**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM**

FLÁVIA MORAIS GOMES PINTO

**ANÁLISE DA CARGA MICROBIANA NOS INSTRUMENTOS
UTILIZADOS EM CIRURGIAS ORTOPÉDICAS**

**SÃO PAULO
2009**

FLÁVIA MORAIS GOMES PINTO

**ANÁLISE DA CARGA MICROBIANA NOS INSTRUMENTOS
UTILIZADOS EM CIRURGIAS ORTOPÉDICAS**

Dissertação apresentada à Escola de
Enfermagem da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Mestre em Enfermagem.

Área de concentração:
Enfermagem na Saúde do Adulto.

Orientadora:
Prof. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano

**SÃO PAULO
2009**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: _____

Data: ____/____/____

Catálogo na Publicação (CIP)
Biblioteca “Wanda de Aguiar Horta”
Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo

Pinto, Flávia Morais Gomes

Análise da carga microbiana nos instrumentos utilizados em cirurgias ortopédicas. / Flávia Morais Gomes Pinto. – São Paulo, 2009.

100 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Prof^a Dr^a Kazuko Uchikawa Graziano

1. Infecção hospitalar 2. Cirurgia ortopédica 3. Enfermagem em centro cirúrgico I. Título

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: FLÁVIA MORAIS GOMES PINTO

Título: ANÁLISE DA CARGA MICROBIANA NOS INSTRUMENTOS
UTILIZADOS EM CIRURGIAS ORTOPÉDICAS

Dissertação apresentada à Escola de
Enfermagem da Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de
Mestre em Enfermagem.

Aprovado em: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Este trabalho foi realizado na Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo no Programa de Pós-Graduação estrito senso do Programa Enfermagem na Saúde do Adulto – PROESA com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Dedicatória

*A meu grande amor e marido,
Fernando Campos Gomes Pinto,
por estar sempre a meu lado, proporcionando-me
estrutura, apoio, incentivo e consolando-me nos
momentos difíceis da vida e trazendo o sol todas
as manhãs a meu coração. Sua ajuda foi
fundamental para a conclusão deste trabalho.
Obrigada, amo você!*

*A meus pais
Marisa dos Santos e
José de Souza Moraes,
pelo amor, carinho, compreensão e exemplo de
vida pautado em honestidade e trabalho. Por
não medirem esforços em investir em minha
educação e formação profissional.
Tenho muito orgulho de ser filha de vocês.
Amo vocês!*

Agradecimentos

A minha orientadora e “mãe” acadêmica,

Professora Dra. Kazuko Uchikawa Graziano,

pela paciência e confiança que depositou em mim no decorrer deste trabalho, pela disponibilidade incomparável em ajudar, pelo exemplo de sabedoria e humildade, que traz em seu modo de ensinar. A senhora já faz parte de minha história, e com muito orgulho e admiração continuarei minha trajetória acadêmica a seu lado.

A minha família,

Priscila e Odirley, meus irmãos

Renato e Cristiane, meus cunhados

João Vitor, Júnior e Dimitry, meus sobrinhos,

que mesmo distante apoiaram-me como família, torcendo pela minha felicidade e sucesso profissional. Vocês sempre estarão presentes em meu coração! Não há desafio no mundo que uma família regada de amor não possa superar. Amo vocês!

À Família Gomes Pinto

Eli e Alzerino, meus sogros

Renata e André, meus cunhados

Amanda e Fernando, meus enteados,

pelo enorme carinho com que me receberam, por me acolherem como um membro da família, pela paciência e compreensão nos momentos difíceis e por me transmitirem sempre uma energia de amor e paz. Sinto-me Gomes Pinto mesmo. Obrigada, por tudo!

Aos enfermeiros

Rafael Queiroz de Souza e

Jane de Assis,

pela imensurável ajuda na coleta de amostras, que sem vocês nada teria ocorrido com tanta eficiência e qualidade. Agradeço pela disponibilidade e compromisso nestes meses de trabalho. Foi muito rico dividir esta experiência com vocês. Valeu por tudo!

Ao Instituto de Ortopedia e Traumatologia,
pela oportunidade de desenvolver a pesquisa ao lado de pessoas capacitadas, competentes e comprometidas com a saúde dos pacientes.

À Equipe de Enfermagem do Centro cirúrgico IOT-HC,
pela ajuda por parte das enfermeiras, auxiliares, técnicos de enfermagem e equipes médicas na coleta dos materiais, sempre com espírito acadêmico. Em especial a Enf^a Simone Batista, que contribuiu grandiosamente disponibilizando espaço físico, acesso aos horários das cirurgias, circulação no CC e tudo mais.

Departamento de Controle de Infecção IOT-HC
À Dr^a Ana Lúcia Lei Munhoz Lima, pelas orientações e direcionamentos da pesquisa e pelas valiosas contribuições no exame de qualificação. A todas as enfermeiras do departamento, em especial, a Adriana e a Cássia, que direta ou indiretamente, contribuíram na execução desta pesquisa.

Ao Serviço de Controle de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo
À Dr^a Lycia Mimica e a Microbiologista Cely Barreto da Silva, pelo auxílio de toda a fase da identificação microbiana, sem medirem esforços ou tempo nesta etapa do trabalho. Pelo carinho recebido todas as vezes que chegava cheia de dúvidas. Pelo aprendizado que recebi com muita paciência e competência de vocês. A todos que participaram de perto, Dra. Marinês, Carlos, Alessandra, Suzeth, Dr^a Sueli, Dona Cida... meu muito obrigada!

Às amigas

Vânia Regina Goveia e

Silma Maria Cunha Pinheiro Ribeiro,

*Pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho,
pelas ricas contribuições e sugestões nas correções da
dissertação, pela consideração e carinho que recebo de
vocês.*

À Profª Eutália Aparecida Cândido de Araújo,

*pela disponibilidade de analisar os resultados desta
pesquisa com muita agilidade e compromisso.*

A Neusa do laboratório da FEEUSP,

*pela ajuda na organização do laboratório, no apoio
durante o desenvolvimento da parte laboratorial da
pesquisa, pelo recebimento dos materiais na minha
ausência e por alegrar nosso ambiente de trabalho com
sua energia contagiante.*

*A Dorinha, Marisa, Beth, Silvana, Dayse, Tieko,
Regiane, Renata*

*Sem vocês, o caminho teria sido muito mais
complicado!*

*A todos amigos, familiares, em especial, Cati, Si e Cris
Zarif, Samantha, Rita, Camila, Izabel, Liu Mara...*

A todos professores e funcionários da FEEUSP

A Deus, por tudo!

*“...a Ciência é obra coletiva dos séculos e de uma multidão
de homens que trazem, cada qual, o seu contingente
de observações aproveitáveis aqueles
que vêm depois...”*

(Allan Kardec, A Gênese - 1868)

Pinto FMG. Análise da carga microbiana nos instrumentos utilizados em cirurgias ortopédicas. Dissertação (Mestrado). São Paulo: Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, 2009.

RESUMO

O insucesso nos procedimentos cirúrgicos ortopédicos em razão de infecção pode levar a consequências desastrosas como a osteomielite e a perda de próteses implantadas. A infecção hospitalar é um desfecho de causa multifatorial, na qual a esterilização segura do instrumental cirúrgico ocupa uma posição de extrema importância. Não se sabe até o momento quais os reais desafios microbiológicos que a Central de Material e Esterilização (CME) vem enfrentando ao reprocessar a diversidade dos materiais utilizados nos procedimentos cirúrgicos. Micro-organismos com capacidade para esporular estão presentes em quantidade e frequência significativa? Sabe-se que estes se constituem como desafio mensurável na prática da esterilização, fazendo parte de indicadores biológicos. O objetivo desta pesquisa foi determinar e analisar a carga microbiana recuperada do instrumental cirúrgico, após uso em cirurgias ortopédicas, quantificando e identificando o gênero e a espécie do crescimento de bactérias e fungos. A investigação caracterizou-se como uma pesquisa exploratória, de campo e transversal com abordagem quantitativa. As amostras foram coletadas no Instituto de Ortopedia e Traumatologia (IOT) do Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), com técnica asséptica, depositando-as individualmente em um saco plástico previamente esterilizado, adicionando 500 mL de água de injeção. Para obtenção da carga microbiana, o instrumental foi sonificado em lavadora ultrassônica (US) por três sessões de 5 segundos cada e, consecutivamente, agitado por 5 minutos para complementar a extração da carga microbiana potencialmente presente na superfície dos materiais (externa e internamente). Em seguida, os lavados foram divididos em três partes iguais e submetidos à filtração em filtro Millipore® de 0,45 µm. Cada membrana foi cultivada em meio apropriado para o crescimento aeróbio, anaeróbio e fungos/leveduras. Para a identificação dos micro-organismos, foram utilizados kits e testes de identificação utilizados na rotina laboratorial de microbiologia clínica. Os resultados demonstraram que os três diferentes potenciais de contaminação apresentaram crescimento microbiano. Nas cirurgias limpas, 47% do instrumental estavam contaminados e o micro-organismo mais prevalente foi o *Staphylococcus* coagulase negativa (28%), seguido do *Bacillus subtilis* (11%). Nas cirurgias contaminadas e infectadas, houve um crescimento, de aproximadamente, 70% e 80%, respectivamente nos instrumentos, sendo maior o crescimento do *Staphylococcus* coagulase negativa (respectivamente, 32% e 29%) e *Staphylococcus aureus* (respectivamente, 28% e 43%). Considerando que os gêneros *Bacillus* e o *Clostridium* são capazes de esporularem, concluiu-se que a CME enfrenta um desafio ao precisar eliminar micro-organismos capazes de esporular, em uma densidade $\leq 10^2$ UFC, menor que a dos indicadores biológicos e, aproximadamente, 78% dos micro-organismos recuperados foram bactérias vegetativas com sua curva de morte em torno de 80 °C.

Palavras-chave: Infecção hospitalar, cirurgia ortopédica, instrumental cirúrgico, carga microbiana, Enfermagem em Central de Material e Esterilização.

Pinto FMG. "Analysis of the microbial load in the instruments used in orthopedic surgeries". Dissertation (Master's Degree). São Paulo: School of Nursing of the University of São Paulo, 2009.

ABSTRACT

The failure in orthopedic surgical procedures due to infection can lead to devastating consequences such as the loss of implanted prostheses. Hospital infection is an outcome with a multifactorial cause, in which the safe sterilization of the surgical instruments has an extremely important role. To date, it is not known what microbiological challenges the Material and Sterilization Center (MSC) has been facing when reprocessing the variety of materials used during these surgical procedures. Are microorganisms with the capacity to sporulate present in significant quantity and frequency? It is known that these microorganisms constitute a measurable challenge in sterilization practice and that they are part of the biological indicators. This study aimed at measuring the microbial load recovered from surgical instruments after their use in orthopedic surgeries, quantifying and identifying the genus and species of the bacterial and fungal growth. The study was characterized as an exploratory research, field research and cross-sectional with quantitative approach. The samples were collected at the Institute of Orthopedics and Traumatology (IOT) of Hospital das Clínicas (HC) of the School of Medicine of the University of São Paulo (FMUSP), using an aseptic technique, the samples were then placed in a plastic bag that had been previously sterilized with 500 mL of injection solution. To obtain the microbial load, the instruments were sonicated in an ultrasonic (US) washer for three 5-second sessions each and consecutively agitated for 5 minutes to complement the extraction of the microbial load potentially present on the surface of the materials (external and internally). Subsequently, the washed samples were fragmented in three equal parts and these were submitted to filtration in a 0.45 µm Millipore® filter. Each membrane was cultured in medium adequate for the growth of aerobic and anaerobic organisms, as well as fungi and yeasts. The identification of the microorganisms was carried out with identification kits and tests used in clinical microbiology laboratory routine. The results demonstrated that the three different contamination potentials presented microbial growth. In clean surgeries, 47% of the instruments were contaminated and the most prevalent microorganism was coagulase-negative *Staphylococcus* (28%) followed by *Bacillus subtilis* (11%). In contaminated and infected surgeries, a growth of approximately 70% and 80%, respectively, was identified in the instruments, with the higher growth being that of coagulase-negative *Staphylococcus* (respectively, 32% and 29%) and *Staphylococcus aureus* (respectively, 28% and 43%). Considering that the *Bacillus* and the *Clostridium* genera are capable of sporulating, we concluded that the MSC faces a challenge in having to eliminate microorganisms capable of sporulating, although in a lower density than that of biological indicators ($\leq 10^2$ UFC) and, approximately, 78% of the recovered microorganisms were vegetative bacteria that presented their curve of death at around 80°C.

