

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS  
GERAIS - *CAMPUS* BAMBUÍ  
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Rafael Cunha Reis Lage

**PREVALÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE-POSITIVOS E NEGATIVOS EM  
SUPERFÍCIES DE QUARTOS HOSPITALARES: VALIDAÇÃO DO MEIO ÁGAR  
SAL MANITOL COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO AMBIENTAL**

BambuÍ-MG

2025

RAFAEL CUNHA REIS LAGE

**PREVALÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE-POSITIVOS E NEGATIVOS EM SUPERFÍCIES DE QUARTOS HOSPITALARES: VALIDAÇÃO DO MEIO ÁGAR SAL MANITOL COMO FERRAMENTA DE MONITORAMENTO AMBIENTAL**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFMG – *Campus* Bambuí como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Dutra Melo

Coorientadora: Pesquisadora-convidada Talita Gomes da Costa

Bambuí-MG

2025

---

Catálogo na Fonte Biblioteca IFMG - *Campus Bambuí*

---

L174p Lage, Rafael Cunha Reis.  
Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e negativos em superfícies de quartos hospitalares: validação do meio Ágar Sal Manitol como ferramenta de monitoramento ambiental [manuscrito] / Rafael Cunha Reis Lage – 2026.  
72 f. : il. ; color.

Orientador: Anderson Dutra Melo. Coorientadora: Talita Gomes da Costa.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Minas Gerais. *Campus Bambuí*.

1. *Staphylococcus aureus*. 2. *Staphylococcus* coagulase-negativos. 3. Mannitol Salt Agar. 4. Infecção hospitalar. 5. Diagnóstico microbiológico. I. Melo, Anderson Dutra. II. Costa, Talita Gomes da. III. Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus Bambuí*. IV. Título.

CDD 616.0145



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS  
Campus Bambuí  
Diretoria de Ensino  
Departamento de Ciências e Linguagens  
Faz. Varginha - Rodovia Bambuí/Medeiros - Km 05 - Caixa Postal 05 - CEP 38900-000 - Bambuí - MG  
37 3431 4900 - www.ifmg.edu.br

## ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 16 dias do mês de janeiro do ano de 2026, às 18h, nas dependências do IFMG - *Campus Bambuí*, reuniu-se a banca examinadora presidida por mim, Anderson Dutra de Melo e demais membros, Lívia Cristina Santos, Talita Gomes da Costa e Tatiana Nogueira Amaral. Nesta ocasião o discente Rafael Cunha Reis Lage do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, com registro acadêmico de número 0072961 do IFMG – *Campus Bambuí*, defendeu seu Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado "Prevalência de *Staphylococcus* Coagulase-Positivos e Negativos em Superfícies de Quartos Hospitalares: Validação do Meio Ágar Sal Manitol Como Ferramenta de Monitoramento Ambiental" e foi APROVADO, com 92 (noventa e dois) pontos.

Este resultado reflete o cumprimento parcial dos critérios de avaliação estabelecidos pelo curso e reconhece os esforços e a dedicação do discente e seu orientador no desenvolvimento do seu TCC. O lançamento da nota e o consequente encerramento do respectivo processo está condicionado ao cumprimento dos procedimentos pós- defesa conforme previstos nos regulamentos vigentes. Tais procedimentos pós- defesa devem ser finalizados dentro do prazo limite de 14 dias, a contar da data desta ata. O descumprimento destes procedimentos até a data estipulada implicará em atribuição de nota 0 (zero) e consequente reprovação.

A sessão foi encerrada às 20h . Para constar, eu, Anderson Dutra de Melo, redigi a presente ata que após lida publicamente, foi aprovada e assinada pelo discente e membros da banca examinadora.

Bambuí, 19 de dezembro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Anderson Dutra de Melo, Professor**, em 19/01/2026, às 14:00, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Talita Gomes da Costa, Usuário Externo**, em 19/01/2026, às 14:17, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Tatiana Nogueira Amaral, Usuário Externo**, em 29/01/2026, às 18:09, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **RAFAEL CUNHA REIS LAGE, Usuário Externo**, em 29/01/2026, às 18:18, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Lívia Cristina Santos, Técnica de Laboratório**, em 29/01/2026, às 18:53, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadocs> informando o código verificador **2568409** e o código CRC **326642DE**.

23209.005026/2025-70	2568409v1
----------------------	-----------

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todo o corpo docente do Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* Bambuí, em especial aos professores do curso de Ciências Biológicas, que contribuíram de forma significativa para minha formação acadêmica e profissional, ao longo da graduação. Agradeço, de maneira especial, ao Prof. Dr. Anderson Dutra Melo, meu orientador, pela dedicação, paciência, confiança e pelos valiosos ensinamentos transmitidos durante o desenvolvimento deste trabalho, fundamentais para a construção do conhecimento científico e meu crescimento acadêmico. Estendo meus agradecimentos à coorientadora, pesquisadora-convidada, Talita Gomes da Costa, pelas contribuições, disponibilidade e apoio ao longo da pesquisa.

Aos técnicos de laboratório do IFMG, agradeço pelo suporte técnico, pela disponibilidade e pelo auxílio constante nas atividades laboratoriais, essenciais para a execução deste estudo. Aos meus colegas de laboratório, agradeço pela parceria, companheirismo e trocas de conhecimento que tornaram essa trajetória mais leve e enriquecedora. À equipe do Hospital Nossa Senhora do Brasil, agradeço a colaboração, receptividade e apoio durante a realização das coletas e demais etapas da pesquisa, possibilitando a concretização deste trabalho.

À minha família, em especial à minha mãe, ao meu pai, à minha irmã e aos meus sobrinhos, agradeço o amor, incentivo, e apoio, pois sempre foram minha base em todos os momentos dessa caminhada acadêmica. Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste Trabalho de Conclusão de Curso e para a conclusão de mais uma importante etapa da minha formação.

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Placas Petri de ágar sal manitol com crescimento bacteriano. ....	35
Figura 2 - Distribuição proporcional da carga microbiana total por quarto avaliado.....	46
Figura 3 - Distribuição total de colônias por ponto amostral. ....	48
Figura 4 - Distribuição da carga microbiana entre quartos ocupados e ambiente pós-limpeza. .....	49
Figura 5 - Teste de produção da catalase.....	51
Figura 6 - Teste de coloração de Gram.....	52
Figura 7 - Teste de coagulase em tubo. ....	53
Figura 8 - Comparação de isolados coagulase-positivos e negativos entre quartos.....	54
Figura 9 - Performance do meio MSA. ....	56
Figura 10 - Distribuição da carga microbiana por ponto amostral nos quartos avaliados. ....	58
Figura 11 - Comparação da carga microbiana total de colônias amarelas e rosa entre as diferentes patologias. ....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Carga microbiana de <i>Staphylococcus</i> (UFC/cm <sup>2</sup> ) por ponto amostral e tipo de colônia nos quatro quartos avaliados.....	45
Tabela 2 - Carga microbiana média por tipo de superfície nos quartos ocupados. ....	47
Tabela 3 - Distribuição dos resultados do teste da coagulase por quarto e morfotipo de colônia. ....	53
Tabela 4 - Desempenho diagnóstico do meio Mannitol Salt Agar em comparação ao teste da coagulase. ....	57
Tabela 5 - Tempo de ocupação e carga microbiana total nos quartos ocupados.....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP - Adenosina Trifosfato

BHI - Brain Heart Infusion

CFU - Colony Forming Units

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

ECN - Estafilococos Coagulase-Negativos

IC 95% - Intervalo de Confiança de 95%

IFMG - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais

IRAS - Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

MRSA - *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina

MSA - Mannitol Salt Agar

PBP2a - Proteína de Ligação à Penicilina 2a

PVL - Leucocidina de Panton-Valentine

SCCmec - Staphylococcal Cassette Chromosome mec

TCC - Trabalho de Conclusão de Curso

TSST-1 - Toxina-1 da Síndrome do Choque Tóxico

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

VPN - Valor Preditivo Negativo

VPP - Valor Preditivo Positivo

VRE - Enterococcus Resistente à Vancomicina

## RESUMO

LAGE, Rafael Cunha Reis. **Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e negativos em superfícies de quartos hospitalares: validação do meio Ágar Sal Manitol como ferramenta de monitoramento ambiental.** Bambuí: IFMG *campus* Bambuí, 2025.

Os *Staphylococcus* são microrganismos de grande relevância em infecções hospitalares, especialmente aquelas associadas a dispositivos médicos e superfícies ambientais. A correta identificação de *Staphylococcus aureus* é crucial para o manejo clínico adequado e para o controle da contaminação ambiental. Este estudo propôs-se a comparar a prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos em superfícies de quartos hospitalares ocupados e desocupados, e a avaliar a eficácia do meio de cultura Mannitol Salt Agar (MSA) como método de triagem presuntiva para *S. aureus*. Trata-se de um estudo observacional transversal que analisou amostras de seis pontos amostrais (travesseiro face frontal e posterior, colchão região cefálica e podálica, piso próximo ao leito e piso próximo à porta) em quatro quartos hospitalares, sendo três ocupados e um pós-limpeza. Os isolados foram cultivados em MSA e submetidos a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/cm<sup>2</sup>), seguida de confirmação através de coloração de Gram, teste da catalase e teste da coagulase em tubo. A performance do MSA foi avaliada por meio do cálculo de sensibilidade, especificidade, valores preditivos e índice Kappa, utilizando o teste da coagulase como padrão-ouro. Foram recuperadas aproximadamente 2.231 colônias totais, das quais 123 isolados confirmados como *Staphylococcus* foram submetidos aos testes confirmatórios. Os resultados demonstraram distribuição equilibrada entre *Staphylococcus* coagulase-positivos (51,2%) e coagulase-negativos (48,8%). Os pontos de piso concentraram 63,8% da carga microbiana total, enquanto o quarto pós-limpeza apresentou redução da contaminação ( $p < 0,05$ ). O MSA demonstrou sensibilidade de 74,6%, especificidade de 76,7%, valor preditivo positivo de 77,0% e valor preditivo negativo de 74,2%, com concordância moderada (Kappa = 0,51) em relação ao teste da coagulase. Os resultados visam contribuir para a vigilância microbiológica hospitalar e validam o MSA como ferramenta de triagem custo-efetiva, embora confirmação adicional seja necessária para identificação definitiva.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus* Coagulase-Negativos. Mannitol Salt Agar. Infecção Hospitalar. Diagnóstico Microbiológico. Contaminação Ambiental

## ABSTRACT

LAGE, Rafael Cunha Reis. **Prevalence of coagulase-positive and coagulase-negative Staphylococci on hospital room surfaces: validation of Mannitol Salt Agar as an environmental monitoring tool.** Bambuí, MG. X. IFMG – Bambuí *Campus*, 2025.

*Staphylococcus* are microorganisms of great relevance in healthcare-associated infections, especially those related to medical devices and environmental surfaces. The correct identification of *Staphylococcus aureus* is crucial for appropriate clinical management and environmental contamination control. This study aimed to compare the prevalence of coagulase-positive and coagulase-negative *Staphylococcus* on surfaces of occupied and unoccupied hospital rooms, and to evaluate the effectiveness of Mannitol Salt Agar (MSA) culture medium as a presumptive screening method for *S. aureus*. This is a cross-sectional observational study that analyzed samples from six sampling points (pillow front and back face, mattress cephalic and podalic region, floor near the bed and floor near the door) in four hospital rooms, three occupied and one post-cleaning. Isolates were cultured on MSA and subjected to Colony Forming Units (CFU/cm<sup>2</sup>) counting, followed by confirmation through Gram staining, catalase test and tube coagulase test. MSA performance was evaluated through calculation of sensitivity, specificity, predictive values and Kappa index, using the coagulase test as gold standard. Approximately 2,231 total colonies were recovered, of which 123 isolates confirmed as *Staphylococcus* were subjected to confirmatory tests. Results demonstrated balanced distribution between coagulase-positive (51.2%) and coagulase-negative (48.8%) *Staphylococcus*. Floor sampling points concentrated 63.8% of total microbial load, while the post-cleaning room showed significant contamination reduction ( $p < 0.05$ ). MSA demonstrated sensitivity of 74.6%, specificity of 76.7%, positive predictive value of 77.0% and negative predictive value of 74.2%, with moderate agreement (Kappa = 0.51) in relation to coagulase test. Results aim to contribute to hospital microbiological surveillance and validate MSA as a cost-effective screening tool, although additional confirmation is necessary for definitive identification.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*. Coagulase-Negative *Staphylococcus*. Mannitol Salt Agar. Healthcare-Associated Infection. Microbiological Diagnosis. Environmental Contamination.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. OBJETIVOS .....	17
2.1. Objetivo Geral .....	17
2.2. Objetivo Específico .....	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO .....	18
3.1. Caracterização microbiológica do ambiente hospitalar .....	18
3.2. Fontes de contaminação .....	18
3.3. Conceito de biocarga e sua relação com infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) .....	19
3.4. Superfícies hospitalares como reservatórios microbianos .....	20
3.4.1. Superfícies de alto contato .....	20
3.4.2. Superfícies próximas ao paciente .....	20
3.4.3. Pisos hospitalares .....	21
3.5. Importância do monitoramento ambiental em hospitais .....	22
3.5.1. Relação entre contaminação ambiental e IRAS .....	22
3.5.2. Indicadores de qualidade da limpeza hospitalar .....	22
3.5.3. Protocolos de vigilância microbiológica ambiental .....	23
3.6. Práticas de limpeza e desinfecção hospitalar .....	24
3.6.1. Limpeza concorrente versus terminal .....	24
3.6.2. Agentes químicos utilizados .....	25
3.6.3. Frequência e técnicas .....	26
3.7. Gênero <i>Staphylococcus</i> : aspectos gerais .....	26
3.7.1. Classificação taxonômica e características .....	26
3.7.2. Metabolismo e crescimento .....	27
3.8. <i>Staphylococcus</i> coagulase-positivos .....	28
3.8.1. Classificação e principais espécies .....	28
3.8.2. Fatores de virulência .....	28
3.8.3. Resistência antimicrobiana: MRSA .....	29
3.8.4. Prevalência em ambientes hospitalares .....	30
3.9. <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos (ECN) .....	31
3.9.1. Principais espécies e microbiota normal .....	31

3.9.2.	<i>Papel como patógenos oportunistas</i> .....	31
3.9.3.	<i>Capacidade de formação de biofilme</i> .....	32
3.9.4.	<i>Resistência antimicrobiana em ECN</i> .....	33
3.10.	<b>Mannitol Salt Agar (MSA): composição e fundamentos</b> .....	33
3.10.1.	<i>Composição do meio</i> .....	33
3.10.2.	<i>Princípios de seletividade</i> .....	34
3.10.3.	<i>Princípios de diferenciação</i> .....	34
3.10.4.	<i>Limitações do meio</i> .....	36
4.	<b>METODOLOGIA</b> .....	37
4.1.	<b>Tipo de estudo</b> .....	37
4.2.	<b>Local do estudo</b> .....	37
4.3.	<b>Pontos amostrais</b> .....	37
4.4.	<b>Características dos quartos avaliados</b> .....	38
4.5.	<b>Procedimento de coleta</b> .....	38
4.5.1.	<i>Coletas em quartos ocupados</i> .....	38
4.6.	<b>Técnica de coleta</b> .....	38
4.6.1.	<i>Materiais para coleta</i> .....	38
4.6.2.	<i>Procedimento de coleta</i> .....	39
4.7.	<b>Processamento das amostras</b> .....	39
4.7.1.	<i>Materiais para processamento</i> .....	39
4.7.2.	<i>Preparo das amostras</i> .....	39
4.7.3.	<i>Semeadura e incubação</i> .....	40
4.8.	<b>Análise microbiológica</b> .....	40
4.8.1.	<i>Materiais para análise microbiológica</i> .....	40
4.8.2.	<i>Leitura e isolamento primário</i> .....	40
4.8.3.	<i>Testes confirmatórios</i> .....	41
4.8.4.	<i>Congelamento dos isolados</i> .....	43
4.9.	<b>Análise estatística</b> .....	43
5.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
5.1.	<b>Caracterização geral das amostras coletadas</b> .....	45
5.2.	<b>Análise quantitativa da carga microbiana por tipo de superfície</b> .....	47
5.3.	<b>Recuperação e quantificação de colônias em meio MSA</b> .....	47
5.4.	<b>Comparação entre quartos ocupados e quarto limpo</b> .....	49

<b>5.5. Diferenciação fenotípica dos <i>Staphylococcus</i>: Testes confirmatórios (catalase, Gram e coagulase).....</b>	<b>50</b>
<b>5.5.1. Teste da catalase .....</b>	<b>50</b>
<b>5.5.2. Coloração de Gram .....</b>	<b>51</b>
<b>5.5.3. Teste da coagulase .....</b>	<b>52</b>
<b>5.6. Prevalência de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positivos e negativos .....</b>	<b>54</b>
<b>5.7. Avaliação do desempenho do meio Mannitol Salt Agar: Sensibilidade e Especificidade .....</b>	<b>56</b>
<b>5.8. Identificação de pontos críticos de contaminação .....</b>	<b>58</b>
<b>5.9. Relação entre tempo de ocupação e carga microbiana .....</b>	<b>60</b>
<b>5.10. Análise da contaminação por patologia.....</b>	<b>61</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) representam um dos desafios para a segurança do paciente em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024a). A Organização Mundial da Saúde estima que centenas de milhões de pacientes são afetados a cada ano por infecções adquiridas durante o cuidado hospitalar, resultando em prolongamento do tempo de internação, aumento dos custos assistenciais e elevação das taxas de morbimortalidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024a). O ambiente hospitalar constitui um ecossistema onde microrganismos patogênicos encontram condições para sua persistência e disseminação, estabelecendo-se como reservatórios que perpetuam ciclos de transmissão entre pacientes, profissionais de saúde e visitantes (ODOYO *et al.*, 2023).

Nos últimos anos, a compreensão sobre o papel das superfícies inanimadas na transmissão de patógenos hospitalares evoluiu de forma considerável. Superfícies de alto contato, como grades de leito, colchões, travesseiros e pisos próximos ao paciente, são reconhecidas como pontos críticos na epidemiologia das IRAS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). A contaminação destas superfícies não representa apenas um indicador da qualidade dos processos de limpeza e desinfecção, mas configura-se como um fator de risco para a ocorrência de infecções nosocomiais (DANCER, 2023).

Entre os microrganismos hospitalares, *Staphylococcus aureus*, representante dos coagulase-positivos, destaca-se como um dos patógenos mais prevalentes, sendo responsável por manifestações clínicas que variam desde infecções de pele até quadros invasivos como bacteremias, endocardites e pneumonias (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025). A capacidade deste microrganismo de produzir fatores de virulência e desenvolver resistência a antimicrobianos, incluindo a meticilina, consolidaram o *S. aureus* como uma das ameaças à saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024a).

