério de decisão sobre o número de *cluster* a reter, usou-se o R² como descrito em Maroco (2014),⁸ tendo-se escolhido a solução do menor número de *cluster* que reteve uma fração considerável (> a 80%) da variância total. Para identificar as variáveis com maior importância nos *clusters* retidos procedeu-se à análise da estatística F da Anova dos *clusters* como descrito em Maroco (2014).⁸ Os *outputs* obtidos apresentam-se no **Apêndice 1**.

RESULTADOS

Analisaram-se 8146 isolamentos microbiológicos, nos quais se obtiveram 23% de isolamentos de MP. A Tabela 1 mostra a frequência absoluta dos microrganismos isolados (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 1).

A causa mais comum para a multiresistência foi a produção ESBL — ver Fig. 1.

A Tabela 2 apresenta a estatística descritiva da variável dependente idade por tipo de resistência (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 2).

O pressuposto da distribuição normal da variável dependente (idade) nos diferentes grupos definidos pela resistência aos antibióticos foi avaliado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 3), todos os grupos obtiveram um $p < 0,05$. O pressuposto de homogeneidade de variância foi avaliado pelo teste de Levene [$F(2/1864) = 7,167$,

Tabela 1 – Frequência absoluta dos microrganismos isolados

		Frequência	Percentagem (%)
Organismo	<i>Enterococcus</i>	873	10,7
	<i>P. aeruginosa</i>	633	7,8
	<i>S. aureus</i>	298	3,7
	<i>S. pneumonia</i>	64	0,8
	<i>E. coli</i>	2238	27,5
	Outros	4040	49,6
	Total	8146	100

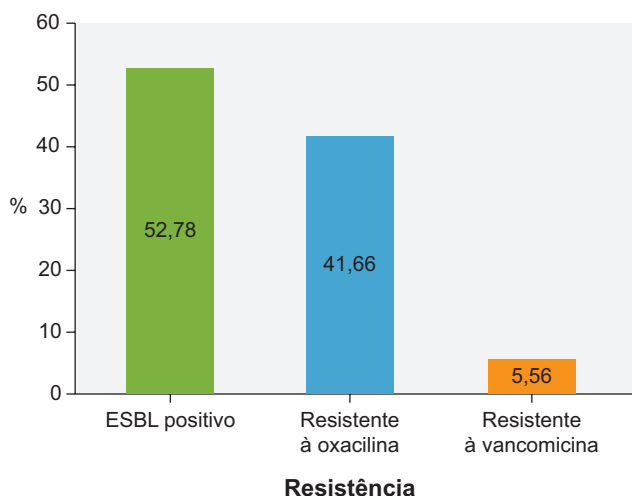


Figura 1 – Causas da resistência

$p = 0,001$] (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 4). Por se ter verificado que as variâncias não são homogêneas realizou-se o teste ANOVA *one-way* seguido do teste post-hoc Games-Howell para comparação das médias de idade nos vários grupos (Maroco 2014).⁸ Verificou-se que existe uma diferença estatisticamente significativa entre as médias das idades dos isolamentos não resistentes e os resistentes à oxacilina e dos não resistentes versus os resistentes à vancomicina (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 5).

Os MP isolados foram a *P. aeruginosa*, o *S. aureus*, o *Enterococcus* e o *S. pneumonia*, segundo a proporção apresentada na Fig. 2.

Verificou-se que os MP microrganismos 'problema' eram mais frequentemente isolados nos indivíduos do sexo masculino (> 57%).

Relativamente à resistência verificou-se que dos 1868 microrganismos problema isolados, 128 eram resistentes à oxacilina (100% *S. aureus*) e 56 (100% *Enterococcus*) resistentes à vancomicina (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 6).

Relativamente ao local de origem da amostra (onde o doente realizou a colheita do produto) verificou-se que a maioria dos isolamentos ocorreram nos serviços de internamento médico e cirúrgico (Apêndice 1 — Anexo 7).

Relativamente ao produto da amostra verificou-se que a maioria dos isolamentos foi realizada na urina, seguida do pus e líquido abdominal (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 8).