Key words: Hospital Infection; Orthopedic Surgery; Surgical Instruments; Microbial Load; Nursing Staff in the Material and Sterilization Center.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Amostragem do instrumental para compor a amostra. São Paulo, 2008.....	39
Figura 2 - Lavadora Ultrassônica em funcionamento com as amostras. São Paulo, 2008....	42
Figura 3 - Agitador com o instrumental no interior do saco plástico. São Paulo, 2008.	42
Figura 4 - Sacos plásticos de poliuretano fechados com lacres numerados. São Paulo, 2008.....	43
Figura 5 - Bancada na sala de extração com os equipamentos de extração da carga microbiana. Acima a lavadora ultrassônica e abaixo o agitador. São Paulo, 2008.....	44
Figura 6 - Capela de fluxo laminar (VECO®). São Paulo, 2008.....	45
Figura 7 - Composição do sistema de filtração Sterifil Holder, Millipore®. São Paulo, 2008.....	46
Figura 8 - Sistema de filtração do lavado no interior da capela de fluxo laminar. São Paulo, 2008.....	46
Figura 9 - Cultivo das membranas nos meios de Agar Sangue, Agar Sabouraud e Agar Anaerinsol. São Paulo, 2008.....	47
Figura 10 - Jarra com corpo de policarbonato para atmosferas especiais e gerador de atmosfera de anaerobiose. São Paulo, 2008.....	48
Figura 11 - Testes bioquímicos do Kit NFII para identificação para bacilos Gram negativos não fermentadores. São Paulo, 2008.....	51
Figura 12 - Teste Sono Check para avaliar a permeabilidade das ondas ultrassônicas. São Paulo, 2008.....	52
Figura 13 - Meios de cultura com crescimento positivo, sendo: A - Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulase negativa e Acinetobacter baumannii, B - Pseudomonas aeruginosa, C - Staphylococcus aureus e Staphylococcus coagulase negativa, D - Penicillum sp, E - Tricophyton sp e F- Pseudomonas aeruginosa. São Paulo, 2008.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Apresentação das condições específicas de incubação para cada meio de cultura utilizado. São Paulo, 2008.....	48
Quadro 2 - Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos, classificados como procedimentos limpos. São Paulo, 2008.....	58
Quadro 3 - Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos, classificados como procedimentos contaminados. São Paulo, 2008.....	58
Quadro 4 - Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos, classificados como procedimentos infectados. São Paulo, 2008.....	59
Quadro 5 - Distribuição do crescimento microbiano das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos do grupo controle negativo. São Paulo, 2008.....	60
Quadro 6 - Análise do tempo de cirurgia e carga microbiana encontrada estratificada pelo potencial de contaminação: limpa, contaminada e infectada. São Paulo, 2008.....	61

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Comparação dos resultados de culturas das amostras dos instrumentais cirúrgicos de cirurgias infectadas com o resultado da cultura do paciente. São Paulo, 2008. 61
- Tabela 2** - Distribuição do crescimento microbiano segundo o tipo de instrumental cirúrgico coletado proveniente de cirurgias ortopédicas nos três potenciais de contaminação. São Paulo, 2008. 62
- Tabela 3** - Distribuição da média dos crescimentos positivos nos três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, segundo o número de UFC por instrumental. 62

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Poder em função do tamanho amostral. São Paulo, 2008.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CME	Central de Material e Esterilização
IOT	Instituto de Ortopedia e Traumatologia
HC	Hospital das Clínicas
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ml	Unidade de medida Mililitro (milésimo do litro)
US	Ultrassônica
µm	Unidade de medida micrometro (mícron)
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> dos Estados Unidos da América
CVE	Centro de Vigilância Epidemiológica
ISC	Infecção do sítio cirúrgico
ASA	American Society of Anesthesiologists
UFC	Unidade formadora de colônia
ETO	Óxido de Etileno
TSA	<i>Tryptic soy agar</i>
ASGE	<i>American Society for Gastrointestinal Endoscopy</i>
SGNA	<i>Society Gastroenterology Nurses and Associates</i>
EE-USP	Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo
KHz	Símbolo de Kilohertz
Rpm	Rotação por minuto
HEPA	<i>High efficiency particulate air</i>
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
mm	Unidade de medida Milímetro
SO	Sala de operação
NaCl	loreto de sódio
°C	Temperatura em grau Celsius
EUA	Estados Unidos da América
TSI	Tríplice de açúcares e ferro
NF	Não fermentadores

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	23
2.1 Aspectos conceituais e microbiológicos	23
2.2 Aspectos conceituais relacionados ao reprocessamento	26
2.3 Aspectos relacionados à carga microbiana de instrumentos cirúrgicos	28
3 OBJETIVOS.....	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 Tipo de pesquisa	38
4.2 Locais da pesquisa	38
4.3 Materiais	39
4.4 Método.....	41
4.4.1 Método para extração da carga microbiana	41
4.4.2 Identificação microbiana	49
4.4.3 Validação da metodologia para a coleta dos dados	52
4.4.4 Grupo controle negativo.....	54
4.5 Apresentação e tratamento dos dados	54
4.6 Procedimento Ético	55
5 RESULTADOS	57
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS	79
APÊNDICES	84
ANEXOS	97

1.

Introdução

1 INTRODUÇÃO¹

As infecções associadas aos cuidados de saúde são as mais frequentes e importantes complicações ocorridas em pacientes hospitalizados, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento. O “*Centers for Disease Control and Prevention*” (CDC) dos Estados Unidos da América (EUA) tem estimado que os custos com essas infecções excedem anualmente a U\$ 4,5 bilhões, 90 mil mortes e 2 milhões de casos de infecções (CDC, 2006). Estudos em hospitais brasileiros revelaram que as infecções do sítio cirúrgico (ISC) são as maiores fontes de morbidade e mortalidade entre os pacientes submetidos a cirurgias. Estima-se que a incidência de ISC em cirurgias consideradas limpas varia de 2% a 5% e as ISC correspondem a 16% do total de infecções hospitalares (CVE, 2004).

Grande parte das infecções hospitalares é causada por um desequilíbrio da relação existente entre a microbiota humana normal e os mecanismos de defesa do hospedeiro. Isto pode ocorrer por alguns fatores, tais como, a própria doença de base do paciente, alterações da população microbiana e dos procedimentos invasivos, como as cirurgias (Wong, 1999; Fernandes et al, 2000). Durante o ato operatório, a fonte mais frequente da ISC é a própria microbiota do paciente. Estima-se que, após 24 horas do procedimento, a ferida cirúrgica esteja selada e, portanto, protegida de contaminação exógena. Fontes exógenas têm importância primordial no ato cirúrgico e não após. Assim sendo, a rigorosa técnica asséptica deve ser mantida no intraoperatório com o intuito de prevenir a contaminação (CDC, 2006).

Dentre as ISC em cirurgias ortopédicas, a osteomielite é considerada a infecção mais grave. Conceitualmente, osteomielite significa inflamação do osso e de sua medula a despeito da causa. Os protocolos de tratamento contam com uso apropriado de antibióticos, fisioterapia intensiva,

---

¹ A correção de Língua Portuguesa desta dissertação contempla as novas regras do Acordo Ortográfico.

tratamentos cirúrgicos complexos e diagnósticos sofisticados. Mesmo assim a infecção pode persistir e não é rara a deficiência funcional das extremidades (Kutscha-Lissberg et al, 2004).

Lima e colaboradores (2004) realizaram um estudo prospectivo e identificaram os fatores preditivos de infecção em pacientes com fratura exposta grave em membros inferiores. Dentre os fatores principais, citaram: transfusão sanguínea maior que uma unidade, classificação ASA III (*American Society of Anesthesiologists*), fixação interna e imediata do osso, fêmur envolvido na fratura e ferimento aberto (Lima et al, 2004a).

No Brasil, os agentes etiológicos mais comuns encontrados em cirurgias ortopédicas infectadas são os Gram positivos: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* e os Gram negativos: *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, seguidos de outros agentes menos comuns (Lima et al, 2004b; Leonhardt et al, 2006).

Para realização de cirurgias, pode-se considerar que existem duas categorias de materiais: os de uso único e os reprocessáveis, cuja competência em reprocessá-los adequadamente, é do serviço técnico da Central de Material e Esterilização (CME). O rigor no processo de limpeza, desinfecção e esterilização dos materiais reprocessáveis é fundamental para controlar os riscos de infecção durante os procedimentos cirúrgicos (Rutala et al, 2006).

Atualmente, os métodos de esterilização disponíveis nos Serviços de Saúde (autoclave para materiais termorresistentes e para os termossensíveis: óxido de etileno, plasma de peróxido de hidrogênio e vapor a baixa temperatura e formaldeído) são projetados para eliminar os micro-organismos, normalmente, possíveis de contaminar o instrumental cirúrgico na forma esporulada e em uma densidade máxima esperada de 10^6 unidades formadoras de colônia (UFC).

Alguns trabalhos trazem dados da contaminação de materiais após o uso e depois da limpeza. Em 1981, Nystrom publicou o primeiro estudo importante sobre o assunto e analisou o nível de carga microbiana do instrumental cirúrgico, imediatamente, após o uso e depois de diferentes

tratamentos de limpeza e/ou desinfecção. Os achados mostraram que, após o uso, 60% do instrumental carregavam menos que 10^1 UFC, 80% apresentavam menos que 10^2 UFC e nenhum dos instrumentos tinha nível de carga microbiana maior que 10^3 UFC (Nystrom, 1981).

Posteriormente, outros estudos sobre a carga microbiana em diversos tipos de instrumentos cirúrgicos, também, alcançaram valores entre 10^1 UFC a 10^3 UFC, que representam valores menores que a densidade microbiana dos indicadores biológicos padronizados na ordem de 10^6 UFC de esporos bacterianos (Chan-Myers et al 1997; Rutala et al, 1998; Chu et al, 1998; Chu et al, 1999).

Em 2007, Goveia investigou com sucesso o alcance da esterilidade por meio de Óxido de Etileno (ETO) das furadeiras elétricas domésticas, utilizadas para perfuração óssea por meio de pesquisa, utilizando contaminação desafio de esporos bacterianos, comprovando um nível de segurança de esterilidade $\leq 10^{-8}$ UFC. No entanto, não se sabe até o momento quais os desafios microbiológicos que uma CME vem enfrentando ao reprocessar a diversidade dos materiais utilizados em procedimentos cirúrgicos ortopédicos. Micro-organismos com capacidade para esporular estão presentes em quantidade e frequência significativa? Sabe-se que estes se constituem como um desafio mensurável na prática da esterilização fazendo parte dos indicadores biológicos. Até a CME, chegaria instrumental contaminado com micro-organismos capazes de esporular como os do gênero *Bacillus* e *Clostridium* em quantidade maior do que 10^6 UFC/instrumental? Procurar respostas a esta questão permitirá extrapolar, para a prática assistencial, resultados de pesquisas experimentais laboratoriais.