Por outro lado, os *Staphylococcus* coagulase-negativos (ECN), antes considerados comensais da pele e mucosas humanas, surgiram, nas últimas décadas, como patógenos oportunistas. Espécies como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus hominis* tornaram-se agentes etiológicos de infecções associadas a dispositivos médicos implantáveis, bacteremias em pacientes imunocomprometidos e infecções em unidades de terapia intensiva neonatal (MENEZES *et al.*, 2022). A capacidade dos ECN de formar biofilmes, em superfícies, confere a esses microrganismos resistência aos processos de

limpeza, desinfecção e à ação de antimicrobianos, favorecendo sua persistência no ambiente hospitalar (MICHALIK *et al.*, 2020).

A detecção e identificação de *Staphylococcus*, em ambientes hospitalares, requerem métodos diagnósticos que equilibrem confiabilidade, rapidez e viabilidade econômica. O meio de cultura Mannitol Salt Agar (MSA) consolidou-se como ferramenta de triagem presuntiva para *S. aureus*. No entanto, sua especificidade apresenta limitações, uma vez que algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos, como *S. xylosus* e *S. saprophyticus*, também são capazes de fermentar o manitol, podendo gerar resultados falso-positivos (SHITTU *et al.*, 2006; AYENI *et al.*, 2017). Além disso, a prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos, em diferentes superfícies hospitalares, permanece caracterizada de forma incompleta, em particular, em hospitais de médio porte no contexto brasileiro, onde os recursos laboratoriais são limitados com frequência (DRESCH *et al.*, 2018).

A relevância deste estudo, do ponto de vista epidemiológico, fornecerá dados locorregionais sobre a prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos em ambientes hospitalares, na região de Bambuí, Minas Gerais. A caracterização do perfil microbiológico local é importante para a implementação de estratégias de controle de infecção, baseadas em evidências contextualizadas à realidade da região, considerando que padrões de colonização e resistência antimicrobiana podem variar de forma significativa entre diferentes regiões geográficas e entre instituições com características estruturais distintas (PETERS *et al.*, 2022).

Logo, levando em consideração a presença de *Staphylococcus* nas superfícies hospitalares e as condições que intermediam o processo de internação, permanência e alta dos pacientes, levanta-se o questionamento sobre qual é a relação entre o tempo de internação e o motivo de internação, com a presença e densidade de *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos em superfícies de alto contato. Adicionalmente, questiona-se qual é a eficácia dos protocolos de limpeza e desinfecção, implementados na instituição, para redução da carga microbiana ambiental e qual é o desempenho diagnóstico do meio MSA como ferramenta de triagem presuntiva para *S. aureus*, em amostras ambientais hospitalares.

Provavelmente, a prevalência e diversidade de *Staphylococcus* devem sofrer alterações relacionadas ao tempo de permanência dos pacientes nos quartos, ao tipo de patologia que motivou a internação e à intensidade do contato com as superfícies, mediadas pela competição microbiana, pelas variações nas condições de higienização e pela dinâmica de colonização que se estabelece de forma progressiva durante o período de internação. Da mesma forma, é possível que a acurácia do MSA como método presuntivo seja influenciada pela

complexidade da microbiota ambiental hospitalar, onde a presença de ECN fermentadores de manitol poderia resultar em taxas de falso-positivos superiores àquelas observadas em amostras clínicas, comprometendo sua especificidade diagnóstica.

Compreender estas relações e validar as ferramentas disponíveis possibilita correlações mais precisas entre vigilância ambiental, riscos de transmissão e efetividade das medidas de controle, contribuindo para uma otimização dos protocolos institucionais e para a segurança dos pacientes assistidos em hospitais de médio porte, no futuro.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Comparar o perfil de *Staphylococcus* Coagulase-Positivos e Negativos isolados de diferentes superfícies de quartos hospitalares ocupados e desocupados, avaliando a eficiência do meio Mannitol Salt Agar como ferramenta de isolamento e identificação presuntiva.

### 2.2. Objetivo Específico

- Quantificar a carga microbiana de *Staphylococcus* em diferentes pontos amostrais (travesseiros, colchão, piso) de quartos hospitalares ocupados;
- Comparar a prevalência de *Staphylococcus* entre quartos ocupados por pacientes e quartos após processo de limpeza/desocupados;
- Diferenciar fenotipicamente isolados de *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos, através dos testes de catalase, Gram e coagulase em tubo;
- Avaliar a sensibilidade e especificidade do meio Mannitol Salt Agar na detecção presuntiva de *Staphylococcus aureus*, em amostras ambientais;
- Identificar os pontos amostrais com maior contaminação por *Staphylococcus* potencialmente patogênicos;
- Correlacionar o tempo de ocupação do leito com a carga microbiana recuperada nas diferentes superfícies avaliadas;
- Analisar possível relação entre o motivo da internação do paciente com a carga microbiana.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. Caracterização microbiológica do ambiente hospitalar

O ambiente hospitalar abriga uma diversidade microbiana complexa, constituída por bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. Esta composição heterogênea representa um desafio constante para o controle de infecções e manutenção da segurança dos pacientes (ODOYO *et al.*, 2023).

Entre os microrganismos Gram-positivos de maior relevância clínica, os *Staphylococcus* ocupam posição de destaque, com ênfase em *Staphylococcus aureus* e nos *Staphylococcus* Coagulase-Negativos (ECN). Estes agentes colonizam superfícies e equipamentos médicos com elevada frequência, conforme documentado por Menezes e colaboradores (2022). A presença ubíqua desses patógenos no ambiente hospitalar foi evidenciada por Odoyo e colaboradores (2023), que identificaram *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) em diversos departamentos hospitalares, demonstrando a ampla distribuição geográfica deste microrganismo dentro das instituições de saúde.

As bactérias Gram-negativas constituem outro grupo de grande importância epidemiológica neste contexto. Odoyo e colaboradores (2023) detectaram Enterobacteriaceae e *Acinetobacter* spp. multirresistentes em superfícies hospitalares, demonstrando o papel do ambiente como reservatório desses patógenos. Este achado foi complementado pelo trabalho de Pochtovyi e colaboradores (2021), que ampliaram o entendimento ao identificar DNA de *Pseudomonas aeruginosa* e de outros bacilos Gram-negativos em diversas superfícies durante o contexto pandêmico. Estes resultados reforçam a necessidade de vigilância contínua da contaminação ambiental, em especial em períodos de maior vulnerabilidade dos sistemas de saúde.

#### 3.2. Fontes de contaminação

As fontes de contaminação no ambiente hospitalar são múltiplas e inter-relacionadas, formando uma rede complexa de transmissão microbiana. Pacientes colonizados ou infectados representam fontes primárias de contaminação, conforme demonstrado por Kurashige, Oie e Furukawa (2016), em relação ao MRSA. Esses autores observaram a disseminação do microrganismo para superfícies próximas ao leito, estabelecendo um padrão de contaminação radial a partir do paciente-fonte.

Os profissionais de saúde atuam como vetores de transmissão através do contato direto com superfícies contaminadas. Bhatta e colaboradores (2018) destacaram a importância das mãos como veículo de disseminação de patógenos a partir de objetos de uso frequente. Essa via de transmissão torna-se notável quando se considera a alta frequência de contatos que os profissionais estabelecem com diferentes superfícies e pacientes, durante suas atividades assistenciais.

O ar hospitalar representa outra fonte relevante de contaminação ambiental. Menezes e colaboradores (2022) investigaram de forma simultânea superfícies inanimadas e o ar em unidade de terapia intensiva neonatal, identificando espécies multirresistentes de *Staphylococcus* em ambas as matrizes. Esta observação reforça a necessidade de abordagens integradas de controle ambiental que considere as múltiplas vias de transmissão microbiana, reconhecendo que a contaminação não se restringe a superfícies tocadas, mas pode ocorrer também por via aérea.

### **3.3. Conceito de biocarga e sua relação com infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)**

O conceito de biocarga refere-se à quantidade total de microrganismos viáveis, presentes em determinada superfície ou ambiente. De acordo com Teixeira (2020), uma biocarga ambiental elevada está associada ao aumento do risco de IRAS, uma vez que superfícies contaminadas atuam como reservatórios persistentes de patógenos. Essa associação estabelece uma relação direta entre a carga microbiana ambiental e os desfechos clínicos dos pacientes hospitalizados.

Hamed e colaboradores (2024) demonstraram, através de ensaio clínico, que a redução da biocarga em superfícies de unidades de cuidados críticos, obtida por meio de protocolos intensificados de limpeza, correlaciona-se com a diminuição da contaminação bacteriana ambiental. Este achado fornece evidência objetiva de que intervenções direcionadas podem modificar o panorama microbiológico do ambiente hospitalar, com potencial impacto sobre a incidência de infecções.

Peters e colaboradores (2022) consolidaram evidências através de revisão sistemática, indicando que intervenções de higiene ambiental impactam de forma direta na colonização de pacientes e na incidência de IRAS. Os autores ressaltam que a manutenção de níveis aceitáveis de biocarga constitui uma estratégia fundamental para a prevenção e controle de infecções no ambiente hospitalar. Esta perspectiva integra o controle ambiental como

componente essencial dos programas de prevenção de IRAS, superando a visão tradicional que prioriza apenas medidas de precaução relacionadas ao contato direto com pacientes.

### **3.4. Superfícies hospitalares como reservatórios microbianos**

#### ***3.4.1. Superfícies de alto contato***

Superfícies hospitalares constituem reservatórios de microrganismos devido ao contato frequente com as mãos de profissionais de saúde, visitantes e pacientes, bem como pela reutilização de materiais como panos e águas de limpeza. Esse padrão de uso cria oportunidades contínuas para deposição e transferência de microrganismos (FAGGION *et al.*, 2023).

As superfícies de alto contato, ou *high-touch surfaces*, incluem grades de cama, controles remotos de televisão, botões de campainha, mesas auxiliares, maçanetas, interruptores de luz e equipamentos médicos portáteis, cujas superfícies caracterizam-se pela elevada frequência de manipulação por diferentes indivíduos ao longo do dia, criando múltiplas oportunidades de contaminação cruzada (FAGGION *et al.*, 2023).

Peters e colaboradores (2022) analisaram de forma sistemática o impacto de intervenções de higiene ambiental em superfícies de alto contato, estabelecendo relação entre contaminação dessas superfícies e colonização de pacientes. Odoyo e colaboradores (2023) realizaram amostragem sistemática dessas superfícies em diversos departamentos hospitalares, isolando bactérias multirresistentes como MRSA, *Klebsiella* e *Acinetobacter*. Estes achados evidenciam o papel dessas superfícies como fonte de risco para IRAS.

A frequência de toque cria ciclos contínuos de contaminação-transmissão-recontaminação. Estudos observacionais demonstram que profissionais de saúde tocam em média 10 a 20 superfícies, durante um único episódio de cuidado ao paciente (RIGOTTI *et al.*, 2015). Esta constatação ressalta a magnitude do desafio representado pelo controle da contaminação de superfícies de alto contato, uma vez que cada toque representa uma oportunidade potencial de transferência microbiana.

#### ***3.4.2. Superfícies próximas ao paciente***

Superfícies em contato direto ou em proximidade imediata com o paciente apresentam cargas bacterianas elevadas, devido à exposição constante a microrganismos provenientes da pele, mucosas e secreções. Essa proximidade estabelece um padrão de contaminação intenso e contínuo, diferenciando essas superfícies daquelas localizadas em áreas mais distantes do leito (KURASHIGE; OIE; FURUKAWA, 2016).

Kurashige, Oie e Furukawa (2016) mensuraram a contaminação por MRSA em superfícies de quartos de pacientes colonizados ou infectados, com quantificação expressa em UFC/100 cm<sup>2</sup>. Os resultados demonstraram gradiente de contaminação relacionado à distância do paciente, com maiores cargas microbianas nas superfícies mais próximas.

Travesseiros, colchões, lençóis, grades laterais de cama e mesas de alimentação constituem superfícies com contato prolongado e íntimo com os pacientes, mas que são, com frequência, negligenciadas nos protocolos de limpeza concorrente. A face frontal de travesseiros, em contato direto com mucosas oronasais, apresenta carga microbiana superior a face posterior. De forma similar, regiões cefálicas de colchões acumulam maior biocarga que regiões podálicas, devido à proximidade com vias aéreas e secreções respiratórias (SHITTU *et al.*, 2006; AYENI *et al.*, 2017).

Oliveira de Souza e colaboradores (2014) descreveram contaminação por *Staphylococcus* coagulase-negativa e coagulase-positiva em bancadas, mesas de medicação e mesas cirúrgicas. As superfícies próximas ao paciente em áreas críticas funcionam como reservatórios persistentes, mantendo populações microbianas viáveis por períodos prolongados e servindo como fonte potencial de contaminação cruzada.

### **3.4.3. Pisos hospitalares**

Embora sejam consideradas superfícies de baixo risco, os pisos hospitalares desempenham um papel na disseminação microbiana através de mecanismos indiretos. Oliveira de Souza e colaboradores (2014) identificaram contaminação por *Staphylococcus* em pisos de salas cirúrgicas, demonstrando a presença de patógenos, mesmo em áreas de acesso controlado e sob protocolos rigorosos de limpeza. Dresch e colaboradores (2018) confirmaram esses achados, através de revisão sistemática da literatura sobre contaminação de superfícies em unidades de terapia intensiva e salas cirúrgicas.

Pisos próximos ao leito do paciente apresentam maior contaminação que áreas distantes, devido à queda de partículas e respingos de fluidos corporais. Este padrão espacial de contaminação reflete a deposição gravitacional de material biológico e a maior concentração de atividades assistenciais nas proximidades do leito (DE PAULA *et al.*, 2024).

A movimentação de profissionais, equipamentos e dispositivos médicos sobre pisos contaminados cria rotas de disseminação microbiana horizontal através das rodas de macas, cadeiras de rodas, carrinhos de medicação e suportes de soro. Estes mecanismos de

transferência podem transportar microrganismos de áreas contaminadas para áreas limpas, estabelecendo novos focos de contaminação.

A limpeza inadequada ou o uso de água e materiais contaminados resulta na formação de biofilmes, em especial em junções de rodapés e cantos de difícil acesso (COSTA *et al.*, 2019). Esses biofilmes proporcionam proteção adicional aos microrganismos, dificultando sua remoção e permitindo sua persistência no ambiente por períodos prolongados. Áreas próximas a portas, de maior circulação, acumulam cargas microbianas superiores a regiões periféricas dos quartos, refletindo o padrão de tráfego e uso desses espaços (DE PAULA *et al.*, 2024).

### **3.5. Importância do monitoramento ambiental em hospitais**

#### ***3.5.1. Relação entre contaminação ambiental e IRAS***

As infecções associadas à assistência à saúde podem resultar de infecção com a flora do próprio paciente, cuja flora pode mudar, devido à colonização com patógenos hospitalares através das mãos dos profissionais de saúde ou do ambiente hospitalar. Odoyo e colaboradores (2023) evidenciaram que a contaminação ambiental em múltiplos departamentos hospitalares com bactérias multirresistentes representa risco elevado para o desenvolvimento de IRAS.

Pacientes admitidos em quartos ocupados por indivíduos colonizados ou infectados apresentam risco aumentado de adquirir os mesmos patógenos, fenômeno documentado para MRSA, *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE), *Acinetobacter* e *Clostridioides difficile*. Este achado epidemiológico fornece evidência robusta do papel do ambiente na transmissão de patógenos hospitalares, superando o conceito tradicional de que a transmissão ocorre de forma predominante através do contato direto entre pessoas (PETERS *et al.*, 2022).

A carga microbiana ambiental correlaciona-se de forma direta com taxas de colonização e infecção de pacientes. Esse fenômeno ocorre através do aumento da pressão de colonização sobre pacientes susceptíveis, em especial aqueles imunocomprometidos, com dispositivos invasivos ou submetidos a procedimentos cirúrgicos. A exposição contínua a um ambiente com alta carga microbiana aumenta a probabilidade de que microrganismos patogênicos estabeleçam colonização em sítios corporais do paciente, podendo progredir para infecção invasiva (SULEYMAN *et al.*, 2018).

#### ***3.5.2. Indicadores de qualidade da limpeza hospitalar***

Hamed e colaboradores (2024) compararam a limpeza de rotina com limpeza intensificada em unidade de terapia intensiva, utilizando a quantificação de contaminação bacteriana em superfícies como indicador de qualidade. O estudo demonstrou redução significativa da biocarga após implementação de um protocolo de limpeza intensificada, validando o uso de contagem microbiológica como métrica objetiva de desempenho das atividades de higiene ambiental.

Indicadores microbiológicos incluem contagem de UFC totais, presença de patógenos específicos (MRSA, VRE, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*) e detecção de adenosina trifosfato (ATP) como marcador de matéria orgânica residual. Cada um desses indicadores fornece informação diferente sobre o estado de limpeza das superfícies. A contagem de UFC totais avalia a carga microbiana geral, enquanto a pesquisa de patógenos específicos permite identificar a presença de microrganismos de maior relevância clínica. A detecção de ATP, por sua vez, indica a presença de material orgânico que pode servir como substrato para o crescimento microbiano (RIGOTTI *et al.*, 2015).

CrITÉRIOS de aceitabilidade variam entre instituições, com valores estabelecidos em  $< 2,5$  UFC/cm<sup>2</sup> para superfícies de alto risco e  $< 5$  UFC/cm<sup>2</sup> para superfícies de baixo risco, após limpeza terminal. Esses valores foram definidos com base em estudos que correlacionaram níveis de contaminação ambiental com risco de transmissão de patógenos e desenvolvimento de IRAS (GIOVINAZZO *et al.*, 2017).

Indicadores de processo avaliam a execução adequada dos protocolos de limpeza, incluindo cobertura de áreas definidas, tempo de contato de desinfetantes, frequência de troca de materiais de limpeza e adesão a sequências estabelecidas. A observação direta das práticas de limpeza identifica lacunas de treinamento e não conformidades de técnica, permitindo intervenções educativas direcionadas (DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

Indicadores de estrutura consideram a disponibilidade de recursos materiais, equipamentos adequados, formulação e diluição corretas de produtos químicos, e dimensionamento apropriado de equipes de limpeza. A integração de indicadores de estrutura, processo e resultado fornece uma avaliação abrangente da qualidade da higiene ambiental hospitalar, permitindo identificar pontos de melhoria em diferentes dimensões do serviço de limpeza.

### **3.5.3. Protocolos de vigilância microbiológica ambiental**

Peters e colaboradores (2022) analisaram de forma sistemática o impacto de intervenções de higiene ambiental sobre colonização de pacientes e IRAS, fornecendo evidências para o estabelecimento de protocolos de vigilância. A vigilância microbiológica ambiental compreende coleta sistemática de amostras, análise laboratorial, interpretação de resultados e implementação de ações corretivas baseadas em dados.