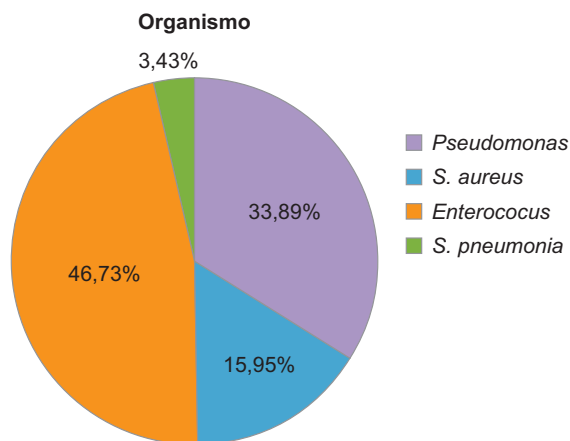


Figura 2 – Proporção dos microrganismos 'problema'

A classificação dos sujeitos (microrganismos isolados) foi efetuada com uma análise de *clusters* não hierárquica *K-means* com o método de Ward usando a distância euclidiana quadrada como medida de dissimilaridade entre sujeitos. Como critério de decisão sobre o número de *clusters* a reter, usou-se o R^2 como descrito em Maroco (2014),⁸ tendo-se escolhido a solução do menor número de *clusters* que reteve uma fração considerável (> a 80%) da variância total. De acordo com o critério do R^2 , foram retidos quatro *clusters* que explicam ~80% da variância total.

Para identificar as variáveis com maior importância nos *clusters* retidos procedeu-se à análise da estatística F da ANOVA dos *clusters* que demonstrou que a idade é a variável que mais diferencia os *clusters* ($F = 6652,866$; $p < 0,001$), seguida pelo produto ($F = 62,988$; $p < 0,001$), sexo ($F = 20,344$; $p < 0,001$) e local de colheita da amostra ($F = 15,194$; $p < 0,001$). O organismo isolado ($F = 7,824$; $p < 0,001$) e o tipo de resistência ($F = 3,055$; $p = 0,27$) é o que menos diferencia os *clusters* (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 9).

Verifica-se que os *clusters* 1 e 4 são os mais diferentes (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 10) e que a distribuição dos isolamentos pelos diferentes *clusters* é heterogênea, havendo uma grande diferença no número de isolamentos em cada *cluster*, sendo mais uma vez os *clusters* 1 e 4 os mais diferentes (ver *output* no Apêndice 1 — Anexo 10).

De acordo com a Tabela 6, o *cluster* 1 corresponde ao grupo dos isolamentos efetuados em indivíduos do sexo masculino, mais velhos e que se encontravam internados

Tabela 2 – Estatística descritiva da variável idade, dos microrganismos problema, por nível de resistência

	Sem resistência	ESBL positivo	Resistente à oxacilina	Resistente à vancomicina
Média	57,2	66,94	66,27	74,15
Mediana	67	76	71	77
Desvio padrão	28,223	25,579	20,689	16,943
Mínimo	0	0	0	9
Máximo	102	102	95	101
Assimetria	-0,751	-1,597	-1,406	-1,56
Curtose	-0,672	1,636	2,061	3,994

Tabela 3 – Distribuição do produto de colheita, no grupo dos microrganismos 'problema'

	Frequência	Porcentagem (%)
Urina	950	50,9
Pus	205	11
Sangue	157	8,4
Secreções da via aérea	129	6,9
Líquido abdominal	119	6,4
Expetoração	99	5,3
Zaragatoa	98	5,2
Tecidos	43	2,3
Líquido sinovial/articular	15	0,8
Ponta do cateter	14	0,7
Líquido biliar	11	0,6
Líquido ascítico	10	0,5
Líquido peritoneal	6	0,3
Líquido pleural	6	0,3
Líquido cefalorraquidiano	3	0,2
Exsudado vaginal e retal	1	0,1
Fezes	1	0,1
Líquido pericárdico	1	0,1
Total	1868	100

em internamentos médicos ou cirúrgicos ou em unidades de cuidados intermédios/intensivos, enquanto que o *cluster* 4 corresponde ao grupo dos isolamentos efetuados em indivíduos do sexo feminino, mais novos e que se encontravam internados em pediatria ou eram doentes externos (consulta, hospital de dia, ambulatório etc.) (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Nos últimos anos tem sido discutida a necessidade de implementar sistemas de vigilância, nacionais e europeus devido ao aumento das resistências aos antibióticos, particularmente por microrganismos designados MP e microrganismos 'alerta', evidenciando a necessidade de identificação do seu perfil, devido ao impacto que podem ter na mortalidade, particularmente em doentes com maior vulnerabilidade e onde as possibilidades terapêuticas rápidas e eficazes são necessárias.⁹

Analisaram-se 8146 isolamentos microbiológicos, nos quais se obtiveram 23% de isolamentos de MP, esta incidência de infeção por MP é bastante superior a outros dados publicados noutros países.¹⁰

De entre as bactérias resistentes encontradas, destacam-se pela sua frequência a *E. coli* (*E. coli*), *Enterococcus*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. pneumoniae*, semelhante a resultados obtidos noutros estudos.¹¹

A causa mais comum para a resistência foi a produção de ESBL. Estas constituem um problema de saúde pública em especial devido à alta prevalência de resistências associadas a *E. coli*, um dos microrganismos 'alerta' e associado a infeções em populações vulneráveis, idosos e