Em âmbito nacional não existem estudos recentes que tenham investigado a carga microbiana recuperada do instrumental utilizado em cirurgia ortopédica, segundo seu potencial de contaminação (limpa, contaminada e infectada). Assim, propôs-se o desenvolvimento da presente investigação. Esta pesquisa teve como hipótese inicial, uma menor recuperação microbiana nos instrumentos utilizados em cirurgias limpas e

uma recuperação maior nas cirurgias contaminadas e infectadas de origem da microbiota presente no paciente.

O número de cirurgias ortopédicas, sobretudo, as cirurgias de prótese de quadril e joelho vêm se tornando mais frequente frente aos avanços tecnológicos, estimando-se 150 mil próteses por ano nos Estados Unidos da América e 400 mil em todo o mundo. Destas, 1% a 5% tornam-se infectadas acarretando, muitas vezes, morbidades por internação prolongada, intervenções cirúrgicas repetidas, perda definitiva do implante e encurtamento no membro afetado, deformidades graves e perenes, bem como culminando no óbito em infecções fulminantes. Os procedimentos envolvidos são muitos na tentativa de resolução da infecção, gerando custos anuais elevados, variando entre 40 a 80 milhões de dólares nos Estados Unidos da América (Lima et al, 2001).

Pretende-se com este estudo conhecer a diversidade de micro-organismos que um instrumental pode conter, direcionando os profissionais da CME a realizar um tratamento adequado aos materiais utilizados em cirurgias ortopédicas.

2.

Referencial Téorico

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS CONCEITUAIS E MICROBIOLÓGICOS

Em 1964, a *National Research Council ad hoc Committee on Trauma*, classificou as cirurgias em quatro diferentes potenciais de contaminação, universalmente usados para o cálculo do índice de risco de infecção, quais sejam:

- Feridas limpas: cirurgias eletivas, com fechamento da ferida por primeira intenção, sem qualquer sinal ou sintoma de inflamação, sem penetração nos tratos respiratórios, gastrointestinais, geniturinários ou orofaringes, sem qualquer falha na técnica asséptica e sem a presença de drenos.
- Feridas potencialmente contaminadas: cirurgias que apresentem acesso ao trato respiratório, gastrointestinal ou geniturinário sob condições controladas, sem sinais de processo inflamatório, penetração da orofaringe ou vagina e com pequena quebra na técnica cirúrgica.
- Feridas contaminadas: incisões na presença de inflamação não purulenta aguda, quebra grosseira da técnica asséptica, trauma penetrante há menos de 4 horas, feridas abertas cronicamente e acesso ao trato biliar ou geniturinário na presença de bile ou urina infectada.
- Feridas infectadas: apresentam presença de secreção purulenta, perfuração de víscera, trauma penetrante há mais de 4 horas, ferida traumática com tecido desvitalizado, corpo estranho ou contaminação fecal.

Nesta classificação, as taxas de infecção do sítio cirúrgico devem ser proporcionais ao potencial de contaminação, devendo ser menores nas cirurgias limpas e maiores nas contaminadas ou infectadas.

Os materiais reusáveis ou reutilizáveis empregados em cirurgias nos diferentes potenciais de contaminação são processados pela CME, sendo submetidos a quatro etapas básicas: limpeza, inspeção, acondicionamento e esterilização. Em todas estas etapas, deve ser compreendida e utilizada, a classificação clássica proposta por Spaulding (1968). Os artigos críticos são os que entram em contato com tecidos não colonizados do corpo humano, sendo necessária a esterilização dos materiais após a limpeza, os semicríticos são os que entram em contato com a mucosa íntegra colonizada e exigem uma desinfecção mínima de nível intermediário após a limpeza. Os artigos não críticos não entram em contato direto com o paciente ou entram em contato apenas com a pele íntegra. Para estes últimos, a limpeza é o procedimento mínimo recomendado.

Os micro-organismos presentes nos materiais possuem uma variação inata na resistência aos agentes germicidas, porém, há uma obediência a certa ordem nos níveis de resistência. No geral, as formas de maior resistência são os endosporos bacterianos (células dormentes) que são estruturas de resistência sintetizadas por células vegetativas, formas metabolicamente ativas de vários gêneros bacterianos, como: *Bacillus*, *Clostridium*, *Metabacterium* e *Paenibacillus* em resposta a situações de estresse ambiental, como calor, ressecamento ou falta de nutrientes que destruiriam a célula vegetativa. Os endosporos são formados intracelularmente e suas funções são estocar o genoma bacteriano e a maquinaria metabólica essencial até que melhores condições ambientais prevaleçam (Pinto et al, 2003).

Há evidências de que alguns vírus são mais resistentes que esporos bacterianos, o que pode representar problema no desenvolvimento dos ciclos de esterilização. Entretanto, a maioria dos vírus apresenta resistência semelhante às bactérias na forma vegetativa, assim como formas vegetativas de bolores e leveduras. Geralmente, os esporos de fungos são mais sensíveis à inativação que os esporos bacterianos, porém aqueles sexuais (ascosporos) têm resistência intermediária entre forma vegetativa e esporulada de bactérias (Pinto et al, 2003). As micobactérias possuem

uma parede celular de gordura que dificulta a entrada de germicidas líquidos, e as bactérias Gram negativas, uma membrana que age como uma barreira para a captação de desinfetantes (Rutala et al, 2006).

Conforme assinala Block (2001), a micobactéria ocupa uma posição intermediária no que se refere à suscetibilidade aos agentes biocidas entre as bactérias esporuladas e não esporuladas. A resistência intrínseca da micobactéria foi mostrada em pesquisas científicas com relação aos agentes químicos. Na literatura, não há evidências científicas da resistência diferenciada da micobactéria frente à autoclavação. Os métodos físicos de esterilização, especialmente, vapor sob pressão, possuem os grupos microbianos com comportamentos distintos na curva de morte expressos pelo valor D_{10} , que é o tempo de exposição necessário para redução de um logaritmo à concentração de micro-organismos submetidos a um agente desinfetante ou esterilizante específico (Block, 1991; Padoveze et al, 1999; Graziano et al, 2007). A micobactéria possui um valor D_{10} , de, aproximadamente, meio minuto. Alguns vírus como os poliovírus e os da hepatite B mostram maior resistência à inativação.

Sabe-se, também, da extrema resistência dos “prions” que são agregados protéicos que não contêm RNA (ácido ribonucleico) ou DNA (ácido desoxiribonucleico) e estão envolvidos com doenças transmissíveis. São seis os “prions” conhecidos, dos quais três são causadores de doenças crônicas, geralmente, fatais do sistema nervoso nos seres humanos. São citadas as: Doença do Kuru, Gerstman-Straussler e Creutzfeldt-Jacob, cuja transmissão já ocorreu por meio de instrumentos de neurocirurgia, hormônios de crescimento derivados da pituitária e transplantes da córnea (Pinto et al, 2003). A extrema resistência dessa partícula protéica aos métodos convencionais de esterilização tem levado alguns hospitais brasileiros a submeterem, como rotina, o instrumental utilizado em neurocirurgia à autoclavação por um tempo superior ao padronizado (18 minutos) quando esterilizados em pré-vácuo a 134 °C.

A resistência dos micro-organismos à inativação por um agente, em particular, é diferentemente afetada por influências ambientais, residuais de

matéria orgânica e, também, por condições observadas na formação e crescimento do organismo, assim como ocorre durante sua esporulação, temperatura e demais situações, além da composição do meio de cultura (Pinto et al, 2003).

2.2 ASPECTOS CONCEITUAIS RELACIONADOS AO REPROCESSAMENTO

Todos os artigos passam pela etapa da limpeza, independente de sua classificação. A limpeza é o processo de remoção física por ação mecânica da sujeira presente no material, realizada com água, sabão ou detergente de forma manual ou automatizada. Seu principal objetivo é a remoção da sujeira e, conseqüentemente, a redução de micro-organismos e de substâncias pirogênicas. A limpeza manual é feita por fricção com escovas apropriadas, jatos d'água sob pressão e, preferencialmente, com a utilização de detergente enzimático (Graziano, 2003a). A limpeza automatizada pode ser feita por intermédio de lavadora ultrassônica ou lavadora termodesinfetadora. A limpeza é considerada o núcleo central do reprocessamento.

Se não houver uma efetiva limpeza nos materiais, os ciclos normais de desinfecção e/ou esterilização poderão apresentar resultados insatisfatórios. A inspeção constitui a parte final do processo de limpeza que deve ser realizada visualmente com o auxílio de lentes intensificadoras de imagem ou por meio de testes químicos que reagem com matéria orgânica (Silva et al, 2008).

Os parâmetros pré-estabelecidos para os processos de desinfecção e esterilização são para uma carga microbiana máxima esperada. Na esterilização, é da ordem de 10^6 UFC de densidade de contaminação, tanto que é essa a quantidade dos esporos bacterianos nos indicadores biológicos para a validação dos processos de esterilização. Se os materiais estiverem com uma carga microbiana alta (e isso poderá acontecer se um material não for limpo adequadamente), acima de 10^6 UFC, os ciclos normais de

desinfecção e esterilização não apresentarão os resultados esperados, porque os micro-organismos não morrem todos ao mesmo tempo, frente à maioria dos processos microbicidas, em razão de resistências variadas destes e sim em curva exponencial logarítmica (Graziano, 2007).

O conceito atual de esterilização envolve, estatisticamente, a inativação microbiana com critérios de redução logarítmica. Sendo assim, a esterilização é a ausência de micro-organismos viáveis, ou seja, livre de formas demonstráveis de vida, de modo que, em uma amostra representativa, não seja possível detectar vida microbiana em meio de cultura padrão (Pinto et al, 2003; Graziano, 2003b). Um artigo é considerado esterilizado, quando a probabilidade de sobrevivência dos micro-organismos que o contaminam, for menor do que 10^{-6} UFC. Para que este seja considerado morto, sua capacidade reprodutiva deverá ser interrompida, ou então, poderá fazer poucas gerações finitas (Pinto et al, 2003).

A inativação de micro-organismos por agentes esterilizantes envolve dano irreversível de moléculas essenciais à célula. A morte microbiana se dá em curva exponencial, em um primeiro tempo, chamado de valor D_{10} e 90% dos micro-organismos morrem. Em um segundo tempo de valor D_{10} , 90% dos 10% que restaram serão eliminados e, assim, sucessivamente. O tempo de exposição dos materiais ao processo de esterilização deverá garantir um nível de segurança de morte microbiana na ordem de 10^{-6} , no qual por 12 vezes o valor D_{10} foi aplicado a um material contaminado (Graziano, 2007).

Para a realização do processo de esterilização, usualmente, são empregados os métodos físicos, químicos e físico-químicos. Como exemplos mais importantes de métodos físicos, tem-se o vapor saturado sob pressão; dos métodos químicos, os aldeídos e o ácido peracético e dos métodos físico-químicos, o óxido de etileno, o peróxido de hidrogênio (na forma gás-plasma) e o vapor à baixa temperatura e formaldeído.

Posteriormente, os materiais devem ser acondicionados em embalagens com características de biobarreira para que possam ser transportados e armazenados com a garantia de conservação de sua

esterilidade e, também, favorecer uma abertura asséptica sem riscos de contaminação do produto no momento do uso (Graziano, 2003a).