Dancer (2023) revisou aspectos históricos e perspectivas futuras da limpeza hospitalar, discutindo práticas de monitorização e controle de contaminação. A autora enfatiza que a vigilância ambiental evoluiu de uma atividade esporádica e reativa para um componente integral dos programas de prevenção de infecções.

Protocolos efetivos de vigilância definem pontos de amostragem: prioritários (superfícies de alto contato, áreas próximas a pacientes colonizados), frequência de coleta (semanal, mensal, após surtos), métodos padronizados de coleta (*swabs*, placas de contato, esponjas) e critérios de interpretação de resultados (GIOVINAZZO *et al.*, 2017). A vigilância direcionada foca em microrganismos relevantes do ponto de vista epidemiológico (MRSA, VRE, *Acinetobacter* multirresistente, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile*) em unidades de alto risco (UTIs, centros cirúrgicos, unidades de queimados, oncologia) (FAGGION *et al.*, 2023).

A vigilância durante surtos intensifica a amostragem para identificar reservatórios ambientais e avaliar a eficácia de medidas de controle. Dados de vigilância ambiental integram-se a sistemas de vigilância epidemiológica de IRAS, permitindo análise de correlações temporais e espaciais entre contaminação ambiental e casos clínicos. Resultados retroalimentam programas de educação de equipes de limpeza, revisão de protocolos e alocação de recursos para áreas críticas, estabelecendo um ciclo contínuo de melhoria da qualidade (FAGGION *et al.*, 2023).

### **3.6. Práticas de limpeza e desinfecção hospitalar**

#### ***3.6.1. Limpeza concorrente versus terminal***

A limpeza hospitalar classifica-se em concorrente, realizada de forma diária durante ocupação do leito, e terminal, executada após alta, transferência ou óbito do paciente. Hamed e colaboradores (2024) avaliaram diferentes abordagens de limpeza em unidade de terapia intensiva, incluindo limpeza concorrente e limpeza terminal, mensurando a redução da contaminação bacteriana em cada protocolo.

A limpeza concorrente foca em superfícies de alto contato e áreas sujas de forma visível, mantendo um nível básico de higiene durante a internação. Superfícies horizontais recebem limpeza úmida com detergente ou desinfetante de baixo nível. Pisos são limpos com técnica de duplo balde e microfibras descartáveis ou laváveis. Esse tipo de limpeza tem como objetivo principal prevenir o acúmulo progressivo de sujeira e manter a carga microbiana em níveis controláveis, durante a permanência do paciente (RIGOTTI *et al.*, 2015).

A limpeza terminal é mais abrangente e intensiva, incluindo todas as superfícies do quarto. Paredes até altura de alcance das mãos, teto (quando indicado), luminárias, difusores de ar-condicionado, interior de armários e gavetas recebem atenção detalhada. Colchões e travesseiros são removidos, limpos e desinfetados antes de receberem roupas limpas. Equipamentos fixos são desmontados, quando possível, para limpeza de componentes individuais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024b).

O tempo de contato do desinfetante é crítico para a eficácia microbicida e varia conforme o produto químico utilizado. Cada agente antimicrobiano requer um período mínimo de contato com a superfície para exercer sua ação sobre os microrganismos. A não observância desse tempo pode comprometer a efetividade da desinfecção, mesmo quando produtos adequados são utilizados (DE PAULA *et al.*, 2024).

### **3.6.2. Agentes químicos utilizados**

A seleção de agentes químicos para limpeza e desinfecção baseia-se em espectro de ação, toxicidade, compatibilidade com materiais, tempo de contato necessário, custo e aceitabilidade pelos usuários. Maeda, Oie e Furukawa (2015) avaliaram a eficácia da desinfecção com álcool em superfícies contaminadas por *S. aureus*, incluindo maçanetas e cadeiras de rodas, demonstrando redução da contaminação com aplicação diária.

Os álcoois (etílico a 70% ou isopropílico a 70%) apresentam rápida ação bactericida, fungicida e virucida, com tempo de contato de 30 segundos a 1 minuto. Sua ação ocorre através da desnaturação de proteínas e dissolução de lipídeos da membrana celular. No entanto, os álcoois não possuem ação residual e sua eficácia é reduzida na presença de matéria orgânica (RASHEED; HUSSEN, 2021).

Compostos à base de cloro (hipoclorito de sódio) são utilizados de forma ampla, devido ao baixo custo e amplo espectro antimicrobiano. As concentrações variam conforme a aplicação: soluções de 200 ppm são utilizadas para limpeza de superfícies gerais, enquanto

concentrações de 1000 ppm ou superiores são reservadas para áreas com maior risco de contaminação ou presença de patógenos específicos como *Clostridioides difficile*.

Quaternários de amônio são detergentes catiônicos com propriedades desinfetantes e ação residual. Atuam através da ruptura da membrana celular bacteriana e demonstram boa atividade contra bactérias Gram-positivas. No entanto, sua eficácia contra bactérias Gram-negativas e esporos é limitada. Peróxido de hidrogênio acelerado e sistemas automatizados de vaporização oferecem alternativas para limpeza terminal em situações especiais como surtos ou presença de patógenos de difícil erradicação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

### **3.6.3. Frequência e técnicas**

Dancer (2023) discutiu frequência e técnicas de limpeza hospitalar, abordando desafios relacionados à padronização de procedimentos e à necessidade de treinamento adequado de equipes de limpeza para controle efetivo da contaminação ambiental. A frequência de limpeza ajusta-se ao nível de risco da área: unidades críticas recebem limpeza concorrente duas a três vezes ao dia, enquanto áreas de internação geral são limpas uma vez ao dia.

A técnica de limpeza úmida com fricção mecânica remove de forma física microrganismos e matéria orgânica. Movimento unidirecional ou em forma de “S” previne recontaminação de áreas já limpas. Essa técnica assegura que a sujeira seja removida de forma progressiva, sem que áreas limpas sejam novamente contaminadas pelo pano de limpeza (RIGOTTI *et al.*, 2015).

Panos de limpeza devem ser trocados entre quartos diferentes e entre superfícies de alto e baixo contato, no mesmo quarto, para prevenir transferência cruzada. O uso de equipamentos de proteção individual apropriados e a higiene das mãos antes e após as atividades de limpeza são obrigatórios, protegendo tanto o profissional quanto prevenindo que ele se torne vetor de transmissão microbiana (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024b).

A padronização de sequências de limpeza e o uso de protocolos asseguram cobertura completa e reduzem a probabilidade de omissões. A sequência recomendada inicia-se pelas áreas mais limpas e progride para as mais sujas, das superfícies mais altas para as mais baixas, estabelecendo uma lógica que minimiza o risco de recontaminação de áreas já limpas (DE ARAÚJO *et al.*, 2020).

## **3.7. Gênero *Staphylococcus*: aspectos gerais**

### **3.7.1. Classificação taxonômica e características**

O gênero *Staphylococcus* pertence à família Staphylococcaceae, ordem Bacillales, classe Bacilli, filo Firmicutes. Compreende mais de 50 espécies descritas, das quais aproximadamente 20 colonizam humanos. A diversidade taxonômica reflete a ampla capacidade de adaptação desses microrganismos a diferentes nichos ecológicos (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

Do ponto de vista morfológico, apresentam-se como cocos Gram-positivos de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, agrupados em arranjos irregulares semelhantes a cachos de uva. Essa distinta característica morfológica resulta de divisões celulares que ocorrem em múltiplos planos, diferenciando os estafilococos de outros cocos Gram-positivos que se dividem em planos únicos (SHIELDS, 2015).

Características microscópicas incluem ausência de flagelos, presença de cápsula polissacarídica em algumas espécies e parede celular espessa composta por peptidoglicano e ácidos teicoicos. São cocos imóveis, não esporulados. A produção de pigmentos não possui correlação direta com virulência, mas pode auxiliar na identificação presuntiva de espécies (MICHALIK *et al.*, 2020).

### **3.7.2. Metabolismo e crescimento**

*Staphylococcus* são anaeróbios facultativos, capazes de metabolismo respiratório na presença de oxigênio e fermentativo em anaerobiose (SHIELDS, 2015). Essa versatilidade metabólica permite sua sobrevivência em ambientes com diferentes disponibilidades de oxigênio, contribuindo para sua capacidade de colonizar diversos sítios anatômicos e ambientais (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

A temperatura ótima de crescimento situa-se entre 30 e 37°C, com capacidade de proliferação em faixa de 15 a 45°C. O pH ótimo varia de 7,0 a 7,5, mas esses microrganismos toleram variações consideráveis de pH, permitindo seu crescimento em condições adversas (SHIELDS, 2015).

Uma característica distintiva do gênero é a capacidade de crescimento em concentrações salinas elevadas, tolerando até 10% de cloreto de sódio. Essa propriedade é explorada em meios seletivos para isolamento, como o Mannitol Salt Agar. A halotolerância resulta de mecanismos de osmorregulação que permitem aos *Staphylococcus* manter a homeostase celular, mesmo sob condições de alta pressão osmótica (RASHEED; HUSSEN, 2021).

A atividade da enzima catalase é uma característica universal do gênero, diferenciando estafilococos (catalase-positivos) de estreptococos (catalase-negativos). A catalase decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, protegendo as células bacterianas dos efeitos tóxicos das espécies reativas de oxigênio. Esse teste bioquímico simples constitui a primeira etapa na identificação laboratorial de *Staphylococcus* (KATEETE *et al.*, 2010).

### **3.8. *Staphylococcus* coagulase-positivos**

#### **3.8.1. *Classificação e principais espécies***

A produção de coagulase, enzima que converte fibrinogênio em fibrina, divide o gênero em espécies coagulase-positivas e coagulase-negativas. Essa divisão possui relevância clínica, uma vez que a maioria das infecções graves por *Staphylococcus* é causada por espécies coagulase-positivas (KATEETE *et al.*, 2010).

*Staphylococcus aureus* representa a espécie coagulase-positiva de maior relevância clínica em humanos. Esse microrganismo é responsável por amplo espectro de infecções, desde infecções superficiais de pele até infecções invasivas graves como bacteremia, endocardite e pneumonia. Outras espécies coagulase-positivas incluem *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* e *S. hyicus*, associadas de forma predominante a animais, embora possam ocasionar infecções zoonóticas em humanos (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

#### **3.8.2. *Fatores de virulência***

*S. aureus* produz um arsenal extenso de fatores de virulência que facilitam a colonização, evasão imune, invasão tecidual e dano ao hospedeiro. Essa multiplicidade de fatores de virulência explica a capacidade desse microrganismo de causar infecções em diversos sítios anatômicos e em populações com diferentes graus de imunocompetência (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

Componentes de superfície incluem proteína A, que se liga à porção Fc de imunoglobulinas, interferindo com a opsonização e fagocitose, e diversas adesinas que medeiam a ligação a componentes da matriz extracelular do hospedeiro. Essas adesinas incluem proteínas de ligação a fibronectina, colágeno, fibrinogênio e outros componentes teciduais (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

Enzimas secretadas incluem coagulase, que promove a coagulação do plasma e pode proteger as bactérias da fagocitose ao envolvê-las em uma rede de fibrina; estafiloquinase,

que dissolve coágulos de fibrina, facilitando a disseminação; hialuronidase, que degrada ácido hialurônico do tecido conjuntivo; lipases, que hidrolisam lipídeos; DNases, que degradam DNA; e proteases, que degradam proteínas teciduais e componentes do sistema imune (RASHEED; HUSSEN, 2021).

As toxinas constituem componentes críticos da patogenicidade. Hemolisinas causam lise de eritrócitos e dano a outras células; leucocidina de Pantan-Valentine (PVL) forma poros em leucócitos, causando sua destruição; toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1) atua como superantígeno, causando ativação massiva de células T e liberação excessiva de citocinas; enterotoxinas causam intoxicação alimentar através de ação sobre o trato gastrointestinal; e toxinas esfoliativas causam descamação da pele na síndrome da pele escaldada de *Staphylococcus* (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

### **3.8.3. Resistência antimicrobiana: MRSA**

Menezes e colaboradores (2022) isolaram espécies de *Staphylococcus* multirresistentes em UTI neonatal, incluindo cepas resistentes a múltiplas classes de antimicrobianos. Esse padrão de multirresistência representa desafio terapêutico significativo, limitando as opções de tratamento disponíveis.

*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) emergiu como patógeno hospitalar global nas últimas décadas. A resistência resulta da aquisição do gene *mecA*, localizado no elemento genético móvel SCCmec (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*). Esse gene codifica uma proteína de ligação à penicilina alterada (PBP2a) que possui baixa afinidade por antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, conferindo resistência a todos os agentes dessa classe (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

Kurashige, Oie e Furukawa (2016) quantificaram contaminação por MRSA em superfícies de quartos hospitalares, demonstrando a capacidade desse patógeno de persistir no ambiente e servir como fonte de transmissão. Odoyo e colaboradores (2023) identificaram MRSA em superfícies de múltiplos departamentos hospitalares, evidenciando sua ampla distribuição no ambiente de saúde.

Além da resistência à meticilina, o MRSA com frequência apresenta resistência a múltiplas classes de antibióticos, incluindo aminoglicosídeos, macrolídeos, fluoroquinolonas e tetraciclina. Este perfil de multirresistência resulta da acumulação de diversos mecanismos de resistência, tanto cromossômicos quanto plasmidiais, ao longo do tempo. A pressão seletiva

exercida pelo uso extensivo de antimicrobianos em ambientes hospitalares favorece a seleção e manutenção de cepas multirresistentes (RASHEED; HUSSEN, 2021).

#### **3.8.4. Prevalência em ambientes hospitalares**

Maeda, Oie e Furukawa (2015) demonstraram contaminação por *S. aureus* em maçanetas, cadeiras de rodas e outras superfícies de alto contato em instituições de longa permanência. Esse achado ilustra a capacidade de *S. aureus* de colonizar diversos tipos de superfícies no ambiente de saúde, independentemente do tipo de instituição.

A prevalência de *S. aureus* em superfícies hospitalares geralmente varia de 10% a 40%, dependendo do tipo de unidade, população de pacientes e práticas de limpeza. Essa ampla variação reflete a influência de múltiplos fatores sobre a contaminação ambiental, incluindo densidade de ocupação, gravidade dos pacientes internados, frequência e qualidade das práticas de higiene ambiental, e taxas de colonização dos pacientes (SHITTU *et al.*, 2006; AYENI *et al.*, 2017).

Unidades de terapia intensiva apresentam taxas de contaminação ambiental superiores a enfermarias gerais, cujo padrão relaciona-se à maior gravidade dos pacientes, uso mais intensivo de dispositivos invasivos, maior frequência de procedimentos geradores de aerossóis, e maior pressão de colonização, resultante da concentração de pacientes colonizados ou infectados em espaços restritos (FAGGION *et al.*, 2023).

#### **3.8.5. Transmissão cruzada e reservatórios**

A transmissão de *S. aureus* em hospitais ocorre de forma predominante através das mãos de profissionais de saúde, mas o ambiente desempenha um papel facilitador nesse processo. Pacientes colonizados depositam microrganismos em superfícies próximas, através da descamação cutânea contínua. Estudos quantitativos demonstram que pacientes colonizados por MRSA podem liberar milhões de unidades formadoras de colônia no ambiente ao seu redor (KURASHIGE; OIE; FURUKAWA, 2016).

Portadores nasais de *S. aureus* atuam como reservatórios humanos, com taxas de colonização que variam de 20% a 30% na população geral e podem atingir 60% ou mais entre profissionais de saúde. A colonização nasal constitui fator de risco para infecção subsequente, tanto através de disseminação endógena quanto por contaminação do ambiente e subsequente transmissão para outros indivíduos (TAYLOR; TOBIN; UNAKAL, 2025).

Fômites podem manter *S. aureus* viável por períodos que variam de dias a meses, dependendo das condições ambientais, funcionando como reservatórios secundários (KRAMER; SCHWEBKE; KAMPF, 2006). A sobrevivência prolongada no ambiente inanimado contribui para a persistência de cepas problemáticas no ambiente hospitalar, mesmo após a alta ou transferência do paciente-fonte. Fatores como umidade relativa, temperatura, tipo de superfície e presença de matéria orgânica influenciam a duração da viabilidade bacteriana no ambiente (MAEDA; OIE; FURUKAWA, 2015).

### **3.9. *Staphylococcus* coagulase-negativos (ECN)**

#### **3.9.1. *Principais espécies e microbiota normal***

*Staphylococcus* coagulase-negativos compreendem mais de 40 espécies, componentes predominantes da microbiota normal da pele e mucosas humanas. Oliveira de Souza e colaboradores (2014) isolaram *Staphylococcus* coagulase-negativos de superfícies hospitalares diversas, demonstrando sua presença ubíqua no ambiente de saúde.

*Staphylococcus epidermidis* é a espécie mais prevalente na pele humana, podendo ser isolada em todas as regiões do tegumento, com concentrações que variam de acordo com a região anatômica. Outras espécies relevantes incluem *S. haemolyticus*, frequente em áreas úmidas como axilas e virilhas; *S. saprophyticus*, associado a infecções do trato urinário em mulheres jovens; *S. hominis*, comum em áreas com alta densidade de glândulas sebáceas; *S. capitis*, predominante no couro cabeludo; *S. warneri*, encontrado em diversas regiões cutâneas; e *S. lugdunensis*, que apesar de coagulase-negativo, pode causar infecções com virulência similar a *S. aureus* (MICHALIK *et al.*, 2020).

Os ECN desempenham um papel benéfico como componentes da microbiota residente, participando da exclusão competitiva de patógenos através da ocupação de nichos ecológicos, produção de substâncias antimicrobianas e modulação da resposta imune local. Essa função protetora destaca a importância de se distinguir colonização por ECN, que pode ser benéfica, de infecção, que requer intervenção terapêutica (ARGEMI *et al.*, 2019).

#### **3.9.2. *Papel como patógenos oportunistas***

Os ECN emergiram como patógenos hospitalares importantes com o advento de dispositivos médicos implantáveis e aumento de populações imunocomprometidas nas últimas décadas. Essa transição de comensais inofensivos para patógenos relevantes reflete mudanças

nas práticas médicas e nas características dos pacientes hospitalizados (MICHALIK *et al.*, 2020).

As infecções por ECN caracterizam-se por quadros clínicos menos agudos que infecções por *S. aureus*, com evolução mais insidiosa e sinais sistêmicos menos pronunciados. No entanto, essas infecções podem ser de difícil tratamento, devido à formação de biofilmes em dispositivos e à resistência antimicrobiana (ZIEBUHR, 2001).

As manifestações clínicas incluem bacteremia associada a catéter venoso central, que representa a infecção de corrente sanguínea mais frequente em unidades de terapia intensiva neonatal e em pacientes oncológicos; endocardite de válvula protética, com mortalidade elevada e frequente necessidade de substituição valvar; infecções de próteses ortopédicas, que podem requerer remoção do implante; e infecções em pacientes imunocomprometidos, incluindo peritonite em pacientes em diálise peritoneal e infecções de shunts ventriculoperitoneal (ARGEMI *et al.*, 2019).