Tabela 4 – Distância ao centro dos *clusters*

Final Cluster Centers	Cluster			
	1	2	3	4
Sexo	0	0	0	1
Idade	84	48	69	8
Produto	16	12	12	17
Organismo	3	3	3	3
Resistência	0	0	0	0
local	3	3	3	5

crianças.⁸ Neste estudo, embora a *E. coli* tenha aparecido com uma frequência de 27,5%, foi excluída dos restantes estudos estatísticos por não ser considerada um MP.⁴

A incidência de isolamento por MP ocorreu, na sua maioria, em doentes do sexo masculino e os MP mais frequentes foram o *Enterococcus*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Os que mais resistências apresentaram foram os *S. aureus* resistente à oxacilina e os *Enterococcus* resistente à vancomicina, tendo-se verificado que a média de idades nestes casos era superior à dos não resistentes.

A presença de MP foi identificada em doentes provenientes dos internamentos e do ambulatório, tendo-se verificado a existência de isolamentos em vários locais de origem interna e externa, o que vai ao encontro da evidência atual.¹⁰

Quanto à idade verificou-se que esta foi maior nos isolamentos de microrganismo resistente à vancomicina. Sabe-se que, idosos e recém-nascidos são mais vulneráveis,¹² o que poderá justificar o este facto.

O produto de colheita com maior incidência de MP foi a urina, o que tendo em conta a maior incidência no sexo masculino e mais idosos, levará a que se investigue a associação eventual com manipulações ou utilização de cateteres urinários.

As variáveis com maior influência na diferenciação dos *clusters* foram a idade e o produto onde se isolaram o MP, sendo o organismo isolado e o tipo de resistência as de menor influência. Assim destaca-se uma tendência num dos *clusters* num grupo de isolamentos em indivíduos do sexo masculino, mais idosos e internados em internamentos médicos, cirúrgicos e unidades de cuidados diferenciados.

A comparação dos resultados obtidos neste estudo com outras variáveis como a patologia do doente, eventuais causas de morte e duração do internamento, bem como a comparação entre hospitais com características semelhantes, no que diz respeito às valências e existência de normas de prescrição e conduta para a prescrição de antibióticos, será uma perspetiva a equacionar futuramente. Do mesmo modo a comparação a nível do país e da Europa poderá contribuir para uma análise e criação de perfis que influenciem os protocolos e estabeleçam sistema de alerta eficazes e céleres.

As infeções por MP são problemas graves em saúde pública e o desconhecimento sobre o assunto é grande.

Em Portugal há poucos estudos sobre o tema, constituindo-se o presente estudo como um contributo para a melhor identificação dos MP no país. Contudo, o facto de o estudo realizado não ter analisado as co-morbilidades prévias dos doentes e sua possível relação com a prevalência de microrganismos isolados constitui-se como uma limitação do estudo.

O facto de mais de 60% dos microrganismos identificados ter sido realizada nos serviços de internamento cirúrgicos, médicos e unidades de cuidados diferenciados vem levantar a questão de muitos destes estarem relacionados com infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS). Estas, classicamente denominadas de infeções nosocomiais, afetam cerca de 1 em cada 10 doentes admitidos no hospital. Não obstante, a transição dos cuidados de saúde prestados essencialmente por instituições de cuidados agudos para outros cenários onde estes também são prestados (cuidados domiciliários, ambulatório ou lares residenciais), cria a necessidade de recomendações aplicadas nesses ambientes, mantendo a adesão a princípios comuns da prática de controlo de infeção.¹³

Em média, um doente com infeção adquirida no hospital tem um tempo de permanência hospitalar 2,5 vezes superior, com grande aumento dos custos.¹⁴ Um grande estudo realizado em 1993 demonstrou que o aumento de dias de hospitalização nos doentes submetidos a procedimentos cirúrgicos variava entre mais três dias para a ginecologia a 19,8 dias na ortopedia.¹⁵ Este aumento irá aumentar os custos diretos e os indiretos devido aos dias de trabalho perdidos. A utilização de antibióticos de 'última geração', a necessidade de isolamento dos doentes, maior número de análises laboratoriais e de meios complementares de diagnóstico vão contribuir para o grande aumento de custos.

Por isso torna-se necessário, nas situações de quadros infecciosos identificados aquando da admissão hospitalar, a realização e colheitas microbiológicas de modo a diferenciar as infeções associadas aos cuidados de saúde das infeções adquiridas em ambulatório.