2.3 ASPECTOS RELACIONADOS À CARGA MICROBIANA DE INSTRUMENTOS CIRÚRGICOS

A revisão bibliográfica sobre a carga microbiana de materiais cirúrgicos foi realizada mediante consulta às bases de dados eletrônicas MEDLINE, LILACS, EMBASE e CINAHL, até 2008. Esta busca eletrônica possibilitou localizar, sintetizar e avaliar os resultados das publicações sobre o tema, refletindo, assim, o “estado da arte” e norteando a presente pesquisa. Vocabulários controlados/descriptores nos idiomas português e inglês e o operador booleano AND foram usados para a especificidade: carga microbiana/*microbial load*; esterilização/*sterilization*; cirurgia ortopédica/*orthopedics*; osteomielite/*osteomyelitis*.

Das publicações pertinentes ao tema pesquisado, seis foram selecionadas, do período de 1981 a 2008. Os artigos encontrados são pesquisas de fontes primárias².

Em 1981, Nystrom realizou um estudo em um hospital do município de Huddinge (Suíça), para avaliar o nível de contaminação bacteriana no instrumental cirúrgico após o uso e depois de diferentes formas de tratamento de limpeza e desinfecção. Foram utilizados 808 instrumentos, randomizados de bandejas de procedimentos de cirurgias gerais, ginecológicas e ortopédicas. Os procedimentos cirúrgicos foram classificados, como: limpos, potencialmente contaminados, contaminados e infectados. Para realização da limpeza e desinfecção do instrumental, foram utilizadas quatro formas de tratamento: imerso em detergente líquido por 1 hora com enxágue em água corrente da torneira; imerso em detergente desinfetante fenólico diluído a 2% por 1 hora com enxágue final em água corrente da torneira; lavadora termodesinfetadora automatizada com

---

² Fontes primárias: são consideradas como pesquisas que testam intervenções ou controlam/correlacionam e/ou comparam efeitos de variáveis em um dado fenômeno, incluindo ou não grupos controle, sob condições laboratoriais ou de campo, independente da temporalidade (Nobre, 2006).

enxágue final em água à temperatura abaixo de 70 °C e lavadora termodesinfetadora automatizada com enxágue final em água à temperatura de 85 °C. Para a investigação microbiológica, o instrumental foi imerso em 150 mL a 350 mL de água peptônica esterilizada a 1% e agitado por 5 minutos. Após a agitação, 60 mL do lavado foram filtrados através do sistema de filtração com membrana de 0,45 µm de porosidade (Millipore®). O filtro foi cultivado em placas contendo meio de Agar sangue e incubado aerobicamente a 37°C por 2 dias. A carga microbiana encontrada no instrumental após o uso cirúrgico e sem tratamento de limpeza e/ou desinfecção obteve um percentil de 92,5 com carga microbiana menor que 10³ UFC. A contaminação não foi reduzida por meio da imersão do instrumental em detergente líquido no período de 1 hora, porém, quando imerso em desinfetante fenólico, houve uma redução do nível de carga microbiana. Dos resultados, 80% do instrumental carregavam carga microbiana de 10¹ UFC e 98%, carga microbiana de 10² UFC. Reduções similares foram obtidas, utilizando duas lavadoras termodesinfetadoras automáticas com enxágue em temperaturas diferentes. Do instrumental analisado, aproximadamente, 60% apresentaram carga microbiana menor que 10¹ UFC, 80% com carga microbiana menor que 10² UFC e 90% com carga microbiana menor que 10³ UFC. O autor não realizou identificação microbiana dos crescimentos. Estes resultados não foram afetados pelos potenciais de contaminação (limpos, contaminados, potencialmente contaminados e infectados) das cirurgias onde o instrumental foi amostrado (Nystrom, 1981).

Com o crescente uso de equipamentos com lúmens rígidos e estreitos, Chan-Myers e colaboradores (1997) investigaram o nível e o tipo de micro-organismos encontrados nesses materiais, após o uso cirúrgico e depois da limpeza em ambiente hospitalar. Dezoito instrumentos de cirurgias urológicas foram coletados de três diferentes hospitais da Califórnia (EUA), após o uso cirúrgico e imediatamente na sequência, foram realizados testes para a verificação da carga microbiana presente. De forma asséptica, foram injetados *flushes* de 100 mL de água esterilizada em cada lúmen, coletando o lavado e filtrando-o por meio de uma membrana de celulose de 0,45 µm. A

membrana foi dividida ao meio e uma parte foi cultivada em meio de *Tryptic Soy Agar* (TSA), contendo 5% de células vermelhas de carneiro e incubado aerobicamente a 30°C - 35°C por 7 dias. A segunda metade, foi cultivada na superfície do meio de Agar sangue anaeróbio e incubada em jarras de anaerobiose a 30°C - 35°C por 7 dias. Para a análise da superfície externa dos instrumentos, estes foram submersos em um copo de Becker contendo 1000 mL de solução salina, colocada em agitador por 5 minutos, filtrado e processado como já descrito. Para a identificação microbiana, foram utilizados *kits* comercializados: API (bioMerieux, St.Louis, Mo.) 20A, API Staph, API Coryne, API NFT e BBL (BBL, Becton Dickinson) Crystal E/NE³. Os resultados do estudo demonstram que o número total de bactérias aeróbia e anaeróbia variou entre 12 a 11.940 UFC. As bactérias encontradas no instrumental após o uso cirúrgico foram cocos Gram positivo (*Staphylococcus* e *Micrococcus*). Após a limpeza, as bactérias mais prevalentes foram *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, difteróides, *Pseudomonas* e *Staphylococcus*.

Em seis instrumentos, houve o crescimento de cocos Gram positivo e bacilos Gram negativo, que são bactérias associadas ao manuseio do instrumental, da microbiota da pele, da água utilizada e do ambiente hospitalar. Os dados mostraram que, após a limpeza de 18 instrumentos, não foram encontrados níveis de contaminação maiores que 10⁴ UFC, e nove de 18 instrumentos tinham níveis de carga microbiana menores que 10² UFC. Estes dados ilustram que o nível de contaminação microbiana em materiais com lúmens rígidos e estreitos é baixo, representando um baixo desafio para os processos de limpeza, desinfecção e esterilização (Chan-Myers et al, 1997).

Em outro estudo realizado no Hospital Escola da Universidade da Carolina do Norte (EUA), os autores investigaram a carga microbiana e o tipo de micro-organismo em instrumental cirúrgico usado, seguido de limpeza. Foram analisados 50 instrumentos cirúrgicos de 25 operações. O instrumental foi coletado de procedimentos cirúrgicos gerais, cabeça e

---

³ Os testes utilizados são comercializados por laboratórios de microbiologia nos Estados Unidos da América e seguiram as orientações de uso do fabricante.

pescoço, ortopédicos, vasculares, ginecológicos e torácicos. Após o uso, o instrumental foi colocado em uma lavadora esterilizadora, sonificado, posteriormente, então, colocado em banho de imersão para lubrificação. Um desinfetante fenólico foi adicionado ao banho de imersão para reduzir o potencial de contaminação. Os materiais foram embalados e encaminhados para o laboratório de epidemiologia do hospital. Com as técnicas assépticas, foram abertos e colocados no caldo de Peptamin, ao qual foi adicionado *Tween-80* (neutralizante do fenol). O caldo e o instrumental foram agitados em 150 rpm. Após 30 minutos da agitação, o caldo foi filtrado através de uma membrana de celulose com 0,45 µm de porosidade. A membrana foi colocada em placas, contendo meio de TSA. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Todas as colônias que surgiram, foram numeradas e identificadas pela coloração de Gram. Os resultados obtidos mostraram que, aproximadamente, 72% do instrumental usado obtido depois da desinfecção estavam contaminados com 10 UFC ou menos. Quatorze por cento dos instrumentos estavam contaminados com 11 a 100 UFC e outros 14% estavam contaminados com mais de 100 UFC. No total, 30% dos instrumentos não apresentaram crescimento. A contaminação mais comum foi dos micro-organismos *Staphylococcus* coagulase negativa, seguido por *Bacillus* sp, difteróides, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus* sp e *Propionibacterium* sp (Rutala et al, 1998).

Chu e colaboradores (1998) estudaram o nível de carga microbiana presente nos canais de aspiração e no tubo de inserção de colonoscópios, imediatamente, após o uso e depois a limpeza manual. O material foi escolhido para o estudo em razão do nível de complexidade na limpeza e, também, por ser utilizado em áreas bastante colonizadas do corpo. Em dois centros de endoscopia americanos, foram coletados dez colonoscópios randomizados imediatamente após o uso e outros dez depois da limpeza. O processo de limpeza seguido em ambos os hospitais, atendeu às recomendações da *American Society for Gastrointestinal Endoscopy* (ASGE) e da *Society of Gastroenterology Nurses and Associates* (SGNA). Para a coleta do material das amostras, *flushes* contendo 100 mL de solução esterilizada foram injetados no canal de aspiração do tubo de inserção. Este

lavado foi diluído em série com *Butterfield's phosphate buffer*⁴ e colocado em placas, contendo meio de TSA, em meio de Agar sangue e em meio de Agar chocolate. Uma amostra de cada um dos primeiros meios foi incubada aerobicamente a 30°C - 35°C por 3 dias, seguido de incubação adicional a 20°C - 25°C por 4 dias. O meio de Agar sangue anaeróbio e a segunda parte do meio de Agar chocolate foram incubados anaerobicamente a 30°C - 35°C por 3 dias, seguido de incubação adicional a 20°C - 25°C por 4 dias. Para analisar a carga microbiana da superfície, um tecido de microfibras foi molhado em água esterilizada e usado para limpeza do comprimento do tubo de inserção. O tecido foi submerso em 100 mL de água esterilizada, sonificado, diluído em série e semeado como já descrito. Para a identificação microbiana, foram utilizados kits comercializados para identificação de micro-organismos: API (bioMérieux, St. Louis, Mo.) 20A, API Staph, API Coryne, API NFT e BBL (BBL, Becton Dickinson) Crystal E/NE e o Sistema Crystal anaeróbio. O resultado da carga microbiana no canal de aspiração após o uso obteve uma média de $7,0 \times 10^9$ UFC, e depois da limpeza reduziu para $1,3 \times 10^5$ UFC. Na superfície do tubo de inserção, a carga microbiana após o uso atingiu $5,1 \times 10^5$ UFC e depois da limpeza, esse número foi reduzido para $2,2 \times 10^4$ UFC. As bactérias encontradas em 99% das amostras no canal de aspiração, imediatamente após o uso, foram bacilos Gram negativo encontrados normalmente no trato intestinal (*Escherichia coli* e Bacteróide). Um por cento das bactérias Gram positivas recuperadas foi predominantemente *Staphylococcus*. Este estudo comprovou que o desafio microbiano presente nos colonoscópios para a desinfecção ou esterilização é menor que 10^6 UFC por aparelho (Chu et al, 1998).