### **3.9.3. Capacidade de formação de biofilme**

Costa e pesquisadores (2019) evidenciaram a capacidade de ECN de formar biofilmes em superfícies de unidades de terapia intensiva, relacionando essa característica com infecções associadas a dispositivos médicos. A formação de biofilme constitui o principal fator de virulência de ECN, compensando a relativa ausência de toxinas e enzimas agressivas que caracterizam *S. aureus*.

Os biofilmes são comunidades microbianas estruturadas envoltas em matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas, DNA extracelular e outros componentes. Essa matriz proporciona proteção física contra antimicrobianos, desinfetantes e mecanismos de defesa do hospedeiro. A formação de biofilme ocorre em etapas sequenciais: adesão inicial reversível à superfície, adesão irreversível mediada por adesinas específicas, proliferação e produção de matriz extracelular, maturação do biofilme com formação de estrutura tridimensional, e dispersão de células planctônicas que podem colonizar novos sítios (MICHALIK *et al.*, 2020).

Células bacterianas em biofilmes apresentam resistência aumentada a antimicrobianos através de múltiplos mecanismos (ARGEMI *et al.*, 2019). A penetração reduzida de antimicrobianos através da matriz limita o acesso dos agentes às células bacterianas profundas. O metabolismo reduzido de células no interior do biofilme diminui a eficácia de antimicrobianos que atuam sobre células em crescimento ativo. A presença de células

persistentes em estado de dormência permite a sobrevivência de subpopulações bacterianas, mesmo após exposição prolongada a antimicrobianos. A expressão de genes de resistência específicos do estado de biofilme contribui para a tolerância antimicrobiana (ARGEMI *et al.*, 2019).

#### **3.9.4. Resistência antimicrobiana em ECN**

Os ECN exibem taxas de resistência antimicrobiana superiores a *S. aureus* devido à pressão seletiva intensa em ambientes hospitalares e à capacidade de aquisição e manutenção de determinantes de resistência. Essa diferença reflete a exposição frequente desses microrganismos a antimicrobianos, uma vez que são contaminantes comuns de hemoculturas e outras culturas clínicas, resultando em terapia antimicrobiana direcionada, mesmo quando não são verdadeiros patógenos (PEDROSO *et al.*, 2018).

A resistência à meticilina é prevalente em ECN hospitalares, com taxas que podem exceder 70% a 80% em algumas instituições. O mecanismo de resistência é similar ao MRSA, envolvendo o gene *mecA* e produção de PBP2a. No entanto, nos ECN, múltiplas variantes do elemento SCCmec são encontradas, refletindo a diversidade genética desses microrganismos (ZIEBUHR, 2001).

A resistência a glicopeptídeos, antibióticos de escolha para tratamento de infecções por *Staphylococcus* resistentes à meticilina, emerge de forma gradual em ECN. Mecanismos incluem espessamento da parede celular que sequestra moléculas de vancomicina antes que atinjam seu alvo, e alterações na composição da parede celular que reduzem a afinidade pela vancomicina. Embora a resistência completa seja rara, a sensibilidade reduzida (vancomicina-intermediário) é cada vez mais documentada (PEDROSO *et al.*, 2018).

A multirresistência é comum em ECN hospitalares, com isolados resistentes a múltiplas classes de antimicrobianos, incluindo  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e macrolídeos. Essa situação limita as opções terapêuticas disponíveis, em especial em infecções graves ou quando a remoção do dispositivo infectado não é viável. Novos antimicrobianos como linezolida, daptomicina e tigeciclina constituem alternativas terapêuticas, mas seu uso deve ser criterioso para prevenir o desenvolvimento de resistência (MICHALIK *et al.*, 2020).

### **3.10. Mannitol Salt Agar (MSA): composição e fundamentos**

#### **3.10.1. Composição do meio**

O Mannitol Salt Agar é um meio seletivo e diferencial desenvolvido de forma específica para o isolamento de *Staphylococcus* patogênicos. Sua composição típica por litro inclui diversos componentes que exercem funções distintas na seletividade e diferenciação (SHIELDS, 2015).

A peptona (10 g) e o extrato de carne (1 g) fornecem nutrientes essenciais para o crescimento bacteriano, incluindo aminoácidos, peptídeos, vitaminas e minerais. O manitol (10 g) atua como carboidrato fermentável que permite a diferenciação entre espécies. O cloreto de sódio (75 g) confere seletividade ao meio através da elevada pressão osmótica. O ágar (15 g) proporciona solidificação do meio, permitindo o crescimento de colônias isoladas. O vermelho de fenol (0,025 g) atua como indicador de pH, permitindo a visualização da fermentação através de mudança de cor (RASHEED; HUSSEN, 2021).

O pH inicial do meio é ajustado a  $7,4 \pm 0,2$ , estabelecendo condições neutras que permitem o crescimento da maioria dos *Staphylococcus*. Esse ajuste de pH é crítico para o funcionamento adequado do indicador vermelho de fenol, que apresenta melhor desempenho em faixa específica de pH (KATEETE *et al.*, 2010; SHIELDS, 2015).

### **3.10.2. Princípios de seletividade**

A alta concentração salina (7,5% de NaCl) cria uma pressão osmótica elevada que inibe o crescimento da maioria das bactérias. Essa concentração é aproximadamente cinco vezes superior à encontrada em meios de cultura não seletivos, criando um ambiente hostil para microrganismos não halotolerantes. Apenas microrganismos halotolerantes, em especial *Staphylococcus*, conseguem crescer nessas condições (SHIELDS, 2015).

Os mecanismos de halotolerância em *Staphylococcus* incluem sistemas de transporte que acumulam íons potássio intracelular para contrabalançar a pressão osmótica externa, e síntese de solutos compatíveis como prolina, glutamato e glicina betaína. Esses compostos acumulam-se no citoplasma sem interferir com processos metabólicos, permitindo a manutenção da homeostase celular (RASHEED; HUSSEN, 2021).

A seletividade do meio não é absoluta. Alguns cocos Gram-positivos, além de *Staphylococcus*, podem crescer em MSA, incluindo alguns enterococos e micrococos. No entanto, a maioria dos bacilos Gram-positivos e Gram-negativos é inibida, tornando o meio útil para triagem inicial de *Staphylococcus* a partir de amostras com microbiota mista (AYEPOLA *et al.*, 2017).

### **3.10.3. Princípios de diferenciação**

A fermentação de manitol diferencia espécies dentro do gênero *Staphylococcus*, permitindo a distinção presuntiva entre *S. aureus* e ECN. *S. aureus* fermenta manitol de forma típica, produzindo ácidos orgânicos que reduzem o pH do meio ao redor das colônias. Conforme a figura 1, essa acidificação faz com que o vermelho de fenol, que é vermelho em pH neutro ou alcalino, mude para amarelo, em pH ácido. A mudança de cor é visível tanto na colônia quanto no meio circundante, criando um halo amarelo ao redor das colônias fermentadoras (KATEETE *et al.*, 2010).

Figura 1 - Placas Petri de ágar sal manitol com crescimento bacteriano.



**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** Placas petri contendo ágar sal manitol, com crescimento bacteriano, na imagem é possível observar nitidamente a fermentação de manitol pelas bactérias tratadas como *Staphylococcus* coagulase positivo, fazendo o meio adquirir coloração amarelada em contraste com as colônias de coagulase negativas, em que a coloração rosada/avermelhada do manitol se matem.

Os ECN de forma típica não fermentam manitol, ou o fazem de forma lenta e fraca. Esses microrganismos utilizam peptídeos e aminoácidos como fonte de energia, produzindo compostos alcalinos que mantêm ou elevam o pH. O meio ao redor das colônias permanece vermelho ou pode adquirir tonalidade mais intensa devido à alcalinização (SHITTU *et al.*, 2006).

Além da mudança de cor, as colônias de *S. aureus* e ECN apresentam diferenças morfológicas que auxiliam na identificação presuntiva. Colônias de *S. aureus* em MSA são de forma típica, médias a grandes (3-5 mm após 24 horas), convexas, com bordos regulares, e podem apresentar pigmentação amarela ou dourada devido à produção de carotenoides. Colônias de ECN são, de forma geral, menores, podendo ser pigmentadas (brancas, amarelas ou alaranjadas, dependendo da espécie), e o meio ao redor permanecer vermelho (AYEPOLA *et al.*, 2017).

#### **3.10.4. Limitações do meio**

O MSA serve como método de triagem presuntiva, não como identificação definitiva de espécies. Essa limitação é importante e deve ser reconhecida na interpretação de resultados. Espécies coagulase-negativas fermentadoras de manitol, como *S. xylosus* e *S. saprophyticus*, geram resultados falso-positivos, ao produzirem colônias com halo amarelo que podem ser confundidas com *S. aureus*. Por outro lado, cepas atípicas de *S. aureus* deficientes em fermentação de manitol produzem resultados falso-negativos, não alterando a cor do meio, apesar de serem *S. aureus* verdadeiros (SHITTU *et al.*, 2006).

A interpretação de resultados em MSA requer experiência e conhecimento das características típicas e atípicas das diferentes espécies. Fatores como tempo de incubação, tamanho do inóculo, e condições de armazenamento do meio podem influenciar os resultados. A confirmação obrigatória através de testes adicionais, como a prova da coagulase para confirmação de *S. aureus* ou testes bioquímicos automatizados para identificação de espécies de ECN, é essencial para identificação definitiva (KATEETE *et al.*, 2010).

Apesar das limitações reconhecidas, o MSA permanece uma ferramenta valiosa em laboratórios microbiológicos. Sua simplicidade de preparo e uso, baixo custo, em comparação a métodos moleculares, e capacidade de triagem rápida de um grande número de amostras mantêm-no como meio de primeira escolha para isolamento de estafilococos a partir de amostras clínicas. A combinação de MSA como método de triagem, seguido por testes confirmatórios, proporciona abordagem eficiente e econômica para identificação de *Staphylococcus*, em diferentes contextos laboratoriais (AYEPOLA *et al.*, 2017).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Tipo de estudo

Trata-se de estudo observacional, transversal, de abordagem quantitativa e natureza laboratorial, desenvolvido com o objetivo de avaliar a prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e negativos em superfícies de quartos hospitalares, e validar o desempenho do meio Mannitol Salt Agar (MSA) como ferramenta de monitoramento ambiental. A opção por uma abordagem quantitativa fundamenta-se na necessidade de quantificar a carga microbiana, permitindo análises estatísticas e inferências sobre a contaminação ambiental (HOGAN *et al.*, 2015).

### 4.2. Local do estudo

O estudo foi conduzido em um hospital de médio porte, localizado no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. A instituição caracteriza-se como hospital geral, atendendo demandas de clínica médica, cirúrgica, obstetrícia e urgências. Os quartos avaliados distribuíram-se em diferentes setores da instituição, incluindo enfermarias clínicas, setor de emergência e ala de maternidade, ambientes reconhecidos por apresentarem grande potencial de risco para transmissão de patógenos (BOUCHRA *et al.*, 2017).

### 4.3. Pontos amostrais

Para a coleta de amostras, foram definidos seis pontos específicos em cada quarto, buscando abranger superfícies de contato próximo ao paciente e áreas de alta circulação, conforme descrito a seguir:

- **TR1:** Travesseiro, face frontal (contato direto com o paciente).
- **TR2:** Travesseiro, face posterior (verso).
- **CO1:** Colchão, região cefálica.
- **CO2:** Colchão, região podálica.
- **CH1:** Piso próximo ao leito (área de circulação da equipe).
- **CH2:** Piso próximo à porta (entrada do quarto).

A escolha dessas superfícies baseia-se no fato de serem frequentemente tocadas e, portanto, potenciais reservatórios para microrganismos, incluindo *Staphylococcus aureus* (HOGAN *et al.*, 2015; BOUCHRA *et al.*, 2017).

#### 4.4. Características dos quartos avaliados

Foram selecionados quartos com capacidade para dois leitos, exceto na ala de maternidade, onde o quarto avaliado comportava três leitos. Todos os quartos apresentavam estrutura física considerada adequada, com sanitário privativo, sistema de climatização e mobiliário padrão (cama hospitalar, mesa auxiliar, cadeira para acompanhante).

#### 4.5. Procedimento de coleta

##### 4.5.1. Coletas em quartos ocupados

Foram realizadas coletas em quatro quartos ocupados. Em cada um deles, procedeu-se à amostragem nos seis pontos predefinidos, totalizando 24 amostras. A seguir, as características específicas de cada quarto:

- **Quarto 1 (Enfermaria Masculina, Clínica Médica):** Paciente do sexo masculino, internado há cinco dias, com diagnóstico de transtorno psiquiátrico, caracterizado por ansiedade e depressão. O tempo prolongado de ocupação desse leito permitiu avaliar o acúmulo de carga microbiana em superfícies sob uso contínuo. Código da coleta: PSQ.
- **Quarto 2 (Enfermaria Feminina, Clínica Médica):** Paciente do sexo feminino, internada há dois dias e meio, com diagnóstico de pneumonia. Esse quarto representou situação intermediária de ocupação, característica de internações clínicas de curta a média duração. Código da coleta: PNU.
- **Quarto 3 (Setor de Emergência, Sala Vermelha):** Paciente internado há seis horas com insuficiência respiratória. Esse ambiente de alta rotatividade e urgência permitiu avaliar a contaminação em período inicial de ocupação, bem como em condições de alta complexidade assistencial. Código da coleta: SV.
- **Quarto 4 (Ala de Maternidade, Quarto Desocupado):** Quarto com três leitos, desocupado e submetido a processo de limpeza terminal há aproximadamente 30 minutos antes da coleta. Esse ambiente serviu como grupo de comparação para avaliação da eficácia do protocolo de limpeza institucional, considerando que estudos demonstram como a contaminação ambiental pode persistir, mesmo após procedimentos de higienização (FERREIRA *et al.*, 2011). Código da coleta: LP.

#### 4.6. Técnica de coleta

##### 4.6.1. Materiais para coleta

Os materiais utilizados para coleta microbiológica incluíram *swabs secos* (*ABSORVE*) estéreis, solução salina estéril a 0,85%, gabarito estéril para delimitação de área 25 cm<sup>2</sup> (SBIBIH *et al.*, 2024), tubos de vidro estéreis, caixa térmica e gelo reciclável para transporte refrigerado das amostras.

#### **4.6.2. Procedimento de coleta**

A coleta microbiológica foi realizada utilizando o método do *swab*, conforme técnica descrita na literatura para amostragem de superfícies (MADSEN *et al.*, 2020; HOGAN *et al.*, 2015). O procedimento consistiu em umedecimento de *swabs* estéreis em solução salina estéril a 0,85%, delimitação da área a ser coletada (25 cm<sup>2</sup>) com auxílio de gabarito estéril, coleta da amostra por meio de movimentos em zigue-zague em direções perpendiculares com rotação do *swab*, acondicionamento imediato do *swab* em tubos de vidro estéreis contendo aproximadamente 1 mL de solução salina a 0,85% e transporte das amostras em caixa térmica, utilizando Gelox para o laboratório, sendo processadas em tempo máximo de 2 horas após a coleta.

### **4.7. Processamento das amostras**

#### **4.7.1. Materiais para processamento**

Foram utilizados banho ultrassônico (Yaxun 3060), agitador tipo vórtex, microtubos de 1,5 mL estéreis, solução salina estéril a 0,85%, pipetas automáticas P100 e P1000, ponteiras estéreis, placas de Petri de vidro autoclavadas, contendo meio Mannitol Salt Agar (MSA), alças de Drigalski estéreis, estufa bacteriológica com controle de temperatura (35 a 37°C), canetas de identificação e racks para organização de materiais.

#### **4.7.2. Preparo das amostras**

No laboratório, os *swabs* foram submetidos a processo de sonificação em banho ultrassônico por três minutos, seguido de agitação em vórtex, por 5 segundos, para despreendimento dos microrganismos aderidos. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas em fluxo laminar. Para a diluição 10<sup>-1</sup>, transferiu-se assepticamente 100 µL do inóculo para microtubos, contendo 900 µL de solução salina estéril a 0,85%. As diluições subsequentes (10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>) seguiram a mesma metodologia, transferindo 100 µL da diluição anterior para novo microtubo com 900 µL de salina estéril. Esse método contribui para melhor quantificação e sensibilidade na recuperação microbiana (MADSEN *et al.*, 2020).

#### **4.7.3. Semeadura e incubação**

As placas de MSA (KASVI) foram previamente aquecidas em estufa a 37°C. De cada diluição ( $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ), foi inoculado volume de 100 µL em placas contendo meio Mannitol (KASVI) Salt Agar, utilizando técnica de espalhamento em superfície (*spread-plate*). O procedimento consistiu em aplicar 100 µL sobre a superfície do meio solidificado e espalhar o inóculo com auxílio de alça de Drigalski esterilizada, realizando movimentos circulares por toda a superfície da placa até completa absorção do líquido. Cada diluição foi plaqueada em duplicata para garantir confiabilidade dos resultados. As placas foram identificadas de acordo com o ponto amostral e a diluição correspondente. O MSA foi escolhido por ser meio seletivo e diferencial, recomendado para isolamento presuntivo de *Staphylococcus*, em procedimentos de vigilância microbiológica (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2000). As placas foram incubadas com o meio voltado para cima em estufa bacteriológica, em aerobiose, à temperatura de 35 a 37°C, por período de 24 a 48 horas. No total, considerando as diluições e duplicatas, foram utilizadas 36 placas de MSA por ciclo de coleta.

### **4.8. Análise microbiológica**

#### **4.8.1. Materiais para análise microbiológica**

Os materiais empregados incluíram placas de Petri contendo meio *Brain Heart Infusion* (BHI), (KASVI) suplementado com ágar bacteriológico para conferir consistência sólida, alças bacteriológicas calibradas estéreis, bico de Bunsen para esterilização de alças, lâminas de vidro, peróxido de hidrogênio a 10%, kit de coloração de Gram (cristal violeta, lugol, descolorante e safranina), tubos de vidro estéreis, tubos contendo caldo BHI, tubos Falcon de 15mL, plasma de coelho liofilizado (Coaguplasma), cronômetro, microscópio óptico com objetiva de imersão, óleo de imersão, estufa bacteriológica, canetas de identificação, planilhas de registro e racks para organização.

#### **4.8.2. Leitura e isolamento primário**

Após o período de incubação, foi realizada contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em cada placa. As placas foram setorizadas na bancada de acordo com os pontos amostrais para facilitar a organização e contagem. Foram selecionadas para contagem as placas que apresentaram entre 3 e 300 colônias, sendo registradas as contagens em planilha específica, incluindo placas incontáveis (acima de 300 colônias). O cálculo da carga bacteriana foi ajustado ao método de amostragem por *swab*, sendo os resultados expressos em UFC/cm<sup>2</sup>.