Outras limitações do presente estudo prendem-se com a dimensão da amostra e o facto de incidir unicamente nos isolamentos registados num só hospital, sendo que não se dispõe de informação quanto ao perfil terapêutico dos antibióticos da região ao longo dos anos, quer no ambulatório quer nos internamentos. A indicação da existência de protocolos de prescrição e da sua homogeneidade entre as várias unidades de saúde e das patologias e eventuais causas de morte dos doentes onde foram encontrados MP e casos de resistência poderá apontar para outros caminhos. As resistências aos antibióticos são um fator importante com impacto na morbi-mortalidade dos doentes, ao deixarem menos alternativas terapêuticas para as infeções causadas por MP, especialmente em populações

vulneráveis, obrigando à utilização de antibióticos cada vez mais potentes. A deteção precoce e a notificação laboratorial, é, pois, um dos pilares de atuação e boas práticas a garantir, em associação a uma melhor informação dos clínicos e à implementação de protocolos.

CONCLUSÃO

A deteção, monitorização e controlo da resistência aos antibióticos são um problema *major* em todo o mundo, desde a descoberta e disseminação dos MP especialmente o *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) e o *Enterococcus* resistente à vancomicina.

O conhecimento da realidade de cada unidade hospitalar (e do território nacional no seu global) é o primeiro passo a dar na luta contra as infeções associadas aos MP.

A realidade da unidade hospitalar estudada revela-se preocupante pela alta incidência de MP (23%) e demonstrou uma tendência de isolamentos dos MP em indivíduos do sexo masculino, mais idosos e internados em internamentos médicos, cirúrgicos e unidades de cuidados diferenciados. Este trabalho é um alerta para a necessidade de se analisarem os perfis das unidades de saúde e dos doentes e de se criarem protocolos e sistemas de alerta eficazes e céleres no controlo e prevenção das infeções por MP.

No futuro, estudos na área deverão avaliar a relação entre a presença de co-morbilidades, tais como presença de neoplasias, diabetes e doenças auto-imunes, bem como o perfil de prescrição de antibióticos, com a prevalência de MP.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à unidade hospitalar que permitiu a consulta, análise e tratamento dos dados.

PROTECÇÃO DE PESSOAS E ANIMAIS

Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS

Os autores declaram ter seguido os protocolos do seu centro de trabalho acerca da publicação de dados.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores negam conflitos de interesse.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Este trabalho não recebeu qualquer tipo de suporte financeiro de nenhuma entidade no domínio público ou privado.

REFERÊNCIAS

1. Vincent CA. Patient safety. 2nd ed. Oxford: John Wiley and Sons; 2010.
2. Serranheira F, Uva AD, Espírito-Santo J. Estratégia de avaliação do risco de lesões músculo-esqueléticas de membros superiores ligadas ao trabalho aplicada na indústria de abate e desmancha de carne em Portugal. Rev Bras Saúde Ocup. 2009;34:58-66.
3. Diekema DJ, Saubolle MA. Clinical microbiology and infection

- prevention. *J Clin Microbiol.* 2011;49:S57–60.
4. George FH. Vigilância epidemiológica das resistências aos antimicrobianos categoria — INSA. Norma da Direção-Geral da Saúde 2013 [consultado em 2018 abr 17]. Disponível em: <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Paginas/AntibioticosResi.aspx>.
 5. Zielińska-Jankiewicz K, Kozajda A, Piotrowska M, Szadkowska-Stanczyk I. Microbiological contamination with moulds in work environment. *Ann Agric Environ Med.* 2008;15:71–8.
 6. Rintala H, Pitkäranta M, Toivola M, Paulin L, Nevalainen A. Diversity and seasonal dynamics of bacterial community in indoor environment. *BMC Microbiol.* 2008;8:1–13.
 7. Ducl G, Fabry J, Nicolle L, Girard R, Perraud M, Prüss A, et al. Prevention of hospital-acquired infections. 2nd ed. Malta: World Health Organization; 2002.
 8. Marôco J. Análise estatística com o SPSS Statistics. 6^a ed. Pêro Pinheiro: ReportNumber; 2014.
 9. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015.
 10. Garcia LM, César ID, Braga CA, Souza GA, Mota EC. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. *Rev Epidemiol Control Infecção.* 2013;3:45–9.
 11. Oliveira AC de, Kovner CT, Silva RS da. Nosocomial Infection in ver Intensive Care Unit in a Brazilian University Hospital. *Rev Lat Am Enferm.* 2010;18:233–9.
 12. Levy CE. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Salvador: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2004.
 13. Boavista A, Ferreira D, Ramos M. Programa nacional de prevenção e controlo da infecção associada aos cuidados de saúde. Lisboa: Direção Geral de Saúde; 2007.
 14. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Caring Crit Ill Patient.* 2009;302:2323–9.
 15. Coellot R, Glenister H, Fererest J, Bartlett C, Leigh D, Sedgwick J, et al. The cost of infection in surgical patients: a case-control study. *J Hosp Infect.* 1993;25:239–50.