Em razão de existirem poucos estudos a respeito da carga microbiana em instrumental cirúrgico, Chu e colaboradores (1999) realizaram um estudo para obter dados adicionais dos níveis e tipos de contaminação microbiana nesses materiais, após o uso em cavidades estéreis do corpo, ou seja, depois dos procedimentos cirúrgicos classificados como limpos. Foram coletados 60 instrumentos cirúrgicos sem lúmen, logo

---

⁴ Butterfield's phosphate buffer: usado como um diluente para a preparação de diluições em placas e outros processos de laboratório.

após o uso cirúrgico (tesoura, pinças de preensão, afastadores, entre outros) de dois diferentes hospitais. Cada material foi submerso em um copo de Becker contendo 1.000 mL de solução salina estéril a 85% e agitado por 5 minutos para o deslocamento de qualquer carga microbiana aderida ao material. O processo de filtração foi realizado por membrana de celulose com 0,45 µm da solução salina. O filtro foi dividido ao meio e uma parte foi cultivada em meio de TSA, contendo 5% de células vermelhas de carneiro e incubada aerobicamente a 30°C - 35°C por 7 dias. A segunda metade foi cultivada na superfície do meio de Agar sangue anaeróbio e incubada anaerobicamente a 30°C - 35°C por 7 dias. Para identificação microbiana, foram utilizados *kits* comercializados para identificação de micro-organismos: API (bioMérieux, St.Louis, Mo.) 20A, API Staph, API Coryne, API NFT e BBL (BBL, Becton Dickinson) Crystal E/NE. Os dados obtidos mostraram que, após o uso, 27% do instrumental tinham níveis de carga microbiana maiores que 10^2 UFC e 12% tinham carga microbiana menores que 10^3 UFC. Dos materiais analisados depois da limpeza, 33% alcançaram níveis maiores que 10^2 UFC e 13% tiveram carga microbiana maiores que 10^3 UFC. Os micro-organismos, predominantemente encontrados depois do uso cirúrgico foram cocos Gram positivo e bacilos Gram positivo (difteróides e *Bacillus*). Após a limpeza, foram recuperados cocos Gram positivo (*Staphylococcus* e *Micrococcus*) e bacilos Gram negativos não fermentadores, *Stenotrophomonas* e *Pseudomonas*. Os autores encontram um aumento logarítmico de 45% a carga microbiana após a lavagem, resultado este inesperado pelos autores, sugerindo uma recontaminação dos materiais após o processo de lavagem. A carga microbiana encontrada nos materiais, após a lavagem, foi constituída, na maioria, de micro-organismos vegetativos, representando um desafio baixo para os métodos de desinfecção e esterilização (Chu et al, 1999).

Os estudos encontrados enfatizam a importância da eficácia dos processos de limpeza, antecedendo a desinfecção ou a esterilização. Quanto menor for a carga microbiana inicial maior será o nível de segurança da esterilidade ou da desinfecção atingida no material odonto-médico-hospitalar. A probabilidade de encontrar uma vida microbiana viável será

tanto menor quanto mais baixo for o contingente inicial, obtido após uma limpeza efetiva. Além disso, os detritos presentes nos instrumentos podem proteger e nutrir os micro-organismos. A maioria dos processos de esterilização e de desinfecção precisa do contato direto do agente antimicrobiano com o artigo, e a sujeira quando presente impede este contato (Chan-Myers et al, 1997; Rutala et al, 1998; Chu et al, 1998; Chu et al 1999; Graziano, 2003b).

3.

Objetivos

3 OBJETIVOS

Na expectativa de elucidar a questão científica levantada, optou-se realizar um estudo exploratório, utilizando instrumentos empregados em cirurgias ortopédicas.

Neste estudo, o objetivo geral foi determinar e analisar a carga microbiana recuperada do instrumental usado em cirurgia ortopédica, segundo o potencial de contaminação das cirurgias, identificando o gênero, a espécie e a quantidade de micro-organismos nos crescimentos positivos.

Os objetivos específicos foram:

1. Comparar os crescimentos microbianos entre os três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias: limpas, contaminadas e infectadas;
2. Comparar as diferenças das médias de tempo de duração das cirurgias entre os diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, como uma variável externa que influenciou nos resultados;
3. Comparar os crescimentos microbianos nos diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, segundo o critério da ocorrência do procedimento como a primeira cirurgia do dia e a não primeira cirurgia do dia, como uma variável externa (contaminação ambiental) que influenciou nos resultados;
4. Relacionar os crescimentos positivos no instrumental cirúrgico de cirurgias infectadas com os resultados das culturas dos pacientes;
5. Discutir os desafios enfrentados pela Central de Material e Esterilização no reprocessamento de instrumentos cirúrgicos utilizados em cirurgias ortopédicas.

4.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE PESQUISA

Este estudo caracterizou-se como uma pesquisa exploratória, de campo⁵ e transversal, com abordagem quantitativa, para determinar e analisar a carga microbiana recuperada de instrumental utilizado em cirurgia ortopédica, segundo o potencial de contaminação das cirurgias, identificando o gênero, a espécie e a quantidade microbiana dos crescimentos positivos. Na fase da identificação dos micro-organismos, segundo o potencial de contaminação das cirurgias, foi utilizada a randomização da amostra.

4.2 LOCAIS DA PESQUISA

O estudo foi desenvolvido no Centro Cirúrgico do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT-FMUSP), onde foram coletadas as amostras para análise e realizada a extração da carga microbiana das mesmas. Em seguida, no Laboratório de Pesquisas Experimentais do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EE-USP), onde a carga microbiana dos instrumentos foi filtrada e incubada. A identificação microbiológica dos crescimentos positivos foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

---

⁵ Pesquisa de campo: estudo em que os dados são coletados no campo, a partir de pessoas em seus papéis normais, visando à compreensão das práticas, comportamentos e crenças de indivíduos ou grupos, tal como eles agem na vida real (Polit et al, 2004).

4.3 MATERIAIS

Para compor a amostra, foram selecionados instrumentos de conformações variadas, incluindo instrumentos de diérese, hemostasia, prensão e síntese. Foram excluídos apenas instrumentos perfurocortantes. Optou-se por instrumentos que foram mais manipulados no ato cirúrgico (Figura 1). Para a coleta dos dados, foi desenvolvido um instrumento (Apêndice 1) e os dados foram extraídos diretamente do aviso de cirurgia.

Figura 1 - Amostragem do instrumental para compor a amostra. São Paulo, 2008.

No serviço onde as amostras foram coletadas (IOT HC FMUSP), as cirurgias são classificadas em três tipos, segundo o potencial de contaminação:

- limpa (exemplos: prótese de quadril, prótese de joelho e laminectomia);
- contaminada (exemplos: fratura exposta, reconstrução e fixação de côndilo/tíbia/cotovelo/patela/metatarso, enxerto esponjoso, retalho para úlcera de pressão e redução cruenta); e

- infectada (exemplos: limpeza cirúrgica de coxa/perna/fêmur/coto, retalho de cobertura, troca de espaçador de fêmur/joelho, amputação e desarticulação de quadril).

As cirurgias classificadas como potencialmente contaminadas, como por exemplo, cirurgias bucomaxilares não são realizadas no Centro Cirúrgico do local do estudo, motivo pelo qual não fizeram parte desta investigação.

Todas as amostras foram coletadas de procedimentos cirúrgicos realizados em salas de operação com sistema de ventilação unidirecional. O fluxo do ar é direcionado diretamente ao campo operatório e somente a equipe cirúrgica e equipamentos devem permanecer sob o mesmo, além da área do paciente a ser operada (Friberg, 1998).

A pesquisa contou com a ajuda de dois enfermeiros colaboradores treinados previamente para a execução das etapas da pesquisa. Nas duas primeiras semanas de coleta, os colaboradores estiveram sob supervisão direta da pesquisadora. Houve a colaboração ativa destes no momento da coleta dos instrumentos na sala de operações (SO), na extração da carga microbiana no Centro Cirúrgico e no preparo dos materiais utilizados no experimento. As equipes cirúrgicas locais (enfermagem, cirurgiões, anestesistas e técnicos de radiologia) foram orientadas a preservar a mesa de instrumentos, após a cirurgia, evitando, assim, uma possível contaminação exógena.

O tamanho da amostra foi calculado com a assessoria de um profissional bioestatístico, considerando que a média da carga microbiana possa variar entre 10^1 a 10^4 UFC ou mais, sendo $\alpha=5\%$ e $\beta=0,1\%$. Para tanto, estimou-se o tamanho da amostra em 75 unidades para cada potencial de contaminação das cirurgias, totalizando 225 amostras. De cada cirurgia, foram coletados três instrumentos, este número foi definido a fim de obter maior representatividade de amostra de cada cirurgia na busca de possíveis micro-organismos presentes. Para o tamanho de amostra, estima-se um poder amostral de 99% (Gráfico 1). Os programas estatísticos utilizados para fundamentar este cálculo foram GPower 3.0.10 e NCSS versão 2007.

Gráfico 1 - Poder em função do tamanho amostral. São Paulo, 2008.

4.4 MÉTODO

As amostras foram coletadas no período de 8 de outubro de 2008 a 12 de dezembro de 2008.

4.4.1 Método para extração da carga microbiana

Os procedimentos para extração da carga microbiana foram realizados em dois momentos: o primeiro, ocorreu no Centro Cirúrgico do IOT HC FMUSP em uma sala destinada para extração da carga microbiana dos materiais. Nesta, alocamos os equipamentos e materiais necessários para esta fase, sendo estes:

- Sonificador: equipamento de ultrassom, denominado Lavadora Ultrassônica, modelo USC-2800, Enge Solutions®, capacidade 9 litros, frequência ultrassônica de 40 KHz e potência 30 Watts com a finalidade de desprender a carga microbiana do instrumental (Figura 2);

Figura 2 - Lavadora Ultrassônica em funcionamento com as amostras. São Paulo, 2008.

- Agitador: equipamento de agitação com movimento orbital (Kline), modelo 255 - B, Fanem®, com rotação de 70 a 250 rotações por minuto (rpm). A velocidade de rotação aplicada em todas as amostras foi de 160 rpm (Figura 3).

Figura 3 - Agitador com o instrumental no interior do saco plástico. São Paulo, 2008.

- Materiais de consumo: água para injeção, saco plástico esterilizado para coleta, lacre numerado e material para desinfecção das superfícies.

Antes de iniciar a coleta, realizava-se a desinfecção das superfícies, equipamentos e caixas de transporte com álcool a 70% p/v. A limpeza da sala seguia a rotina de limpeza do Centro Cirúrgico.

Ao término da cirurgia, cada instrumental coletado era depositado no interior do saco plástico com técnica asséptica (Figura 4). Ainda na sala operatória, adicionavam-se 500 mL de água para injeção para evitar o ressecamento da possível carga microbiana presente no instrumental.

Figura 4 - Sacos plásticos de poliuretano fechados com lacres numerados. São Paulo, 2008.

Em seguida, a amostra foi encaminhada a sala de extração (Figura 5). O conteúdo foi exposto a três sessões de sonicação com duração de 5 segundos cada. Após, a mesma foi agitada por 5 minutos a 160 rpm para complementar o desprendimento da possível carga microbiana. Ao término do processo de extração, o instrumental foi retirado do interior do saco plástico, com técnica asséptica, e o saco com lavado foi fechado com lacre numerado, preservando o mesmo.

Figura 5 - Bancada na sala de extração com os equipamentos de extração da carga microbiana. Acima a lavadora ultrassônica e abaixo o agitador. São Paulo, 2008.

As amostras foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas para o Laboratório de Pesquisas Experimentais do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da EE-USP no intervalo médio de 50 minutos para a realização da filtração.

O segundo momento dos experimentos foi realizado no laboratório da EE-USP. No interior da capela de fluxo laminar, de nome comercial Cabine de Proteção Biológica modelo VLFS 12, VECO®, com filtro HEPA (*high efficiency particulate air*) e com eficiência de 99,99% para a filtração de partículas maiores ou iguais a 0,3 μm , foi realizada a filtração do lavado. Este modelo de capela possui uma abertura frontal e 70% do ar são recirculados para o interior da capela, após passar pelo filtro HEPA e 30% são exauridos para fora da capela depois da filtração (Figura 6).

Figura 6 - Capela de fluxo laminar (VECO®). São Paulo, 2008.

Após a desinfecção das superfícies de trabalho, no interior da capela de fluxo laminar, o conteúdo do lavado foi filtrado, utilizando-se o método de filtração por membrana, estabelecido pela *United States Pharmacopea* (USP, 2007). Um sistema de filtração autoclavável foi usado, denominado Sterifil® (47 mm Sterifil Holder, Millipore), composto de um funil com tampa, base de filtro com suporte e tampa de silicone que foram conectados a um frasco Kitassato ligado a uma bomba de vácuo. Sobre a base de filtro, foi colocada uma membrana de nitrato de celulose com porosidade de 0,45 μm (HAWP04700, Millipore) (Figura 7) (Anexo 1).