Para isso, o número médio de colônias obtido nas placas selecionadas foi multiplicado pelo inverso da diluição e pelo volume total da amostra, sendo o valor resultante dividido pelo volume plaqueado e pela área superficial amostrada, conforme a fórmula específica para o método *swab* (O'TOOLE, 2016).

As colônias foram diferenciadas de forma presuntiva com base na fermentação do manitol. Colônias amarelas, indicativas de fermentação do manitol com produção de ácido e consequente mudança do indicador de pH, foram consideradas presuntivas para *Staphylococcus* coagulase-positivos. Colônias vermelhas ou rosadas, que não fermentaram o manitol, foram consideradas presuntivas para estafilococos coagulase-negativos.

Para confirmação da identificação, selecionaram-se três colônias representativas de cada morfotipo (manitol-positivo e manitol-negativo) por ponto amostral. Os critérios de seleção incluíram colônias isoladas, com morfologia característica (redondas, convexas) e crescimento típico. Cada colônia selecionada foi repicada por estria de esgotamento em placas contendo meio *Brain Heart Infusion* (BHI) (KASVI), suplementado com ágar bacteriológico. A técnica de estria de esgotamento foi realizada dividindo a placa em três quadrantes. No primeiro quadrante, realizou-se estria, em zigue-zague, em metade da placa. Após girar a placa 90°, trocou-se a alça esterilizada e estriou-se até a metade do segundo quadrante. Novamente, girou-se a placa 90°, trocou-se a alça esterilizada e estriou-se o quadrante restante. Este procedimento foi realizado sem cruzar as estrias anteriores, reduzindo progressivamente o inóculo para obtenção de colônias isoladas. As placas foram incubadas com o meio voltado para cima a 35 a 37°C por 24 horas para obtenção de culturas puras. Cada colônia selecionada gerou uma nova placa de BHI para sequência de testes confirmatórios.

#### 4.8.3. Testes confirmatórios

A partir das culturas puras em BHI ágar, procedeu-se aos testes bioquímicos para confirmação do gênero *Staphylococcus* e diferenciação entre espécies coagulase-positivas e coagulase-negativas (PINHEIRO, 2018).

- **Teste da Catalase:** Realizado em fluxo laminar para diferenciar *Staphylococcus* (catalase-positiva) de *Streptococcus* (catalase-negativa). O procedimento consistiu em colocar sobre lâmina de vidro uma gota de peróxido de hidrogênio a 10%, capturar colônia isolada de cada placa de BHI ágar sem tocar em outras colônias, com alça calibrada esterilizada, esfregar a ponta da alça na gota de peróxido de hidrogênio e observar formação de bolhas de ar. A enzima catalase converte peróxido de hidrogênio

em oxigênio e água, sendo a liberação do oxigênio observada pela formação imediata de bolhas, indicativo de teste positivo. Isolados, os catalase-positivos foram mantidos para continuidade dos testes. Os resultados foram registrados em planilha de identificação, e as placas foram setorizadas na bancada, separando aquelas que continuariam no experimento das que seriam descartadas.

- **Coloração de Gram:** Teste utilizado para confirmação da morfologia de *Staphylococcus* Gram-positivos, frequentemente dispostos em cachos. A confecção do esfregaço foi realizada em fluxo laminar, colocando uma gota de solução salina a 0,85% estéril sobre lâmina de vidro, selecionando bactéria isolada da placa de BHI ágar e capturando-a com alça calibrada esterilizada, esfregando a alça na gota de salina, espalhando no centro da lâmina com movimentos suaves para evitar destruição microscópica dos cachos da estrutura bacteriana. Esperou-se a lâmina secar por completo à temperatura ambiente. O procedimento de coloração consistiu em: cobrir a lâmina com cristal violeta por 60 segundos, lavar com esguicho de água destilada; cobrir com lugol por 60 segundos, lavar com água destilada; cobrir com descolorante por 10 segundos, lavar imediatamente com água destilada, coradas com safranina por 60 segundos e lavar com água destilada. A lâmina foi seca, utilizando a chama do bico de Bunsen com movimentos rápidos. A observação foi realizada em microscópio óptico com objetiva de imersão, utilizando-se óleo de imersão. *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos apresentaram coloração roxo-azulada (Gram-positivo) e morfologia de cocos dispostos em cachos. Foram registrados na planilha de identificação apenas os isolados que apresentaram morfologia de cocos Gram-positivos, sendo as placas organizadas nos setores corretos da bancada para continuidade ou descarte.
- **Repique para caldo BHI:** Isolados que apresentaram resultados positivos nos testes de catalase e coloração de Gram, repicados para caldo BHI. Em fluxo laminar, tubos Falcon de 15 mL contendo 5 mL de caldo BHI estéril foram identificados com fita crepe contendo o código do isolado. Verificou-se, previamente, se o caldo estava translúcido, uma vez que meio turvo indica crescimento bacteriano prévio e não deve ser utilizado. Com alça calibrada esterilizada, coletou-se colônia isolada da placa de BHI ágar por estria de esgotamento e transferiu-se para o caldo BHI identificado. O tubo foi homogeneizado suavemente e incubado a 37°C, por 18 a 24 horas.
- **Teste da Coagulase em Tubo:** Considerado padrão-ouro para diferenciar *Staphylococcus aureus* (coagulase-positiva) dos *Staphylococcus* coagulase-negativos

(ECN). Após 18 a 24 horas de incubação, os caldos BHI foram processados. Tubos de vidro estéreis foram organizados em rack e identificados de acordo com os tubos de caldo BHI. O plasma de coelho liofilizado (Coagulasma), (BD BBL *Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA*) foi aberto com tesoura esterilizada e reidratado com 3 mL de solução salina a 0,85%, sendo agitado vigorosamente, porém com cuidado. Foram adicionados 300 µL de plasma reidratado em cada tubo de vidro. Os caldos BHI foram homogeneizados em vórtex e 140 µL de inóculo foram transferidos sobre o plasma em cada tubo correspondente. Os tubos foram novamente homogeneizados em vórtex e incubados em estufa bacteriológica a 35 a 37°C. A leitura da coagulação foi realizada após 4 e 24 horas de incubação. A formação de coágulo visível no fundo do tubo foi interpretada como resultado positivo para coagulase livre, indicativo de *Staphylococcus aureus* (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2000). Os isolados que não apresentaram coagulação foram classificados como *Staphylococcus* Coagulase-Negativos (ECN), grupo que inclui espécies com relevância crescente em infecções associadas à assistência à saúde (PINHEIRO, 2018). Os resultados foram registrados em planilha específica.

#### **4.8.4. Congelamento dos isolados**

Para preservação dos isolados, foram selecionadas amostras representativas dos resultados obtidos: duas verdadeiro-positivas (colônias amarelas no MSA e coagulase-positivas), duas verdadeiro-negativas (colônias vermelhas no MSA e coagulase-negativas), duas falso-positivas (colônias amarelas no MSA e coagulase-negativas) e duas falso-negativas (colônias vermelhas no MSA e coagulase-positivas) por coleta. O procedimento foi realizado em fluxo laminar. Criotubos de 2 mL estéreis e microtubos de 1,5 mL estéreis foram identificados com o código do isolado. Foram adicionados 300 µL de glicerol 80% estéril em cada tubo.

Os caldos BHI crescidos (incubados a 37°C por 18 a 24 horas) foram homogeneizados em vórtex e 700 µL, pipetados sobre o glicerol 80% nos tubos. Os tubos contendo glicerol e caldo crescido foram homogeneizados em vórtex. Dois criotubos por isolado foram armazenados em freezer a -80°C e um microtubo, armazenado em freezer a -20°C, para estudos posteriores.

#### **4.9. Análise estatística**

Os dados de carga microbiana (UFC/cm<sup>2</sup>) foram organizados e tabulados no Microsoft Excel 2019, sendo submetidos à transformação logarítmica (log<sub>10</sub>). A comparação da carga microbiana entre os quartos ocupados (PSQ, PNU e SV) e o ambiente pós-limpeza (LP) foi realizada por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney para amostras independentes.

O desempenho diagnóstico do meio Mannitol Salt Agar (MSA) foi avaliado a partir da construção de matriz de contingência 2×2, utilizando o teste da coagulase como padrão-ouro, com cálculo de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e intervalos de confiança de 95% (IC 95%). A concordância entre os resultados presuntivos do MSA e os testes confirmatórios foi mensurada pelo coeficiente Kappa de Cohen, interpretado conforme os critérios de Landis e Koch (1977).

Os gráficos e análises estatísticas foram elaborados no software GraphPad Prism 9, adotando-se o nível de significância de  $p < 0,05$ , e as análises descritivas, médias, medianas, somas totais e proporções percentuais para caracterização da distribuição da contaminação microbiana nos diferentes ambientes e pontos amostrais.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização geral das amostras coletadas

Foram realizadas quatro coletas ambientais em diferentes quartos hospitalares, totalizando 24 amostras distribuídas em seis pontos amostrais por ambiente (TR1, TR2, CO1, CO2, CH1 e CH2). Três ambientes encontravam-se ocupados por pacientes com diferentes tempos de internação e quadros clínicos: quarto PSQ (cinco dias, transtorno psiquiátrico), quarto PNU (dois dias e meio, pneumonia) e sala vermelha SV (seis horas, insuficiência respiratória). Um quarto (LP) foi amostrado após limpeza terminal, permanecendo desocupado há 30 minutos. A Tabela 1 apresenta a caracterização dos ambientes de coleta e a distribuição da carga microbiana por ponto amostral.

Tabela 1 - Carga microbiana de *Staphylococcus* (UFC/cm<sup>2</sup>) por ponto amostral e tipo de colônia nos quatro quartos avaliados.

Ponto	Tipo	PSQ	PNU	SV	LP
TR1	Amarelas	3,11×10 <sup>1</sup>	1,00×10 <sup>0</sup>	8,58×10 <sup>1</sup>	4,00×10 <sup>-1</sup>
TR1	Rosa	1,87×10 <sup>1</sup>	4,00×10 <sup>0</sup>	3,51×10 <sup>1</sup>	1,60×10 <sup>0</sup>
TR2	Amarelas	3,80×10 <sup>0</sup>	1,20×10 <sup>0</sup>	1,00×10 <sup>0</sup>	<LD
TR2	Rosa	4,80×10 <sup>0</sup>	1,48×10 <sup>1</sup>	4,40×10 <sup>0</sup>	1,20×10 <sup>0</sup>
CO1	Amarelas	5,34×10 <sup>1</sup>	2,22×10 <sup>1</sup>	1,18×10 <sup>2</sup>	2,40×10 <sup>0</sup>
CO1	Rosa	2,07×10 <sup>1</sup>	2,80×10 <sup>0</sup>	4,62×10 <sup>1</sup>	8,00×10 <sup>-1</sup>
CO2	Amarelas	6,00×10 <sup>0</sup>	2,60×10 <sup>0</sup>	1,40×10 <sup>0</sup>	<LD
CO2	Rosa	2,00×10 <sup>0</sup>	<LD	1,40×10 <sup>0</sup>	<LD
CH1	Amarelas	3,78×10 <sup>2</sup>	2,28×10 <sup>2</sup>	3,48×10 <sup>2</sup>	2,00×10 <sup>1</sup>
CH1	Rosa	1,68×10 <sup>2</sup>	1,26×10 <sup>2</sup>	1,46×10 <sup>2</sup>	5,60×10 <sup>0</sup>
CH2	Amarelas	3,48×10 <sup>2</sup>	1,62×10 <sup>2</sup>	3,92×10 <sup>2</sup>	1,84×10 <sup>1</sup>
CH2	Rosa	1,98×10 <sup>2</sup>	1,40×10 <sup>2</sup>	1,88×10 <sup>2</sup>	1,44×10 <sup>1</sup>
<b>Total por quarto</b>		<b>1,233×10<sup>3</sup></b>	<b>7,05×10<sup>2</sup></b>	<b>1,367×10<sup>3</sup></b>	<b>6,48×10<sup>1</sup></b>

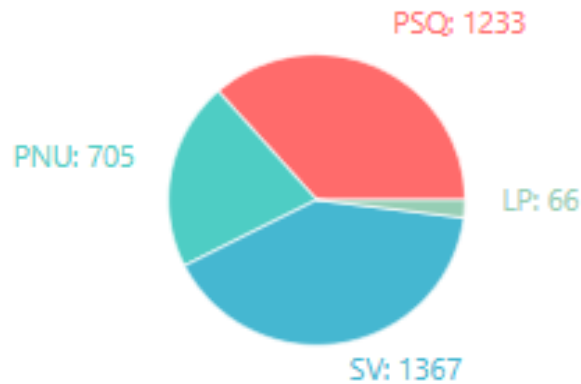
Fonte: Autor (2025)

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina com paciente internado por transtorno psiquiátrico; PNU: enfermaria feminina com paciente internado por pneumonia; SV: sala vermelha com paciente em insuficiência respiratória; LP: quarto da maternidade após limpeza terminal. TR1: travesseiro face frontal; TR2: travesseiro face posterior; CO1: colchão região cefálica; CO2: colchão região podálica; CH1: piso próximo ao leito; CH2: piso próximo à porta. <LD: abaixo do limite de detecção (< 4,00×10<sup>-1</sup> UFC/cm<sup>2</sup>).

A análise da distribuição proporcional da carga microbiana total demonstrou que os quartos ocupados concentraram 98,1% da contaminação recuperada (Figura 2). O quarto SV

apresentou 40,6% da carga total (1.367 UFC/cm<sup>2</sup>), seguido por PSQ com 36,6% (1.233 UFC/cm<sup>2</sup>) e PNU com 20,9% (705 UFC/cm<sup>2</sup>). O quarto LP, após limpeza terminal, representou apenas 1,9% (64,8 UFC/cm<sup>2</sup>) da carga microbiana total.

Figura 2 - Distribuição proporcional da carga microbiana total por quarto avaliado.



**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina; PNU: enfermaria feminina; SV: sala vermelha; LP: quarto após limpeza.

A sala vermelha (SV) apresentou maior carga microbiana apesar do menor tempo de ocupação (6 horas), sugerindo influência de fatores além do tempo de internação na contaminação ambiental, como gravidade do paciente, intensidade de manipulação pela equipe assistencial e natureza do quadro clínico. Esse achado corrobora os estudos de Yuen, Chung e Loke (2015), que demonstraram que superfícies próximas a pacientes críticos apresentam contaminação superior devido à maior frequência de manipulação e procedimentos geradores de aerossóis.

As superfícies avaliadas apresentaram padrão heterogêneo de contaminação. Os pontos de piso (CH1 e CH2) demonstraram as maiores cargas microbianas, com valores que variaram de 302 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto PNU a 580 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto SV. As superfícies de contato direto com o paciente apresentaram níveis intermediários. A região cefálica do colchão (CO1) demonstrou valores que variaram de 53,4 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto PSQ a 118 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto SV. A face frontal do travesseiro (TR1) apresentou contaminação que variou de 1,0 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto PNU a 85,8 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto SV.

As superfícies com menor contato direto apresentaram as menores cargas microbianas. A face posterior do travesseiro (TR2) e a região podálica do colchão (CO2) demonstraram valores consistentemente inferiores aos demais pontos, com médias de 3,55 UFC/cm<sup>2</sup> e 3,10 UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente, considerando todos os quartos ocupados. Este padrão sugere gradiente espacial de contaminação relacionado à proximidade e frequência de contato com o paciente, conforme documentado por Kurashige, Oie e Furukawa (2016), que

observaram gradiente similar em quartos de pacientes colonizados por MRSA, com maiores cargas microbianas nas superfícies mais próximas ao paciente-fonte.

## 5.2. Análise quantitativa da carga microbiana por tipo de superfície

A carga microbiana expressa em UFC/cm<sup>2</sup> revelou heterogeneidade substancial entre superfícies e ambientes. A Tabela 2 apresenta a distribuição da carga microbiana média por tipo de superfície nos quartos ocupados.

Tabela 2 - Carga microbiana média por tipo de superfície nos quartos ocupados.

Tipo de Superfície	Média (UFC/cm <sup>2</sup> )	Desvio Padrão	Mediana (UFC/cm <sup>2</sup> )
Piso (CH1 + CH2)	318,5	98,2	354,0
Colchão (CO1 + CO2)	37,6	42,1	25,0
Travesseiro (TR1 + TR2)	27,0	32,8	8,8

Fonte: Autor (2025)

**Legenda:** Valores representam médias dos quartos PSQ, PNU e SV. A transformação logarítmica foi aplicada para normalização dos dados e cálculo de medianas.

Os pontos de piso apresentaram as maiores cargas, com valores médios de  $3,18 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup> em CH1 e  $3,19 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup> em CH2. Superfícies de colchão registraram valores intermediários, com média de  $7,18 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup> em CO1 e  $4,00 \times 10^0$  UFC/cm<sup>2</sup> em CO2. Os travesseiros apresentaram as menores cargas, com média de  $4,55 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup> em TR1 e  $7,23 \times 10^0$  UFC/cm<sup>2</sup> em TR2.

Tal achado alinha-se às observações de Oliveira de Souza e colaboradores (2014), que identificaram contaminação por *Staphylococcus* em pisos de ambientes hospitalares, e de Dresch e colaboradores (2018), que descreveram padrão similar em unidades de terapia intensiva. A predominância de contaminação em pisos pode ser atribuída à deposição gravitacional de partículas biológicas, ao tráfego intenso de profissionais e equipamentos, e à menor frequência de desinfecção em comparação a superfícies de alto contato, próximas ao paciente (DANCER, 2023). Chaoui e colaboradores (2019) confirmaram que a contaminação de pisos contribui para disseminação horizontal de microrganismos multirresistentes através de rodas de equipamentos e calçados de profissionais.

## 5.3. Recuperação e quantificação de colônias em meio MSA

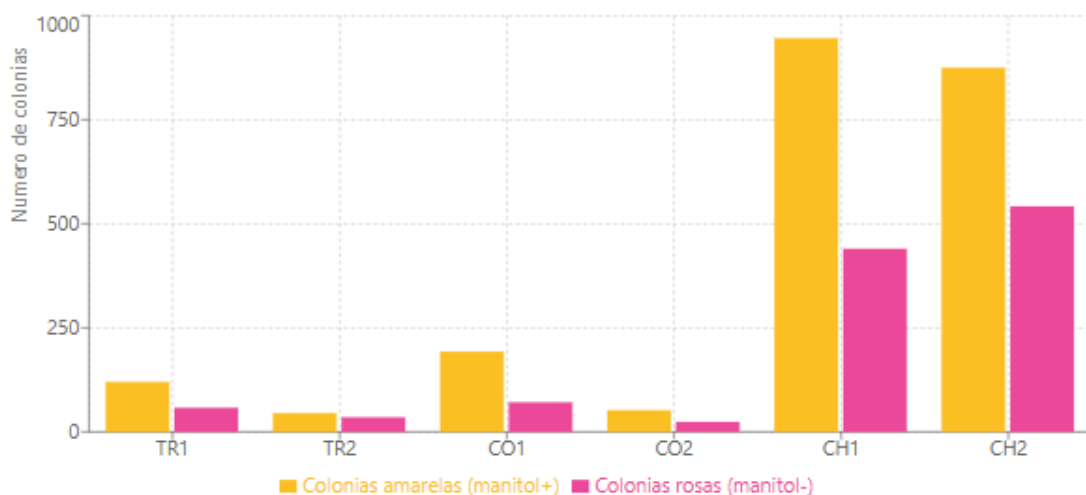
A semeadura em meio Mannitol Salt Agar possibilitou o crescimento e a diferenciação presuntiva de *Staphylococcus* com base na fermentação do manitol. Durante o processo de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) em todas as placas semeadas,

foram contabilizadas aproximadamente 2.231 colônias totais ao longo das quatro coletas, das quais cerca de 1.231 apresentaram coloração amarela (manitol-positivas, presuntivas para *Staphylococcus aureus*) e aproximadamente 1.000 apresentaram coloração rosa ou vermelha (manitol-negativas, presuntivas para *Staphylococcus coagulase-negativos*).