Figura 7 - Composição do sistema de filtração Sterifil Holder, Millipore®. São Paulo, 2008.

Para a filtração, o volume do lavado foi dividido em três partes iguais de 150 mL, sendo filtrada cada parte por uma membrana, e o lavado foi aspirado com o auxílio de seringa de 60 mL (Figura 8).

Figura 8 - Sistema de filtração do lavado no interior da capela de fluxo laminar. São Paulo, 2008.

Cada membrana foi cultivada em um meio de cultura específico para propiciar o crescimento microbiano adequado. As membranas foram cultivadas em três diferentes meios de cultura⁶ (Figura 9):

- Agar sangue: meio não seletivo tradicionalmente utilizado para isolamento de micro-organismos. Permite o crescimento da maioria dos patógenos não fastidiosos ou que requerem incubação especial. Por causa da adição de sangue de carneiro desfibrinado, proporciona a leitura das hemólises causadas pelos *Streptococcus* spp.
- Agar enriquecido para anaeróbios (Agar Anaerinsol): contém nutrientes necessários ao crescimento de todas as bactérias anaeróbias. É composto por vitamina K, sangue de carneiro (5%), entre outros. Para propiciar o crescimento das bactérias anaeróbias, foram utilizadas jarras de anaerobiose. Os meios inoculados foram colocados na jarra com um envelope que contém substâncias químicas que geram hidrogênio e dióxido de carbono (figura 10).
- Agar Sabouraud: meios tradicionalmente utilizados para isolamento de fungos e leveduras. Estes meios contêm substâncias seletivas que impedem o crescimento da maioria dos micro-organismos da microbiota acompanhante.

Figura 9 - Cultivo das membranas nos meios de Agar Sangue, Agar Sabouraud e Agar Anaerinsol. São Paulo, 2008.

⁶ Os meios de cultura Agar sangue, Anaerinsol e Sabouraud foram adquiridos da Probac do Brasil® (Probac do Brasil ®, São Paulo, Brasil). Kits de identificação. Site: www.probac.com.br/kits_de_identificacao.

Figura 10 - Jarra com corpo de policarbonato para atmosferas especiais e gerador de atmosfera de anaerobiose. São Paulo, 2008.

Para a identificação das placas dos meios de cultura, utilizava-se da mesma sequência numérica dos lacres usados no fechamento dos sacos plásticos. Ao abrir os sacos, os lacres eram rompidos e descartados.

As membranas cultivadas nos meios específicos foram expostas às condições de atmosfera e temperatura adequadas para propiciar o crescimento das espécies microbianas, conforme descrito nos dados do Quadro 1.

Quadro 1 - Apresentação das condições específicas de incubação para cada meio de cultura utilizado. São Paulo, 2008.

Materiais	Finalidade	Incubação	Período	Leitura
Agar Sangue	Pesquisa de bactérias aeróbias	35°C ± 2°C ar ambiente	7 dias	Diária
Agar Anaerinsol	Pesquisa de bactérias anaeróbias	35°C ± 2°C atmosfera anaeróbia	7 dias	A cada 3 dias
Agar Sabouraud	Pesquisa de fungos e leveduras	23°C ± 2°C ar ambiente	15 dias	A cada 3 dias

4.4.2 Identificação microbiana

Todas as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, sob a assessoria de especialistas em microbiologia⁷, as análises foram realizadas. Para que não houvesse ações tendenciosas durante a análise, foram utilizadas sequências numéricas dos lacres para identificação das placas de cultura. Esta fase foi realizada na forma de estudo *duplo-cego* no qual a pesquisadora e a microbiologista não sabiam a qual grupo (controle negativo ou experimental) as amostras pertenciam no momento da identificação microbiana.

Inicialmente, os crescimentos bacterianos foram identificados quanto à sua propriedade morfotintorial por meio da coloração de Gram e, então, repicados em Agar sangue e em Agar Anaerinsol para a confirmação de crescimento anaeróbio estrito. A identificação do grupo de microorganismos, inicialmente, pôde ser realizada por sua propriedade morfotintorial que foi o método escolhido neste estudo.

Para a pesquisa de bactérias aeróbias, as placas com crescimento bacteriano positivo tiveram suas unidades formadoras de colônias quantificadas para cada tipo morfológico diferente, quando aplicável. As placas com ausência de crescimento bacteriano foram reincubadas nas condições já mencionadas até completarem 7 dias.

Para os cocos Gram positivos, inicialmente, realizou-se a prova da catalase, que diferencia as famílias dos *Staphylococcus* spp (catalase positiva, degrada a água oxigenada em água e gás carbônico) e *Streptococcus* spp (catalase negativa).

Os *Staphylococcus* spp foram diferenciados entre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativa, utilizando-se a prova da coagulase, realizada com o Stapht Test (Probac do Brasil ®) - teste em

---

⁷ Professora Doutora Lúcia M. J. Mimica, diretora do Departamento de Controle de Infecção da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e Professora Titular da disciplina de microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e a farmacêutica bioquímica Cely Barreto da Silva do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

lâmina com hemácias sensibilizadas. Os *S. aureus* são coagulase positiva, portanto, têm a capacidade de transformar fibrinogênio em fibrina.

Os *Streptococcus* spp foram identificados, de acordo com sua hemólise em Agar sangue (alfa, beta ou gama hemólise), quanto ao crescimento em presença de bile e hidrólise da esculina (prova da bile esculina); crescimento em NaCl 6,5% (prova do NaCl 6,5%) e sensibilidade à optoquina (alfa hemólise) ou bacitracina e CAMP Test (beta hemólise). Os gama hemolíticos foram identificados com as provas de bile esculina e NaCl 6,5% (*Kit* Enterococos, Probac do Brasil ®) e apresentaram resultados positivos para ambas, sendo identificados como *Enterococcus* spp. De acordo com os resultados de susceptibilidade encontrados para os glicopeptídeos, os isolados resistentes tiveram sua espécie identificada pelo *Kit* para Identificação de *Enterococcus* spp (Probac do Brasil ®) que consiste em provas de fermentação de manitol, arabinose, sorbitol, motilidade e descarboxilação de arginina.

O grupo dos bacilos Gram positivos foi identificado pela coloração de Gram para diferenciação de esporulado e não esporulado, exceto quando seu crescimento em Agar sangue foi sugestivo de *Bacillus subtilis* (bacilo Gram positivo, esporulado, com colônias rugosas, irregulares e na maioria das vezes hemolíticas).

Os bacilos Gram negativos foram identificados pela série bioquímica composta pelas provas de Tríplice de açúcar e ferro (TSI), motilidade, citrato, fenilalanina e indol. Para as enterobactérias (*Enterobacter* sp, *Citrobacter*, *Klebsiella*), bacilos fermentadores de glicose, estas provas foram suficientes para a identificação da maioria das espécies. Para os bacilos Gram negativos não fermentadores de glicose (*P.aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*), em que não ocorre a fermentação TSI, a confirmação das espécies se dá por meio de provas bioquímicas específicas para esse grupo de micro-organismos. O *Kit* utilizado para a identificação foi o sistema bioquímico comercial *KIT* Não Fermentadores (NF) II (Probac do Brasil ®) que possui as provas: oxidase, crescimento em MacConkey, liquefação da

gelatina, O/F de glicose, fermentação da maltose e lactose, descarboxilação de lisina e arginina e controle da prova de descarboxilação (Figura 11).

Figura 11 - Testes bioquímicos do Kit NFII para identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores. São Paulo, 2008.

Para a pesquisa de bactérias anaeróbias, as placas com crescimento bacteriano tiveram suas unidades formadoras de colônias quantificadas para cada tipo morfológico diferente, quando aplicável. As placas com ausência de crescimento bacteriano foram reincubadas, nas condições anteriormente mencionadas, até completarem 7 dias.

As placas de Sabouraud (fungos e leveduras) com crescimento positivo tiveram suas UFC quantificadas para cada tipo morfológico diferente, quando aplicável. As placas com ausência de crescimento foram reincubadas nas condições ideais para o crescimento até completarem 15 dias. Os crescimentos sugestivos de leveduras foram, inicialmente, confirmados por meio da coloração de Gram e, então, repicados em meio cromogênico (CHROMagar Candida, Probac do Brasil®) para diferenciação das espécies de *Candida albicans* (colônias verdes), *Candida tropicalis* (colônias azuis metálicas) e *Candida krusei* (colônias rosas e rugosas).

Os crescimentos de fungos filamentosos foram identificados, conforme as características apresentadas pelas colônias (verso e reverso) no meio Agar Sabouraud e coloração com azul de algodão.

O Apêndice 2 apresenta de forma esquemática a metodologia desenvolvida neste estudo.

4.4.3 Validação da metodologia para a coleta dos dados

▪ Validação da utilização do saco plástico na lavadora ultrassônica

Para verificar se a passagem das ondas ultrassônicas emitidas pela lavadora atingia os materiais contidos no interior do saco plástico, realizou-se o teste químico denominado Sono Check (AMCOR®). Este é composto por uma ampola contendo pequenas esferas de vidro imersas em uma solução de coloração amarelo ouro. Pelo movimento de cavitação provocado pelas ondas ultrassônicas da lavadora, a solução de cor amarelo ouro altera-se para a cor verde musgo. Esta mudança de cor comprova que houve passagem satisfatória da onda ultrassônica no material a ser lavado (Figura 12). O teste foi repetido quatro vezes com êxito nos resultados.

Figura 12 - Teste Sono Check para avaliar a permeabilidade das ondas ultrassônicas. São Paulo, 2008.

▪ Validação da esterilidade do sistema de filtração

Para checar a esterilidade do sistema de filtração autoclavável (Sterifil®), foram filtrados 500 mL de água para injeção através da membrana de celulose previamente esterilizada e incubação em meio de Agar sangue. Outra membrana, também, esterilizada previamente, sem a filtração da água de injeção foi incubada em meio de Agar sangue para a verificação de sua esterilidade. Os meios contendo as membranas foram incubados a 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) em estufa com leitura diária. Após 7 dias de leitura, não houve o crescimento microbiano em ambas as placas.

▪ Validação dos sacos plásticos esterilizados por Óxido de Etileno

Dois testes para avaliar e validar o processo de esterilização dos sacos plásticos por meio do ETO foram realizados. No interior de um saco plástico, foi colocado um indicador biológico (IB) de leitura rápida, contendo cepas do micro-organismo *Bacillus atropheus* (3M® Attest® Auto-Reader). O saco plástico foi dobrado em várias camadas, aumentando o desafio de penetração do gás esterilizante no interior do saco plástico onde estava localizado o IB. O mesmo foi embalado em papel grau cirúrgico e submetido ao processo de esterilização por ETO da Central de Óxido de Etileno do HC FMUSP. Após o ciclo completo, o IB foi retirado do interior do saco e incubado para leitura. Depois de 4 horas de incubação, o resultado foi negativo ao crescimento da cepa contendo *Bacillus atropheus* (Attest®), comprovando assim a difusibilidade do ETO através do plástico.

Em outro saco plástico, foi colocado em seu interior um integrador químico classe 5 (3M® Comply®) que avaliou os parâmetros de umidade, temperatura, tempo e a concentração do ETO. O saco foi dobrado em várias camadas, para aumentar o desafio da penetração do gás esterilizante, e embalado em papel grau cirúrgico. O material foi submetido ao ciclo de esterilização por ETO. Ao término deste, foi verificada a mudança satisfatória da coloração. Os materiais, assim, esterilizados seguiram o tempo de aeração estabelecido pela legislação (Portaria 482/99).

4.4.4 Grupo controle negativo

O grupo controle negativo foi formado composto de instrumentos esterilizados no mesmo lote das demais amostras, porém, sem manipulações da equipe. Para representação desse grupo, foram calculados 20% do número total de cirurgias, totalizando 15 amostras entre os três diferentes potenciais de contaminação. Estas amostras foram coletadas no momento inicial das cirurgias, utilizando técnica asséptica. A escolha do tipo do instrumental a ser coletado ficou a critério da instrumentadora cirúrgica ou do cirurgião da equipe, dentre aqueles que não seriam utilizados naquela cirurgia.

4.5 APRESENTAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS

Os achados estão apresentados por meio de tabelas e quadros, mostrando a carga microbiana recuperada do instrumental usado em cirurgia ortopédica, segundo o potencial de contaminação das cirurgias, identificando o gênero, a espécie e a quantidade microbiana nos crescimentos positivos. Por meio de testes estatísticos empregados por uma assessoria especializada⁸, os dados foram analisados em três aspectos:

- Comparação do crescimento microbiano nos três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias para verificar se houve diferenças significativas entre si. Para esta análise, empregou-se o teste da razão de verossimilhança para comparações múltiplas 2x2 em tabelas de contingência 2xk (Abramson, 2004).
- Comparação das diferenças de médias do tempo de duração das cirurgias entre os distintos potenciais de contaminação das cirurgias. Para esta análise, empregou-se a ANOVA univariada, sendo a variável independente o tempo de duração das cirurgias. Neste caso, esta variável foi normalizada pelo método da “Área Transformation” e retransformada para apresentação dos dados.

---

⁸ Dra. Eutália Aparecida Cândido de Araújo

- Comparação do crescimento microbiano nos diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, segundo o critério da ocorrência do procedimento como a primeira cirurgia do dia e a não primeira cirurgia do dia. Para esta análise, utilizou-se o teste da razão de verossimilhança para comparações múltiplas 2x2 em tabelas de contingência 2xk (Abramson, 2004).

Para as análises acima, adotou-se o nível de significância de 5% (0,05).

4.6 PROCEDIMENTO ÉTICO

O projeto de pesquisa foi encaminhado à Comissão Científica do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para solicitação da autorização de desenvolvimento da pesquisa no Centro Cirúrgico do IOT HC FMUSP, sendo analisado e aprovado pelos membros da Comissão Científica, em 20 de agosto de 2008, conforme o protocolo Memo/CC-DOT/87/2008 (Anexo 2).

5.

Resultados

5 RESULTADOS

Os resultados da carga microbiana recuperada de instrumentos utilizados em cirurgias ortopédicas, segundo o potencial de contaminação das cirurgias (limpa, contaminada e infectada) estão apresentados nos Quadros 2, 3 e 4 respectivamente. Houve recuperação microbiana apenas de bactérias aeróbias e fungos/leveduras (Figura 13). Não houve crescimento de micro-organismos anaeróbios.

Após o processo de extração de carga microbiana, 76 amostras foram geradas de 29 cirurgias limpas. Dessas, 40 amostras foram negativas (53%) e 36 positivas (47% - 36/76) (Apêndice 3). Os dados do Quadro 2 apresentam os micro-organismos isolados nessas amostras. Pode-se observar um predomínio de bactérias Gram positivas.

Figura 13 - Meios de cultura com crescimento positivo, sendo: A - *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* e *Acinetobacter baumannii*, B - *Pseudomonas aeruginosa*, C - *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativa*, D - *Penicillium* sp, E - *Tricophyton* sp e F- *Pseudomonas aeruginosa*. São Paulo, 2008.

Quadro 2 - Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos, classificados como procedimentos limpos. São Paulo, 2008.

Micro-organismo	Freq.	Incidência*
<i>Bacillus subtilis</i>	8	11%
Bacilo Gram positivo	4	5%
<i>Enterobacter sp</i>	1	1%
<i>Micrococcus sp</i>	3	4%
<i>Penicillium sp</i>	1	1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	4%
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	21	28%
<i>Trichophyton sp</i>	1	1%

Nota: *Espécies isoladas /76 amostrasX100

Nas vinte e seis (26) cirurgias contaminadas avaliadas, foram produzidas 76 amostras dos instrumentos cirúrgicos. Destas amostras, 23 foram negativas (30%). Pode-se observar que o percentual de positividade foi de 70% (53/76) (Apêndice 4). Nos dados do Quadro 3, observa-se um percentual maior de bactérias Gram negativas (25%) isolado em relação às amostras das cirurgias limpas, mas ainda há predomínio de bactérias Gram positivas.

Quadro 3 - Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos, classificados como procedimentos contaminados. São Paulo, 2008.

Micro-organismos	Freq.	Incidência*
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	1	1%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	5%
<i>Bacillus subtilis</i>	10	13%
Bacilo Gram positivo	8	11%
<i>Candida albicans</i>	1	1%
<i>Citrobacter diversus</i>	1	1%
<i>Enterobacter sp</i>	4	5%
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	2	3%
<i>Penicillium sp</i>	3	4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	28%
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	24	32%
<i>Trichophyton sp</i>	1	1%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	4%

<i>Providencia rettgeri</i>	3	4%

Nota: *Espécies isoladas /76 amostrasX100

Os dados do Quadro 4 apresentam os micro-organismos isolados nas cirurgias infectadas (26) (Apêndice 5). Como era de se esperar, a positividade foi maior, isto é, 80% (60/75). O gênero estafilococos corresponde a, aproximadamente, 70% dos micro-organismos isolados, confirmando esse patógeno, como o principal agente etiológico das infecções após cirurgia ortopédica.

Reforça-se que esses tamanhos de amostra conferiram um poder de 99,9%. A pequena variação do número amostral de cada potencial de contaminação das cirurgias não foi estatisticamente significativa ($p < 0,005$), não afetando ou diferenciando os resultados comparativos do crescimento.

Quadro 4 - Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos, classificados como procedimentos infectados. São Paulo, 2008.

Micro-organismos	Freq.	Incidência*
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	5%
<i>Bacillus subtilis</i>	10	13%
Bacilo Gram positivo	3	4%
<i>Citrobacter diversus</i>	2	3%
<i>Enterobacter sp</i>	5	7%
<i>Enterococcus sp</i>	1	1%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	43%
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	22	29%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	9%

Nota: *Espécies isoladas /75 amostrasX100

Com a assessoria estatística, foram comparados os crescimentos microbianos nos três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias. Entre as cirurgias limpas e contaminadas e as cirurgias limpas e infectadas, houve diferença significativa do crescimento microbiano, sendo $p = 0,08$ e

$p < 0,001$, respectivamente. Entre as cirurgias contaminadas e as cirurgias infectadas, não houve diferença significativa do crescimento microbiano ($p = 0,122$).

Nos dados do Quadro 5, estão apresentados os resultados dos controles negativos, isto é, instrumentos que foram coletados imediatamente após a abertura da caixa de instrumentos cirúrgicos e foram submetidos à cultura. Para compor este grupo, foram calculados 20% do total do número de procedimentos cirúrgicos, resultando em 15 amostras entre os três potenciais de contaminação das cirurgias. Observa-se que houve crescimento em alguns instrumentais, fato este inesperado.

Entre os três potenciais de contaminação do grupo controle, não houve diferença significativa entre o número de crescimento microbiano positivo e quando comparado com o crescimento negativo das cirurgias: limpas *versus* contaminadas ($p = 0,924$), limpas *versus* infectadas ($p = 0,206$) e entre as cirurgias contaminadas *versus* infectadas ($p = 0,143$).

Quadro 5 - Distribuição do crescimento microbiano das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos do grupo controle negativo. São Paulo, 2008.

Classificação da cirurgia	Amostras sem crescimento	Amostras com crescimento
Limpa (n=5)	3	<i>S. coagulase</i> negativo (4UFC) Bacilos Gram positivo (45UFC)
Contaminada (n=3)	1	<i>S. coagulase</i> negativo (1UFC) <i>S. coagulase</i> negativo (3UFC) <i>A. baumannii</i> (5UFC)
Infectada (n=7)	6	Bacilo Gram positivo (1UFC) <i>B. subtilis</i> (1UFC)

Os micro-organismos recuperados do instrumental cirúrgico de cirurgias infectadas foram comparados com o agente etiológico do resultado da cultura do paciente, apresentado nos dados da Tabela 1. Das 26 cirurgias infectadas, quase, 65% (17/26) tiveram concordância de, pelo menos, 1 micro-organismo concordante recuperado *versus* agente etiológico da cultura do paciente.

Tabela 1 - Comparação dos resultados de culturas das amostras dos instrumentais cirúrgicos de cirurgias infectadas com o resultado da cultura dos pacientes. São Paulo, 2008.

Resultados	Número de cirurgias	Percentual
Resultados idênticos	4	15%
Apenas 1 micro-organismo semelhante	12	39%
Apenas 2 micro-organismos semelhantes	1	4%
Apenas 3 micro-organismos semelhantes	1	4%
Completamente diferentes	4	15%
Ausência de crescimento	4	15%
Sem resultado de cultura	2	8%
Total	28	100%

Pelos dados do Quadro 6, pode-se observar que as cirurgias limpas têm uma duração maior que os demais tipos de cirurgia e são inversamente proporcionais à carga microbiana recuperada. Logo, o desafio microbiano para se alcançar a esterilização dos materiais é mais importante nas cirurgias infectadas independente do tempo de cirurgia. Vale ressaltar que nas cirurgias infectadas foram detectados maiores números de *Bacillus subtilis*. Houve diferença estatisticamente significativa da duração da cirurgia apenas entre o grupo de cirurgias limpas e infectadas ($p=0,002$).

Quadro 6 - Análise do tempo de cirurgia e carga microbiana encontrada estratificada pelo potencial de contaminação: limpa, contaminada e infectada. São Paulo, 2008.

Variáveis	Potencial de contaminação da cirurgia		
	Limpa	Contaminada	Infectada
Tempo médio de cirurgia (minutos)	161,6	140,6	103,4
Menor valor - maior valor (minutos)	60 - 295	65 - 290	30 - 190
Número de espécies isoladas	43	85	91

Os dados da Tabela 2 apresentam a recuperação microbiana dos instrumentos utilizados em cirurgias ortopédicas, segundo o tipo de instrumental coletado em cada diferente potencial de contaminação (limpa, contaminada e infectada). Nas cirurgias classificadas com potencial de contaminação limpo, os instrumentos com maior crescimento microbiano

foram os sem ranhuras (69%). Já nas cirurgias contaminadas, o maior crescimento microbiano foi em materiais com presença de ranhuras (85%) e nas cirurgias infectadas, os materiais com presença de lúmen apresentam um crescimento microbiano de 100%.

Tabela 2 - Distribuição do crescimento microbiano segundo o tipo de instrumental cirúrgico coletado proveniente de cirurgias ortopédicas nos três potenciais de contaminação. São Paulo, 2008.

Tipo de instrumental cirúrgico*	Potencial de contaminação da cirurgia		
	Limpa n/N	Contaminada n/N	Infectada n/N
Com ranhuras	6/14 (42%)	17/20 (85%)	20/27 (74%)
Sem ranhuras	9/13 (69%)	21/29 (72%)	16/21 (76%)
Articulados	17/36 (47%)	11/20 (55%)	22/25 (88%)
Com lúmen	4/13 (31%)	4/7 (57%)	2/2 (100%)
TOTAL	36/76 (47%)	53/76 (70%)	60/75 (80%)

* Ranhuras: Pinça kelly, Halsted, Kocher, Crile, Rochester e Babcock. Sem ranhuras: Cabo de bisturi, tesouras, afastadores, cureta, pinças de dissecação e descoladores. Articulados: Alicate, sacabocado, porta agulha, Kerrison, pinça de disco, pinça pega parafuso e aplicador de prótese. Com lúmen: Guia de ressecção, freza rígida e flexível, centralizador de parafusos, raspa acetabular e ponta de aspirador.