Para os testes confirmatórios, foram selecionadas 126 colônias representativas, sendo três colônias de cada morfotipo (amarela e rosa) por ponto amostral, totalizando 36 colônias por quarto nos três quartos ocupados e 18 colônias no quarto LP. Dos 126 isolados selecionados, três (2,4%) não apresentaram morfologia compatível com *Staphylococcus* na coloração de Gram, sendo excluídos das análises subsequentes. Assim, 123 isolados confirmados como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* foram submetidos ao teste da coagulase para diferenciação entre espécies coagulase-positivas e coagulase-negativas.

A distribuição de colônias contadas nas placas variou de forma expressiva entre os pontos amostrais, conforme ilustrado na Figura 3. Os pontos localizados no piso (CH1 e CH2) concentraram 63,8% do total de UFC recuperadas, enquanto superfícies próximas ao paciente (travesseiros e colchões) apresentaram cargas inferiores. O meio MSA tem sido utilizado como ferramenta de triagem presuntiva desde os estudos clássicos de Chapman (1945), que demonstraram que *S. aureus* fermenta manitol enquanto a maioria dos *Staphylococcus* coagulase-negativos não apresentam essa característica. Kateete e colaboradores (2010) avaliaram o desempenho do MSA em isolados clínicos, confirmando sua utilidade na identificação presuntiva de *S. aureus*, embora ressaltem a necessidade de testes confirmatórios adicionais.

Figura 3 - Distribuição total de colônias por ponto amostral.



Fonte: Autor (2025)

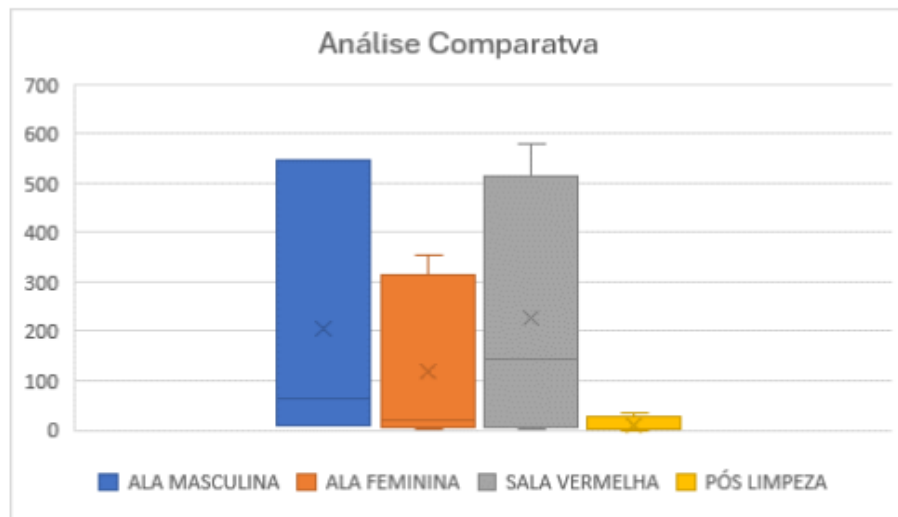
**Legenda:** TR1: travesseiro face frontal; TR2: travesseiro face posterior; CO1: colchão região cefálica; CO2: colchão região podálica; CH1: piso próximo ao leito; CH2: piso próximo à porta. Os dados representam a soma de todas as colônias contadas nas quatro coletas (PSQ, PNU, SV e LP).

A face frontal do travesseiro (TR1) recuperou aproximadamente 178 UFC somadas em todas as coletas, enquanto a face posterior (TR2) apresentou cerca de 80 UFC. No colchão, a região cefálica (CO1) registrou aproximadamente 264 UFC e a região podálica (CO2) apenas 76 UFC, evidenciando maior contaminação nas áreas de contato com cabeça e pescoço do paciente. Os pontos de piso (CH1 e CH2) apresentaram cargas microbianas substancialmente superiores aos demais pontos amostrais, concentrando aproximadamente 64% da carga microbiana total, com ~712 UFC em CH1 e ~711 UFC em CH2.

#### 5.4. Comparação entre quartos ocupados e quarto limpo

O quarto submetido à limpeza terminal (LP) apresentou carga microbiana significativamente inferior aos ambientes ocupados. A Figura 4 apresenta a comparação da distribuição da carga microbiana entre os quartos ocupados e o ambiente pós-limpeza.

Figura 4 - Distribuição da carga microbiana entre quartos ocupados e ambiente pós-limpeza.



**Fonte:** Autor (2025).

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina; PNU: enfermaria feminina; SV: sala vermelha; LP: quarto pós-limpeza. As caixas representam os intervalos interquartil, as linhas horizontais indicam as medianas e os pontos externos representam valores individuais de cada ponto amostral.

A mediana de UFC/cm<sup>2</sup> no quarto LP foi  $1,2 \times 10^1$ , enquanto nos quartos ocupados variou entre  $2,3 \times 10^1$  (SV) e  $4,7 \times 10^1$  (PSQ). A análise estatística foi realizada através de comparações pareadas, utilizando o teste de Mann-Whitney. A comparação entre a ala

masculina (PSQ) e o ambiente pós-limpeza demonstrou diferença estatística ( $U = 32,0$ ;  $p = 0,030$ ), confirmando redução da carga microbiana após o processo de desinfecção.

A sala vermelha (SV) apresentou diferença significativa quando comparada ao ambiente pós-limpeza ( $U = 32,0$ ;  $Z = 2,24$ ;  $p = 0,025$ ), com valores substancialmente superiores. A ala feminina (PNU) não apresentou diferença estatística em relação ao ambiente limpo ( $U = 9$ ;  $p = 0,089$ ), embora tenha demonstrado tendência de valores superiores. Esse resultado pode estar relacionado ao tempo intermediário de ocupação (2,5 dias) ou à implementação de práticas de limpeza concorrente mais efetivas na enfermaria feminina.

O resultado obtido alinha-se aos achados de Hamed e colaboradores (2024), que demonstraram redução substancial da contaminação bacteriana após protocolos intensificados de limpeza em unidade de terapia intensiva, com redução superior a 90% da carga microbiana. Intervenções de limpeza intensificadas promoveram redução significativa na contagem bacteriana de superfícies de alto contato, corroborando a redução observada no quarto pós-limpeza. Peters e colaboradores (2022) consolidaram evidências através de revisão sistemática, indicando que intervenções de higiene ambiental impactam diretamente na colonização de pacientes e na incidência de infecções relacionadas à assistência à saúde.

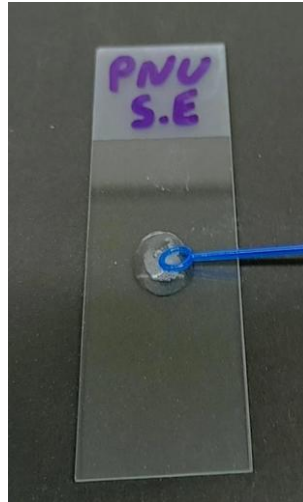
A persistência de contaminação residual de 64,8 UFC/cm<sup>2</sup> em todos os pontos amostrais do quarto LP, mesmo 30 minutos após limpeza terminal, sugere a revisão dos protocolos de limpeza atualmente utilizados, uma vez que o crescimento bacteriano se mostrou resistente. Maeda, Oie e Furukawa (2015) avaliaram a eficácia da desinfecção com álcool em superfícies contaminadas por *S. aureus*, observando que aplicação única nem sempre elimina totalmente a carga microbiana. A detecção de contaminação no ambiente pós-limpeza indica necessidade de revisão dos procedimentos, com atenção para tempo de contato dos desinfetantes, concentração adequada dos produtos químicos e cobertura completa das superfícies (DANCER, 2023). Porter e colaboradores (2024) demonstraram através de revisão sistemática que patógenos hospitalares podem persistir por períodos prolongados em superfícies inanimadas, com *S. aureus* capaz de sobreviver por até sete meses em condições ambientais, o que reforça a importância de protocolos rigorosos de desinfecção.

## **5.5. Diferenciação fenotípica dos *Staphylococcus*: Testes confirmatórios (catalase, Gram e coagulase)**

### **5.5.1. Teste da catalase**

Foram selecionadas 126 colônias para realização dos testes confirmatórios, sendo o primeiro, teste da produção de catalase (Figura 5) três colônias de cada morfotipo (amarela e rosa) por ponto amostral, totalizando 36 colônias por quarto, nos três quartos ocupados e 18 colônias no quarto LP.

Figura 5 - Teste de produção da catalase.



**Fonte:** Autor (2025).

**Legenda:** Formação imediata de bolhas de oxigênio após adição de peróxido de hidrogênio a 10% sobre colônia bacteriana isolada, indicando presença da enzima catalase.

Todas as 126 colônias selecionadas apresentaram teste de catalase positivo, confirmando que os isolados pertenciam ao grupo dos cocos Gram-positivos catalase-positivos, compatível com o gênero *Staphylococcus*. Esse resultado validou a seletividade do meio MSA para o crescimento de *Staphylococcus*, uma vez que nenhum isolado catalase-negativo foi detectado entre as colônias selecionadas. A enzima catalase decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, protegendo as células bacterianas dos efeitos tóxicos das espécies reativas de oxigênio, constituindo a primeira etapa na identificação laboratorial de *Staphylococcus* (KATEETE *et al.*, 2010).

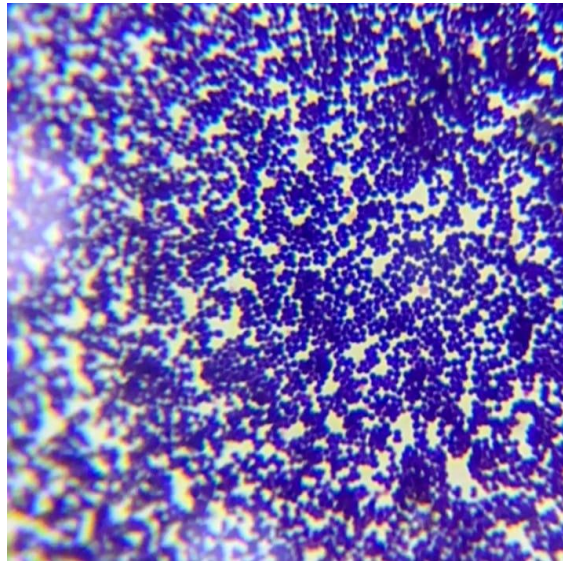
### 5.5.2. Coloração de Gram

Para confirmação da morfologia de Gram-positivos e cocos dispostos em cachos, característica do gênero *Staphylococcus*, foi feito o teste de coloração de Gram (Figura 6).

Dos 126 isolados submetidos à coloração de Gram, 123 (97,6%) apresentaram morfologia típica de cocos Gram-positivos dispostos em arranjos irregulares semelhantes a cachos de uva, confirmando pertencimento ao gênero *Staphylococcus*. Três isolados (2,4%)

apresentaram morfologia de bacilos Gram-positivos, sendo excluídos das análises subsequentes por não corresponderem ao gênero estudado.

Figura 6 - Teste de coloração de Gram.



**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** Cocos Gram-positivos (coloração roxo-azulada) dispostos em arranjos irregulares semelhantes a cachos de uva, característica morfológica distintiva do gênero *Staphylococcus*. Visualização em microscópio óptico com objetiva de imersão (1000×).

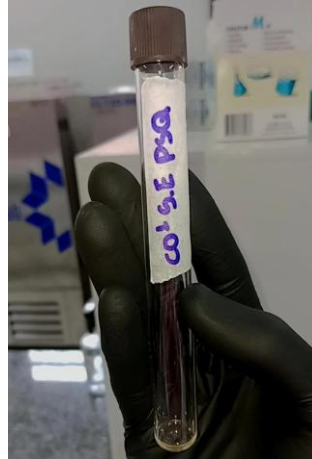
Os três isolados excluídos foram originados de colônias que cresceram em MSA, mas não apresentaram morfologia compatível com *Staphylococcus*: um isolado proveniente de colônia amarela do ponto CO1 do quarto SV, um de colônia rosa do ponto CH1 do quarto LP e um de colônia amarela do ponto CH2 do quarto LP. A presença desses isolados demonstra que o meio MSA, embora seletivo, não apresenta seletividade absoluta para o gênero *Staphylococcus*, permitindo crescimento ocasional de outros microrganismos halotolerantes. Becker, Heilmann e Peters (2014) descreveram que microrganismos halotolerantes, incluindo algumas espécies de *Bacillus*, podem ocasionalmente crescer em MSA, devido à tolerância à concentração elevada de NaCl.

### 5.5.3. *Teste da coagulase*

Realizado como teste confirmatório para diferenciar *Staphylococcus aureus* (coagulase-positiva) dos *Staphylococcus* coagulase-negativos (ECN), o teste de coagulase (Figura 7) segue como padrão-ouro para esse tipo de triagem microbiológica.

Dos 123 isolados testados, 61 foram provenientes de colônias amarelas (presuntivo para *S. aureus*) e 62 de colônias rosa (presuntivo para ECN). A Tabela 3 apresenta a distribuição detalhada dos resultados do teste da coagulase por quarto avaliado.

Figura 7 - Teste de coagulase em tubo.



**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** Tubo de ensaio contendo plasma de coelho e inóculo bacteriano após 24 horas de incubação a 37°C. A ausência de coágulo firme indica resultado negativo para coagulase livre, caracterizando *Staphylococcus* Coagulase-Negativo (ECN).

Tabela 3 - Distribuição dos resultados do teste da coagulase por quarto e morfotipo de colônia.

Quarto	Colônias			Colônias		
	Amarelas Testadas	Coagulase +	Coagulase -	Rosa Testadas	Coagulase +	Coagulase -
PSQ	18	15 (83,3%)	3 (16,7%)	18	6 (33,3%)	12 (66,7%)
PNU	18	13 (72,2%)	5 (27,8%)	18	2 (11,1%)	16 (88,9%)
SV	17	15 (88,2%)	2 (11,8%)	17	4 (23,5%)	13 (76,5%)
LP	8	4 (50,0%)	4 (50,0%)	9	4 (44,4%)	5 (55,6%)
<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>47 (77,0%)</b>	<b>14 (23,0%)</b>	<b>62</b>	<b>16 (25,8%)</b>	<b>46 (74,2%)</b>

**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina; PNU: enfermaria feminina; SV: sala vermelha; LP: quarto pós-limpeza. Coag+: coagulase-positivo; Coag-: coagulase-negativo.

Entre as 61 colônias amarelas, 47 (77,0%) apresentaram teste de coagulase positivo, confirmando a identificação presuntiva de *S. aureus*. Os 14 isolados restantes (23,0%) foram negativos para coagulase, caracterizando resultados falso-positivos do MSA, ou seja, ECN fermentadores de manitol. Entre as 62 colônias rosa, 46 (74,2%) foram negativas para coagulase, confirmando a identificação presuntiva de ECN. Dezesseis isolados (25,8%) apresentaram coagulase positiva, caracterizando resultados falso-negativos do MSA, ou seja, *S. aureus* não fermentadores de manitol ou com fermentação tardia.

A taxa de falso-positivos indica presença de ECN fermentadores de manitol entre os isolados ambientais. Ayepola e colaboradores (2017) descreveram que espécies como *S. xylosus* e *S. saprophyticus* fermentam manitol, gerando resultados falso-positivos em MSA. Becker, Heilmann e Peters (2014) ressaltam que algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos podem fermentar manitol, o que explica os resultados discordantes, observados. Os resultados falso-negativos representam cepas de *S. aureus* com fermentação tardia ou ausente do manitol. Oliveira de Souza e colaboradores (2015) relataram isolamento de MRSA manitol-negativo em amostras de *swabs* nasais no Brasil, demonstrando que nem todos os isolados de *S. aureus* fermentam manitol no período padrão de incubação, o que justifica a necessidade de confirmação adicional através do teste da coagulase. Shields (2015) observa que variantes atípicas de *S. aureus* podem não fermentar manitol no período padrão de incubação.

O quarto LP apresentou menor número de colônias disponíveis para teste devido à baixa carga microbiana, demonstrando maior taxa de resultados discordantes em comparação aos quartos ocupados. O número reduzido de isolados (n=17) limita interpretação estatística, mas a maior proporção de resultados discordantes pode indicar diversidade aumentada de espécies halotolerantes capazes de sobreviver aos processos de desinfecção.

### 5.6. Prevalência de *Staphylococcus* coagulase-positivos e negativos

Foram analisados 123 isolados confirmados como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* através dos testes de catalase e coloração de Gram. O teste da coagulase em tubo permitiu a diferenciação definitiva entre espécies coagulase-positivas e coagulase-negativas. A Figura 8 apresenta a comparação do número total de isolados por quarto avaliado.

Figura 8 - Comparação de isolados coagulase-positivos e negativos entre quartos.



**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina; PNU: enfermaria feminina; SV: sala vermelha; LP: quarto pós-limpeza.

No quarto PSQ, foram testados 36 isolados, sendo 21 coagulase-positivos (58,3%) e 15 coagulase-negativos (41,7%). No quarto PNU, foram analisados 36 isolados, apresentando 15 coagulase-positivos (41,7%) e 21 coagulase-negativos (58,3%), demonstrando maior proporção de ECN em comparação aos demais quartos ocupados. Na sala vermelha SV, foram testados 34 isolados, com 19 coagulase-positivos (55,9%) e 15 coagulase-negativos (44,1%). No quarto LP, foram analisados 17 isolados, apresentando 8 coagulase-positivos (47,1%) e 9 coagulase-negativos (52,9%).

Os dados demonstram distribuição relativamente equilibrada entre os dois grupos em todos os ambientes, com leve predominância de coagulase-positivos nos quartos PSQ e SV, e predominância de coagulase-negativos no quarto PNU. A variação observada sugere influência de fatores ambientais e características dos pacientes sobre a composição da microbiota de *Staphylococcus*, em superfícies hospitalares.

Considerando todos os ambientes avaliados, foram confirmados 63 isolados coagulase-positivos (51,2%) e 60 isolados coagulase-negativos (48,8%), demonstrando distribuição praticamente equilibrada entre os dois grupos. Nos quartos ocupados (PSQ, PNU e SV), foram identificados 55 isolados coagulase-positivos (52,4%) e 51 coagulase-negativos (47,6%), enquanto no quarto limpo a proporção foi de 8 coagulase-positivos (47,1%) e 9 coagulase-negativos (52,9%).

A distribuição equilibrada entre isolados coagulase-positivos (51,2%) e coagulase-negativos (48,8%) contrasta com a expectativa inicial de predominância de *S. aureus*. Esse achado ressalta a relevância crescente dos ECN como patógenos hospitalares, conforme documentado por Menezes e colaboradores (2022), que isolaram espécies multirresistentes de *Staphylococcus* coagulase-negativos em unidade de terapia intensiva neonatal. Michalik e colaboradores (2020) destacam que ECN emergiram como patógenos oportunistas, nas últimas décadas, associados a infecções de dispositivos médicos e bacteremias em pacientes imunocomprometidos. Pedroso e colaboradores (2018) demonstraram que *Staphylococcus* coagulase-negativos, isolados de infecções da corrente sanguínea, apresentaram perfil de multirresistência, reforçando a importância clínica desse grupo microbiano.

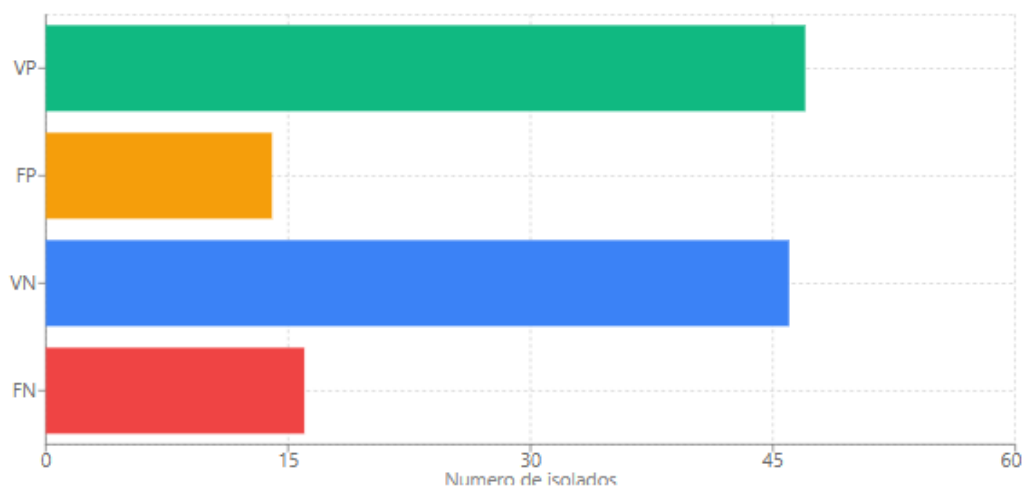
A razão coagulase-positivos/coagulase-negativos variou entre os ambientes: PSQ apresentou razão de 1,4:1; PNU, 0,71:1; SV, 1,27:1; e LP, 0,89:1. A variação observada sugere influência de fatores ambientais, características dos pacientes (tempo de internação, patologia de base, uso de antimicrobianos) e práticas assistenciais sobre a composição da microbiota

estafilocócica, em superfícies hospitalares. A predominância de *S. aureus* nos quartos PSQ e SV, ambos com pacientes que apresentavam maior complexidade clínica ou tempo de internação mais prolongado, reforça a associação entre gravidade do quadro e colonização ambiental por esse patógeno.

### 5.7. Avaliação do desempenho do meio Mannitol Salt Agar: Sensibilidade e Especificidade

A comparação entre os resultados presuntivos do MSA (baseados na fermentação do manitol) e os resultados confirmatórios do teste da coagulase permitiram avaliar o desempenho diagnóstico do meio de cultura. A Figura 9 apresenta a distribuição dos resultados categorizados como verdadeiro-positivo, falso-positivo, verdadeiro-negativo e falso-negativo.

Figura 9 - Performance do meio MSA.



Fonte: Autor (2025)

Legenda: VP: verdadeiro-positivo; FP: falso-positivo; VN: verdadeiro-negativo; FN: falso-negativo.

Dos 61 isolados que apresentaram colônias amarelas (manitol-positivas), em 47 confirmaram-se coagulase-positivos (verdadeiro-positivos) e 14 mostraram-se coagulase-negativos (falso-positivos). Dos 62 isolados que produziram colônias rosa ou vermelhas (manitol-negativas), em 46 confirmaram-se coagulase-negativos (verdadeiro-negativos) e em 16 revelaram-se coagulase-positivos (falso-negativos). Os resultados demonstraram que 47 isolados (38,2%) foram verdadeiro-positivos, 14 isolados (11,4%) falso-positivos, 46 isolados (37,4%) verdadeiro-negativos e 16 isolados (13,0%) falso-negativos.

A partir desses dados, foram calculados os parâmetros de desempenho diagnóstico do MSA, utilizando matriz de contingência 2×2. A Tabela 4 apresenta os principais parâmetros de validação diagnóstica.

Tabela 4 - Desempenho diagnóstico do meio Mannitol Salt Agar em comparação ao teste da coagulase.

Parâmetro	Fórmula	Resultado	Interpretação
Sensibilidade (%)	$VP / (VP + FN) \times 100$	74,6%	Boa capacidade do teste em identificar amostras verdadeiras positivas
Especificidade (%)	$VN / (VN + FP) \times 100$	76,7%	Boa capacidade do teste em identificar corretamente amostras negativas
Valor preditivo positivo - VPP (%)	$VP / (VP + FP) \times 100$	77,0%	Alta probabilidade de um resultado positivo ser verdadeiro
Valor preditivo negativo - VPN (%)	$VN / (VN + FN) \times 100$	74,2%	Confiabilidade moderada dos resultados negativos
Índice Kappa ( $\kappa$ )	$(P_o - P_e) / (1 - P_e)$	0,51	Concordância moderada entre o teste e o padrão-ouro

**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** IC 95%: intervalo de confiança de 95%. Concordância observada ( $P_o$ ): 0,756; Concordância esperada ao acaso ( $P_e$ ): 0,500.

A sensibilidade de 74,6% indica que o MSA identifica corretamente aproximadamente três em cada quatro isolados de *S. aureus*. A especificidade de 76,7% demonstra capacidade similar do teste em identificar corretamente ECN. Esse valor indica que cerca de um em cada quatro ECN fermenta manitol, gerando resultado falso-positivo.

O valor preditivo positivo (VPP) de 77,0% representa confiabilidade substancial dos resultados positivos. Quando o MSA indica presença de *S. aureus* através de colônia amarela, existe 77% de probabilidade de que o isolado seja realmente coagulase-positivo. O valor preditivo negativo (VPN) de 74,2% indica confiabilidade moderada dos resultados negativos. O valor de 77,0% demonstra que, aproximadamente, um em cada quatro isolados com colônia rosa é coagulase-positivo, representando cepas de *S. aureus* que não fermentam manitol ou apresentam fermentação tardia.

O índice Kappa de 0,51 indica concordância moderada entre os dois métodos, segundo os critérios de Landis e Koch (1977). Esse resultado sugere que o MSA apresenta desempenho adequado como método de triagem presuntiva, embora a confirmação através do teste da coagulase permaneça necessária para identificação definitiva de *S. aureus*.

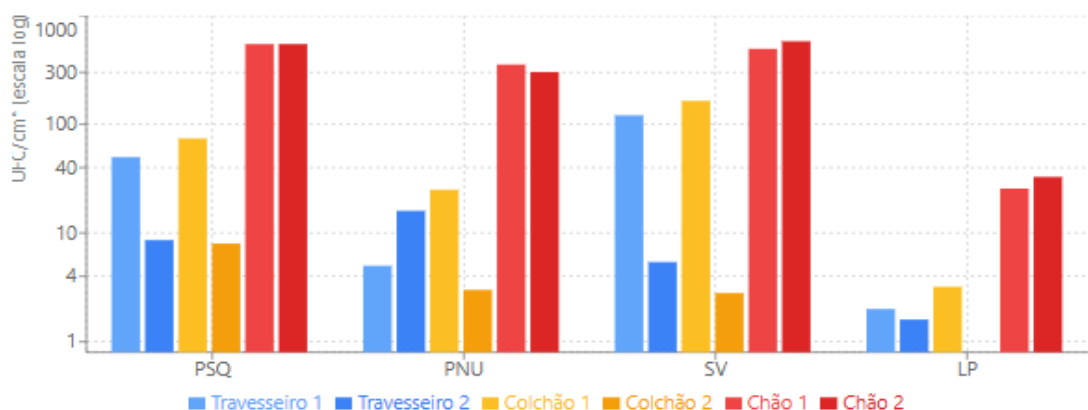
Os valores nos parágrafos acima situam-se dentro da faixa reportada na literatura para meios seletivos e diferenciais. Kateete e pesquisadores (2010) avaliaram desempenho do MSA em isolados clínicos, obtendo sensibilidade de 83,2% e especificidade de 72,5%, valores próximos aos observados no presente estudo. Shittu e colaboradores (2006) reportaram sensibilidade de 89,3% e especificidade de 86,4%, em caracterização de *S. aureus* isolados, em casos de mastite bovina, demonstrando variação no desempenho do teste conforme características da população microbiana avaliada. A utilização do índice Kappa para avaliar concordância entre métodos diagnósticos têm sido amplamente adotada na literatura microbiológica, sendo considerado padrão-ouro para mensuração de concordância além do acaso (LANDIS; KOCH, 1977).

A presença de falso-positivos (11,4% dos isolados totais) indica ECN fermentadores de manitol, enquanto falso-negativos (13,0% dos isolados totais) representam *S. aureus* com fermentação tardia ou ausente do manitol. A concordância moderada entre o teste presuntivo e o padrão-ouro (Kappa = 0,51) confirma que o MSA constitui ferramenta adequada para triagem, mas requer confirmação obrigatória através de testes adicionais.

### 5.8. Identificação de pontos críticos de contaminação

A análise da distribuição espacial da contaminação permitiu a identificação de pontos críticos que apresentaram maior risco de disseminação de *Staphylococcus* no ambiente hospitalar. Os dados foram analisados considerando a carga total de *Staphylococcus* (expressa em UFC/cm<sup>2</sup>) e a proporção de *S. aureus* confirmados por coagulase entre os isolados testados. A Figura 10 apresenta a distribuição da carga microbiana por ponto amostral em cada quarto avaliado.

Figura 10 - Distribuição da carga microbiana por ponto amostral nos quartos avaliados.



Fonte: Autor (2025)

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina; PNU: enfermaria feminina; SV: sala vermelha; LP: quarto pós-limpeza. TR1: travesseiro face frontal; TR2: travesseiro face posterior; CO1: colchão região cefálica; CO2: colchão região podálica; CH1: piso próximo ao leito; CH2: piso próximo à porta.

O gráfico evidencia gradiente espacial de contaminação, com maior carga no piso (CH1 e CH2), níveis intermediários no colchão (CO1 e CO2) e menores cargas no travesseiro (TR1 e TR2). Esse padrão mantém-se consistente nos três quartos ocupados, sugerindo dinâmica universal de deposição microbiana, independente do tempo de ocupação ou patologia do paciente.

O piso próximo à porta (CH2) apresentou a maior carga microbiana média entre todos os pontos avaliados, com 476 UFC/cm<sup>2</sup> considerando os três quartos ocupados (PSQ: 546 UFC/cm<sup>2</sup>, PNU: 302 UFC/cm<sup>2</sup>, SV: 580 UFC/cm<sup>2</sup>). Esse ponto apresentou proporção elevada de *S. aureus* entre os isolados testados, variando de 50% no quarto PSQ a 67% no quarto SV. A elevada contaminação nessa localização reflete a concentração de tráfego de profissionais de saúde, visitantes e equipamentos, que transportam microrganismos de áreas externas para o interior do quarto. Chaoui e colaboradores (2019) confirmaram que a contaminação de pisos contribui para disseminação horizontal de microrganismos multirresistentes, através de rodas de equipamentos e calçados de profissionais.

O piso próximo ao leito (CH1) demonstrou o segundo maior nível de contaminação, com média de 464,7 UFC/cm<sup>2</sup> (PSQ: 546 UFC/cm<sup>2</sup>, PNU: 354 UFC/cm<sup>2</sup>, SV: 494 UFC/cm<sup>2</sup>). A proporção de *S. aureus* nesse ponto variou de 67% no quarto PNU a 75% no quarto PSQ. Esta superfície constitui área crítica devido à proximidade com o paciente e à frequente manipulação durante procedimentos assistenciais, favorecendo a deposição de material biológico contaminado.

A região cefálica do colchão (CO1) apresentou carga intermediária de 87,5 UFC/cm<sup>2</sup> em média (PSQ: 74,1 UFC/cm<sup>2</sup>, PNU: 25,0 UFC/cm<sup>2</sup>, SV: 164,2 UFC/cm<sup>2</sup>). Este ponto demonstrou proporção substancial de *S. aureus*, variando de 60% no quarto PSQ a 89% no quarto PNU. A elevada contaminação nessa superfície relaciona-se ao contato direto e prolongado com o paciente, especialmente em regiões corporais que apresentam maior densidade de colonização por *S. aureus* como fossas nasais e orofaringe, conforme documentado por Taylor, Tobin e Unakal (2025).

A face frontal do travesseiro (TR1) registrou média de 58,9 UFC/cm<sup>2</sup> (PSQ: 49,8 UFC/cm<sup>2</sup>, PNU: 5,0 UFC/cm<sup>2</sup>, SV: 120,9 UFC/cm<sup>2</sup>). A proporção de *S. aureus* variou substancialmente entre os quartos, de 20% no quarto PNU a 71% no quarto SV. Essa variação

sugere que a contaminação do travesseiro depende fortemente de características individuais do paciente, como status de colonização nasal e padrões respiratórios.

As superfícies com menor contato direto apresentaram as menores cargas microbianas. A região podálica do colchão (CO2) demonstrou média de 4,6 UFC/cm<sup>2</sup> (PSQ: 8,0 UFC/cm<sup>2</sup>, PNU: 3,0 UFC/cm<sup>2</sup>, SV: 2,8 UFC/cm<sup>2</sup>), refletindo menor deposição microbiana em áreas distantes das principais fontes de contaminação. A face posterior do travesseiro (TR2) apresentou média de 10,0 UFC/cm<sup>2</sup> (PSQ: 8,6 UFC/cm<sup>2</sup>, PNU: 16,0 UFC/cm<sup>2</sup>, SV: 5,4 UFC/cm<sup>2</sup>), confirmando que superfícies sem contato direto com o paciente apresentam cargas substancialmente inferiores.

A identificação desses pontos críticos fornece subsídios para priorização de intervenções de limpeza e desinfecção. Os pisos devem receber atenção especial nos protocolos de higienização, com limpeza frequente, utilizando desinfetantes de amplo espectro. A região cefálica do colchão e a face frontal do travesseiro requerem desinfecção cuidadosa durante a limpeza concorrente e terminal, com atenção ao tempo de contato adequado dos desinfetantes. A implementação de barreiras físicas como capas impermeáveis em colchões e travesseiros, pode reduzir a contaminação profunda dessas superfícies e facilitar os processos de limpeza, conforme sugerido por Yuen, Chung e Loke (2015).

### 5.9. Relação entre tempo de ocupação e carga microbiana

A análise descritiva da relação entre tempo de ocupação do leito e carga microbiana revelou padrão não linear. A Tabela 5 apresenta a síntese dos dados de tempo de ocupação e carga microbiana total por quarto.

Tabela 5 - Tempo de ocupação e carga microbiana total nos quartos ocupados.

Quarto	Tempo de Ocupação	Horas	Carga Microbiana Total (UFC/cm <sup>2</sup> )
PSQ	5 dias	120h	1.233
PNU	2,5 dias	60 h	705
SV	6 horas	6 h	1367

Fonte: Autor (2025)

**Legenda:** PSQ: enfermaria masculina com paciente internado por transtorno psiquiátrico; PNU: enfermaria feminina com paciente internado por pneumonia; SV: sala vermelha com paciente em insuficiência respiratória.

O quarto PSQ, ocupado há 5 dias (120 horas), apresentou carga microbiana total de 1.233 UFC/cm<sup>2</sup>, superior ao quarto PNU, ocupado há 2,5 dias (60 horas), que registrou 705 UFC/cm<sup>2</sup>. No entanto, o quarto SV, ocupado há apenas 6 horas, apresentou a maior carga

microbiana total entre todos os ambientes avaliados (1.367 UFC/cm<sup>2</sup>), superando inclusive quartos com ocupação prolongada.

A análise por pontos amostrais específicos revelou padrões distintos de contaminação. Nos pontos do piso (CH1 e CH2) e na região cefálica do colchão (CO1), o quarto SV frequentemente apresentou as maiores cargas: CH2 (SV: 580 UFC/cm<sup>2</sup>; PSQ: 546 UFC/cm<sup>2</sup>; PNU: 302 UFC/cm<sup>2</sup>) e CO1 (SV: 164,2 UFC/cm<sup>2</sup>; PSQ: 74,1 UFC/cm<sup>2</sup>; PNU: 25,0 UFC/cm<sup>2</sup>). Esse padrão sugere que a distribuição da contaminação é influenciada por dinâmicas locais específicas de cada ponto amostral, não apenas pelo tempo de permanência do paciente.

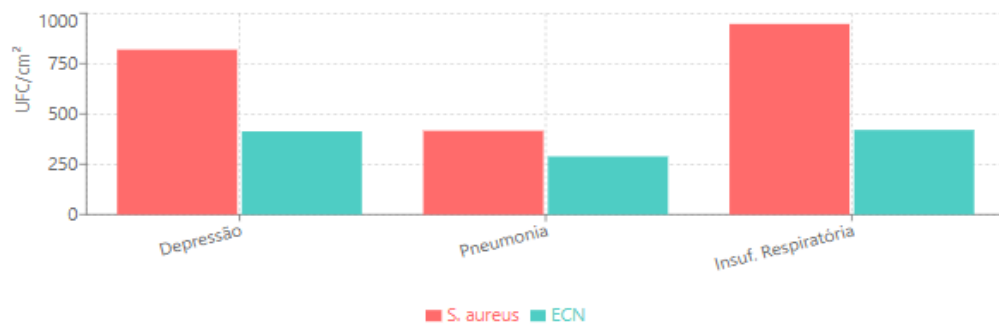
É importante ressaltar as limitações dessa análise. Em apenas três quartos ocupados (n=3), não é possível estabelecer correlações estatísticas robustas entre tempo de ocupação e carga microbiana. Os dados demonstram que fatores além do tempo de internação são determinantes críticos para a carga microbiana ambiental. A gravidade clínica do paciente, refletida pela internação em sala vermelha (área de emergência de alta complexidade), aparenta exercer influência substancial sobre os níveis de contaminação.

A frequência de manipulação das superfícies pela equipe assistencial, que tende a ser maior em pacientes graves que requerem intervenções frequentes, constitui outro fator relevante. As características da patologia de base, especialmente aquelas que afetam o sistema respiratório e aumentam a produção de secreções, também influenciam significativamente a disseminação microbiana para o ambiente. Adicionalmente, a efetividade e frequência das práticas de limpeza concorrente implementadas em cada setor podem modular a carga microbiana independentemente do tempo de ocupação. Porter e colaboradores (2024) demonstraram que patógenos hospitalares podem persistir por períodos prolongados em superfícies inanimadas, sugerindo que fatores além do tempo de internação influenciam os níveis de contaminação observados. Kramer, Schwebke e Kampf (2006) documentaram que *S. aureus* pode sobreviver entre sete dias e sete meses, em superfícies secas, reforçando a importância de protocolos rigorosos de desinfecção, independentemente do tempo de ocupação.

#### **5.10. Análise da contaminação por patologia**

A comparação entre os três quartos ocupados revelou diferenças na carga microbiana que podem estar relacionadas à condição clínica dos pacientes. A Figura 11 apresenta a comparação da carga microbiana total presuntiva entre as diferentes patologias.

Figura 11 - Comparação da carga microbiana total de colônias amarelas e rosa entre as diferentes patologias.



**Fonte:** Autor (2025)

**Legenda:** SV: sala vermelha (insuficiência respiratória); PSQ: enfermaria masculina (transtorno psiquiátrico); PNU: enfermaria feminina (pneumonia).

O quarto SV (insuficiência respiratória) apresentou maior carga total de colônias amarelas (947,7 UFC/cm<sup>2</sup>) e rosa (419,6 UFC/cm<sup>2</sup>), totalizando 1.367,3 UFC/cm<sup>2</sup>. O quarto PSQ (transtorno psiquiátrico) registrou 819,9 UFC/cm<sup>2</sup> de colônias amarelas e 413,7 UFC/cm<sup>2</sup> de rosa, totalizando 1.233,6 UFC/cm<sup>2</sup>. O quarto PNU (pneumonia) demonstrou 416,8 UFC/cm<sup>2</sup> de amarelas e 288,0 UFC/cm<sup>2</sup> de rosa, totalizando 704,8 UFC/cm<sup>2</sup>. A maior carga microbiana na sala vermelha sugere que a gravidade do quadro clínico e a intensidade de manipulação assistencial influenciam substancialmente a contaminação ambiental, independentemente do tempo de ocupação.

A proporção de isolados coagulase-positivos variou entre os quartos: SV (insuficiência respiratória) apresentou 55,9% de *S. aureus* (19/34 isolados), seguido por PSQ (transtorno psiquiátrico) com 58,3% (21/36 isolados) e PNU (pneumonia) com 41,7% (15/36 isolados).

O quarto PNU, apesar do paciente apresentar diagnóstico de pneumonia (patologia respiratória que poderia teoricamente favorecer maior disseminação de *S. aureus*), demonstrou carga microbiana total inferior aos demais quartos ocupados (705 UFC/cm<sup>2</sup> versus 1.233 UFC/cm<sup>2</sup> em PSQ e 1.367 UFC/cm<sup>2</sup> em SV). Esse achado aparentemente contraditório pode estar relacionado a múltiplos fatores: tempo intermediário de ocupação (2,5 dias), que pode não ter sido suficiente para acúmulo progressivo de contaminação; possível implementação de precauções adicionais para patologias respiratórias, incluindo uso de máscaras e higiene respiratória, conforme recomendado pela World Health Organization (2020); menor mobilização do paciente devido à condição clínica, reduzindo a disseminação mecânica de

microrganismos; ou realização de limpeza concorrente mais frequente e efetiva nesse setor específico.

A análise dos pontos de maior contato com secreções respiratórias demonstrou carga elevada no quarto SV. A região cefálica do colchão (CO1) apresentou 164,2 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto SV, valor 2,2 vezes superior ao quarto PSQ (74,1 UFC/cm<sup>2</sup>) e 6,6 vezes superior ao quarto PNU (25,0 UFC/cm<sup>2</sup>). Esse gradiente acentuado sugere relação entre gravidade do quadro respiratório e contaminação de superfícies próximas à cabeça do paciente.

A face frontal do travesseiro (TR1) seguiu padrão similar, com 120,9 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto SV, 49,8 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto PSQ e apenas 5,0 UFC/cm<sup>2</sup> no quarto PNU. A baixa contaminação do travesseiro no quarto PNU, apesar da pneumonia, pode estar relacionada ao uso de precauções respiratórias ou à menor produção de aerossóis durante o período de coleta.

A elevada contaminação na sala vermelha (SV) pode relacionar-se à maior manipulação por equipe assistencial, associada à gravidade do quadro clínico. Pacientes em insuficiência respiratória requerem intervenções frequentes, incluindo monitorização intensiva, ajustes de oxigenoterapia, aspiração de vias aéreas e posicionamento no leito. Cada uma dessas intervenções representa oportunidade de contato entre profissionais, pacientes e superfícies ambientais, favorecendo transferência bidirecional de microrganismos. Adicionalmente, a produção aumentada de aerossóis respiratórios em pacientes com insuficiência respiratória pode contribuir para maior deposição microbiana em superfícies próximas.

O quarto PSQ, apesar do paciente apresentar transtorno psiquiátrico, sem componente infeccioso aparente, demonstrou carga microbiana elevada (1.233 UFC/cm<sup>2</sup>), provavelmente relacionada ao tempo prolongado de internação (5 dias) e ao acúmulo progressivo de contaminação. Esse achado reforça a importância do tempo de ocupação como fator contribuinte, embora não exclusivo, para contaminação ambiental. Odoyo e colaboradores (2023) documentaram que a contaminação ambiental por bactérias multirresistentes em diversos departamentos hospitalares representa risco elevado de infecções relacionadas à assistência à saúde, independentemente da patologia de base dos pacientes internados.



## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo alcançou os objetivos propostos ao caracterizar o perfil de *Staphylococcus* coagulase-positivos e negativos em superfícies hospitalares e validar o meio Mannitol Salt Agar como ferramenta de monitoramento ambiental.

A quantificação da carga microbiana revelou distribuição heterogênea entre as superfícies avaliadas, com os pisos concentrando a maior parte da contaminação recuperada. Esse padrão espacial demonstra que superfícies distantes do contato direto com o paciente funcionam como reservatórios críticos de microrganismos no ambiente hospitalar. A comparação entre quartos ocupados e o ambiente submetido à limpeza terminal confirmou a eficácia dos protocolos de higienização na redução da carga microbiana, embora a persistência de contaminação residual indique necessidade de aprimoramento dos procedimentos institucionais.

A diferenciação fenotípica por meio dos testes de catalase, coloração de Gram e coagulase possibilitou a confirmação do gênero *Staphylococcus* e a distinção entre espécies coagulase-positivas e negativas. A distribuição equilibrada entre os dois grupos contraria a expectativa inicial de predominância de *Staphylococcus aureus* e ressalta a importância crescente dos *Staphylococcus* coagulase-negativos como patógenos de relevância hospitalar.

A avaliação do desempenho diagnóstico do meio Mannitol Salt Agar demonstrou sensibilidade e especificidade satisfatórias para método de triagem presuntiva. A concordância moderada com o teste da coagulase valida o uso do MSA em protocolos de vigilância ambiental, desde que os resultados sejam confirmados por testes bioquímicos adicionais. A identificação de resultados falso-positivos e falso-negativos reforça a necessidade dessa confirmação para identificação definitiva de *Staphylococcus aureus*.

A identificação dos pontos amostrais com maior contaminação fornece subsídios para priorização de intervenções nos protocolos de limpeza e desinfecção hospitalar. A relação entre tempo de ocupação do leito e carga microbiana mostrou-se complexa, indicando que fatores como gravidade clínica do paciente, intensidade de manipulação assistencial e características da patologia de base exercem influência significativa sobre os níveis de contaminação ambiental.

Os resultados obtidos contribuem para a caracterização da microbiota ambiental em hospital brasileiro de médio porte e validam metodologia acessível para vigilância microbiológica. A implementação de monitoramento sistemático de acordo com esses achados

pode orientar estratégias de controle de infecção, baseadas em evidências contextualizadas à realidade local, contribuindo para a redução das infecções relacionadas à assistência à saúde.

Estudos futuros devem ampliar: o número de quartos e pontos amostrais; realizar coletas, em múltiplos momentos, que avaliem o acúmulo progressivo de contaminação; implementar identificação molecular e de identidades (MALDI-TOF/PCR), para caracterização em nível de espécie; e avaliar perfis de resistência antimicrobiana.

A expansão de estudos para outras áreas hospitalares fornecerá panorama completo da contaminação institucional. A correlação de dados ambientais com incidência de IRAS por *Staphylococcus* estabelecerá relação causal entre contaminação ambiental e desfechos clínicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Hospitalar**. Módulo I. Brasília: Ministério da Saúde, 2000.
- ARGEMI, X. et al. **Coagulase-negative staphylococci pathogenomics**. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 5, artigo 1215, 2019.
- AYENI, F. A.; ANDERSEN, C.; NØRSKOV-LAURITSEN, N. **Comparison of growth on mannitol salt agar, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, VITEK® 2 with partial sequencing of 16S rRNA gene for identification of coagulase-negative staphylococci**. *Microbial Pathogenesis*, v. 105, p. 255-259, 2017.
- AYEPOLA, O. O. et al. **Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus isolates from clinical samples in Ibadan, Nigeria**. *Plos One*, v. 10, n. 9, p. e0137531, 2015.
- BECKER, K.; HEILMANN, C.; PETERS, G. **Coagulase-negative staphylococci**. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 27, n. 4, p. 870-926, 2014.
- BHATTA, D. R. et al. **Bacterial contamination of frequently touched objects in a tertiary care hospital of Pokhara, Nepal: how safe are our hands?** *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 7, artigo 97, 2018.
- BOUCHRA, O.; EL OUALI LALAMI, A.; BENAICHA, N. **Environmental surfaces in healthcare setting: a great potential risk of pathogens transmission**. *Biomedical Research*, v. 28, n. 6, p. 2398-2401, 2017.
- CHAOUI, L. et al. **Contamination of the surfaces of a health care environment by multidrug-resistant (MDR) bacteria**. *International Journal of Microbiology*, v. 2019, artigo 3236526, 2019.
- CHAPMAN, G. H. **The significance of sodium chloride in studies of staphylococci**. *Journal of Bacteriology*, v. 50, n. 2, p. 201-203, 1945.
- COSTA, D. M. D. et al. **Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: epidemiology and potential impacts**. *Letters in Applied Microbiology*, v. 68, n. 4, p. 277-295, 2019.
- DANCER, S. J. **Hospital cleaning: past, present, and future**. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 12, artigo 80, 2023.

DE ARAÚJO, K. B.; ABINADER, E. O.; DE ARAÚJO, G. A.; DA SILVA XISTO, V. H.; DA SILVA FLEURY, S.; MARQUES, C. A. **Educação continuada: limpeza e desinfecção de superfícies em serviço de saúde, relato de experiência.** Research, Society and Development, v. 9, n. 9, e272997207, 2020.

DE PAULA, C. C.; PASSOS, J. P. C.; DE LAMARE PAULA, C. A. V.; SHIMOYA-BITTENCOURT, W. **Análise microbiológica de superfícies inanimadas de Unidades de terapia intensiva em hospital privado e público.** Saúde (Santa Maria), v. 50, n. 1, e85372, 2024.

DRESCH, F. et al. **Contaminação de superfícies localizadas em unidades de terapia intensiva e salas de cirurgia: uma revisão sistemática da literatura.** Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, v. 8, n. 4, p. 437-443, 2018.

FAGGION, A. S.; DE LIMA, R. P.; TOMITA, G. Y.; GREGORIO, F. P.; DANELLI, T.; PERUGINI, M. R. E.; KERBAUY, G. **Contaminação ambiental microbiológica em uma Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica.** Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, v. 13, n. 4, 2023.

FERREIRA, A. M. et al. **Condition of cleanliness of surfaces close to patients in an isolation room: a microbiological approach.** Revista Latino-Americana de Enfermagem, v. 19, n. 6, p. 1236-1244, 2011.

GIOVINAZZO, R. et al. **Benchmark guidance values for microbiological monitoring on surfaces: a literature overview.** Biomedicine & Prevention, v. 4, n. 135, p. 174-80, 2017.

HAMED, N. M. H. et al. **The impact of enhanced cleaning on bacterial contamination of the hospital environmental surfaces: a clinical trial in critical care unit in an Egyptian hospital.** Antimicrobial Resistance & Infection Control, v. 13, artigo 138, 2024.

HOGAN, P. G. et al. **Evaluation of environmental sampling methods for detection of *Staphylococcus aureus* on fomites.** Annals of Public Health Research, v. 2, n. 1, artigo 1013, 2015.

KATEETE, D. P. et al. **Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test.** Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, v. 9, artigo 23, 2010.

KRAMER, A.; SCHWEBKE, I.; KAMPF, G. **How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review.** BMC Infectious Diseases, v. 6, artigo 130, 2006.

KURASHIGE, E. J. O.; OIE, S.; FURUKAWA, H. **Contamination of environmental surfaces by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in rooms of inpatients with MRSA-positive body sites.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 47, n. 3, p. 703-707, 2016.

- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. **The measurement of observer agreement for categorical data.** *Biometrics*, v. 33, n. 1, p. 159-174, 1977.
- MADSEN, A. M. et al. **Evaluation of methods for sampling of *Staphylococcus aureus* from indoor surfaces.** *Annals of Work Exposures and Health*, v. 64, n. 9, p. 1001-1012, 2020.
- MAEDA, K.; OIE, S.; FURUKAWA, H. **Staphylococcus aureus contamination of environmental surfaces and efficacy of alcohol wiping once daily in a hospital with a long-term care facility.** *Journal of Hospital Administration*, v. 4, n. 6, p. 31-36, 2015.
- MENEZES, R. P. et al. **Inanimate surfaces and air contamination with multidrug resistant species of *Staphylococcus* in the neonatal intensive care unit environment.** *Microorganisms*, v. 10, n. 3, artigo 567, 2022.
- MICHALIK, M. et al. **Coagulase-negative staphylococci (CoNS) as a significant etiological factor of laryngological infections: a review.** *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 19, artigo 26, 2020.
- ODOYO, E. et al. **Environmental contamination across multiple hospital departments with multidrug-resistant bacteria pose an elevated risk of healthcare-associated infections in Kenyan hospitals.** *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 12, artigo 22, 2023.
- OLIVEIRA-DE-SOUZA, C. W. et al. **Microbiological characterization of the surface contamination in surgical room areas in a hospital in São Paulo (Brasil).** *Infectio*, v. 18, n. 3, p. 96-101, 2014.
- O'TOOLE, G. A. **Classic spotlight: plate counting you can count on.** *Journal of Bacteriology*, v. 198, n. 23, p. 3127, 2016.
- PEDROSO, S. H. S. P. et al. **Coagulase-negative staphylococci isolated from human bloodstream infections showed multidrug resistance profile.** *Microbial Drug Resistance*, v. 24, n. 5, p. 635-647, 2018.
- PETERS, A. et al. **Impact of environmental hygiene interventions on healthcare-associated infections and patient colonization: a systematic review.** *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 11, artigo 38, 2022.
- PINHEIRO, L. R. B. **Caracterização de Estafilococos Coagulase-Negativa de origem hospitalar e comunitária quanto à diversidade clonal e aos determinantes de resistência antimicrobiana.** 2018. 152 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2018.
- POCHTOVYI, A. A.; VASINA, D. V.; KUSTOVA, D. D.; DIVISENKO, E. V.; KUZNETSOVA, N. A.; BURGASOVA, O. A.; GINTSBURG, A. L. **Contamination of hospital surfaces with bacterial pathogens under the current COVID-19 outbreak.** *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, n. 17, artigo 9042, 2021.

PORTER, A. et al. **How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces?** A scoping review. *Journal of Hospital Infection*, v. 147, p. 25–31, 2024.

RASHEED, N. A.; HUSSEIN, N. R. **Staphylococcus aureus: an overview of discovery, characteristics, epidemiology, virulence factors and antimicrobial sensitivity.** *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, v. 8, n. 3, p. 1160-1183, 2021.

RIGOTTI, M. A.; FERREIRA, A. M.; NOGUEIRA, M. C. L.; ALMEIDA, M. T. G. D.; GUERRA, O. G.; ANDRADE, D. D. **Avaliação de três técnicas de fricção de superfície para remoção de matéria orgânica.** *Texto & Contexto Enfermagem*, v. 24, p. 1061-1070, 2015.

SBIBIH, Y. et al. **Microbial ecology of protective isolation room: air and surfaces.** *La Tunisie Médicale*, v. 102, n. 7, p. 394-398, 2024.

SHIELDS, P. **Mannitol Salt Agar (MSA).** In: *MicrobeLibrary*. Washington: American Society for Microbiology, 2015.

SHITTU, A.; et al. **Identification and molecular characterization of mannitol salt positive, coagulase-negative staphylococci from nasal samples of medical personnel and students.** *Journal of Medical Microbiology*, v. 55, n. 3, p. 317-324, 2006.

SULEYMAN, G.; ALANGADEN, G.; BARDOSSY, A. C. **The role of environmental contamination in the transmission of nosocomial pathogens and healthcare-associated infections.** *Current Infectious Disease Reports*, v. 20, n. 6, p. 12, 2018.

TAYLOR, T. A.; TOBIN, E. H.; UNAKAL, C. G. **Staphylococcus aureus infection.** In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2025.

TEIXEIRA, J. C. M. **Revisão da literatura sobre contaminação microbiológica de superfícies em contexto hospitalar.** 2020. Dissertação (Mestrado) – Instituto Politécnico do Porto, Porto, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cleaning and disinfection of environmental surfaces in the context of COVID-19: interim guidance.** Geneva: WHO, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Infection prevention and control in-service education and training curriculum.** Geneva: World Health Organization, 2024b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance.** Geneva: World Health Organization, 2024a.

YUEN, J. W. M.; CHUNG, T. W. K.; LOKE, A. Y. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination in bedside surfaces of a hospital ward and the potential effectiveness of enhanced disinfection with an antimicrobial polymer surfactant.** International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 12, n. 3, p. 3026-3041, 2015.

ZIEBUHR, W. **Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis: emerging pathogens in nosocomial infections.** Contributions to microbiology, v. 8, p. 102-107, 2001.