Os dados da Tabela 3 apresentam a distribuição da média dos crescimentos positivos nos três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, segundo o número de UFC por instrumental. Independente da classificação das cirurgias por potencial de contaminação, a maior incidência quantitativa da recuperação dos micro-organismos localizou-se na faixa de 1 a 100 UFC, ou seja, $\leq 10^2$ UFC.

Tabela 3 - Distribuição da média dos crescimentos positivos nos três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, segundo o número de UFC por instrumental.

Nº de crescimento positivo	Potencial de contaminação da cirurgia		
	Limpa	Contaminada	Infectada
1 – 100 UFC	41	77	70
101 – 300 UFC	1	8	8
> 300 UFC	1	-	12
TOTAL	43	85	90

Na análise dos dados da Tabela 3, chama a atenção um instrumento de cirurgia limpa recuperar mais de 300 UFC. Já nas cirurgias infectadas, o fato de 12 instrumentos recuperarem mais que 300 UFC é compreensível, uma vez que a intervenção cirúrgica aconteceu em tecidos com possível presença de micro-organismos. Houve diferença estatisticamente significativa nas faixas de crescimento microbiano de 1 - 100 UFC e ≥ 300 UFC entre os grupos de cirurgias: limpa e infectada ($p=0,038$) e contaminada e infectada ($p=0,000$).

Nos três diferentes potenciais de contaminação das cirurgias, os crescimentos microbianos, segundo o critério de ocorrência do procedimento, como a primeira cirurgia do dia e a não primeira cirurgia do dia, como uma variável externa (contaminação ambiental), não apresentaram diferenças significativas entre as cirurgias contaminadas e infectadas ($p=0,998$), entre as cirurgias contaminadas e limpas ($p=0,997$) e entre as cirurgias infectadas e limpas ($p=0,743$) quanto à quantidade de crescimento microbiano.

6.

Discussão

6 DISCUSSÃO

Em 2007, por meio de um estudo experimental laboratorial, Goveia avaliou a eficácia da esterilização por ETO de furadeiras elétricas (FE) novas, intencionalmente, contaminadas com esporos bacterianos na ordem de 30×10^6 UFC do *B.athropheus*/FE. Os resultados apresentados comprovaram a eficácia de 99,99999881% de sucesso no processo de esterilização por ETO, com o nível de segurança de esterilidade (SAL) na ordem de $1,19 \times 10^{-8}$, quando o FDA (EUA) estabeleceu um SAL de 10^{-6} para materiais críticos na área de saúde. Em nosso meio, estes resultados geraram discussões no que se referem ao significado de seus resultados frente à quantidade e ao tipo de micro-organismos aderidos aos instrumentos cirúrgicos ortopédicos após o uso cirúrgico. Quais os desafios enfrentados pela Central de Material e Esterilização no processamento de instrumentos cirúrgicos utilizados em cirurgias ortopédicas frente à autoclavação por meio de vapor saturado sob pressão?

O presente estudo partindo desta questão norteadora teve como objetivo determinar e analisar a carga microbiana recuperada do instrumental utilizado em cirurgia ortopédica, segundo o potencial de contaminação das cirurgias, identificando o gênero, a espécie e a quantidade microbiana nos crescimentos. Estariam estes contaminados com esporos bacterianos em quantidades maiores que 10^6 UFC, que coloquem em dúvida a extrapolação dos resultados da pesquisa de Goveia (2007)?

Conforme dados apresentados no Quadro 2, 3 e 4, das 18 espécies de micro-organismos recuperados do instrumental cirúrgico após procedimento ortopédico, apenas 1 deles pertence ao gênero *Bacillus* que, em condições adversas, tem propriedades para esporular. Todos os demais micro-organismos são aqueles que se apresentam na natureza apenas sob a forma vegetativa e são eliminados pelo calor em torno de 80°C (Pinto et al, 2003). A pesquisa de Goveia (2007) obteve um SAL de 10^{-8} quando as furadeiras elétricas foram contaminadas com 10^6 UFC do *B.athropheus* em forma esporulada. Na presente investigação, a quantidade do *Bacillus*

encontrada não ultrapassou $4,4 \times 10^1$ UFC. Assim sendo, a tensão que gerou a realização desta investigação teve sua resposta apresentada, ou seja, a quantidade de micro-organismos com capacidade de esporularem presentes nos materiais cirúrgicos ortopédicos após o uso e, ao serem reprocessados pela CME é baixa, o que referenda as conclusões de Goveia (2007), com dados da prática assistencial.

No presente estudo, a hipótese inicial da recuperação microbiana menor nos instrumentos utilizados em cirurgias limpas, quando comparado com os crescimentos das cirurgias contaminada e infectada, foi confirmada. Neste potencial de contaminação, houve uma recuperação de, aproximadamente, 47% de micro-organismos com prevalência do *Staphylococcus* coagulase negativa com 28%, seguido do *Bacillus subtilis* com 11%. As possíveis hipóteses de contaminação das cirurgias limpas seriam por quatro vias: por meio da microbiota da equipe cirúrgica, do ar ambiente da sala operatória (sistema de esfriamento da sala, número de pessoas na sala e atividades realizadas por estas), do próprio instrumental utilizado no procedimento ou da microbiota do paciente, pois o isolamento pelos campos cirúrgicos pode não ter sido adequado.

Estes resultados podem ser comparados com o experimento realizado por Chu e colaboradores (1999), já descrito, que também recuperaram micro-organismos de instrumental usado em cirurgias limpas. Os autores investigaram a carga microbiana de 60 instrumentos cirúrgicos sem lúmen, de diferentes especialidades cirúrgicas, incluindo as cirurgias ortopédicas, todas com potencial de contaminação das cirurgias classificadas como limpas. Em 27% dos crescimentos microbianos, a carga encontrada foi maior que 10^2 UFC e, em 12%, a carga presente foi menor que 10^3 UFC, representando, aproximadamente, 38% de positividade (23/60). Os micro-organismos foram cocos Gram positivos (*Staphylococcus* e *Micrococcus*) e bacilos Gram positivos (difteróides e *Bacillus* sp). Os resultados de Chu e colaboradores (1999) são semelhantes aos dados encontrados no presente estudo quanto à quantidade e espécies de micro-organismos recuperados. Conclui-se com os dados da presente investigação

reforçados com os de Chu et al. que o isolamento completo da área asséptica, mesmo com uso do fluxo laminar, tecnologia presente na SO local do estudo, não é possível. Estes achados direcionam para a evidência de que não é possível garantir um ambiente 100% ausente de micro-organismos em cirurgias limpas, reforçando a importância da antibioticoprofilaxia para esta categoria de procedimentos cirúrgicos.

Nas cirurgias contaminadas e infectadas, houve uma semelhança entre si na prevalência do crescimento do *Staphylococcus* coagulase negativa (respectivamente, 32% e 29%) e *Staphylococcus aureus* (respectivamente, 28% e 43%). Estes micro-organismos são os principais causadores de infecção do sítio cirúrgico (ISC) oriundos, sobretudo da microbiota da pele do paciente. Portadores nasais de *S.aureus* eliminam esses micro-organismos na sala cirúrgica que, eventualmente, podem contaminar o sítio cirúrgico. Focos infecciosos a distância ou procedimentos invasivos colonizados, também, atuam como reservatórios de micro-organismos que, em decorrência do estresse cirúrgico, se disseminam pelas vias hemática e linfática (Mayhall, 1993; Wong, 1999).

Sabe-se, também, que a espécie do *Staphylococcus aureus* tem como principal reservatório o homem e, com frequência habita as narinas. A interação ocorre no contato com pessoas, por mãos ou aerossóis, gerados pelas vias aéreas ou por roupas contaminadas por pele descamada. Sua proliferação em mucosa verifica-se pela ligação de proteínas da superfície bacteriana à fibronectina, uma matriz protéica extracelular, sendo isto um importante fator de virulência. Apresenta uma capacidade imensa de aderir a outros receptores, destacando-se: fibrinogênio, laminina, heparina, trombospondina, elastina, ciałoproteína, vitronectina e lactoferrina. Nos cateteres e próteses, sua ligação dá-se em especial, pela fibronectina depositada, mas a hidrofobicidade e forças eletrostáticas parecem cooperar (Fernandes et al, 2000). Da narina anterior, o micro-organismo pode ser transferido para a pele, onde apresenta capacidade invasiva na presença de soluções de continuidade, como ocorre em intervenções cirúrgicas e procedimentos invasivos.

No ambiente hospitalar, sua principal forma de transmissão é por meio das mãos dos profissionais de saúde transitoriamente colonizadas. Na maioria das vezes a introdução de cepas multirresistentes ocorre com a admissão de um paciente colonizado/infectado e, mais raramente, por um profissional de saúde albergando esta cepa. As epidemias, mais frequentes, são causadas por vários fagotipos de *S. aureus*, relacionados, sobretudo, por falhas técnicas e menos à presença de disseminadores. Isso explica por que a grande maioria dos surtos é controlada especialmente por medidas gerais de controle, mesmo antes da completa elucidação de sua cadeia epidemiológica (Fernandes TA et al., 2000).

Estudos com objetivos similares aos da presente investigação – identificação da carga microbiana de instrumentos cirúrgicos – foram desenvolvidos por alguns autores já comentados na revisão de literatura deste trabalho e chegaram a resultados semelhantes. No entanto, estes trabalhos avaliaram instrumentos de especialidades diferentes, e apenas, em dois estudos foram relatados que as amostras foram retiradas também, de cirurgias ortopédicas (Nystrom, 1981; Rutala et al, 1998).

Há diferenças metodológicas entre o estudo de Nystrom (1981) e o presente estudo, uma delas foi que as membranas do filtrado do lavado da presente investigação foram cultivadas em mais dois diferentes meios de cultura (Agar Anaerinsol e Agar Sabouraud), aumentando o potencial de recuperação da possível carga microbiana pesquisada. Estes meios de cultura possibilitaram a recuperação de fungo/levedura, como a *Candida albicans*, *Penicillium* sp e *Alcaligenes xylosoxidans*.

Outra diferença encontrada foi na extração da carga microbiana das amostras. Na presente investigação, utilizou-se o método de sonicação com três sessões de 5 segundos cada, reproduzindo a investigação de Ribeiro (2006), seguida de agitação por 5 minutos, aumentando, assim, as chances de desprendimento da possível carga microbiana presente nas superfícies externas e internas do material, o que não foi aplicado no estudo de Nystrom (1981). O autor utilizou apenas a agitação, como método para obtenção do lavado.

Os resultados de Nystrom (1981) foram semelhantes aos do presente estudo na quantificação da carga microbiana recuperada. O autor não identificou os tipos de micro-organismos recuperados em seu experimento, o que não permite a comparação dos resultados com relação aos micro-organismos recuperados entre os estudos. A quantidade de UFC do estudo citado variou entre 10^1 a 10^3 UFC, não fazendo distinção dos resultados, conforme o potencial de contaminação dos materiais. No presente estudo, a carga microbiana de cirurgias variou de acordo com o potencial de contaminação das cirurgias. Nas cirurgias limpas, encontrou-se uma quantidade de 1 a 110 UFC/150 mL. Nas cirurgias contaminadas, este número variou entre 1 a 254 UFC/150 mL e, em cirurgias infectadas, a variação foi entre 1 a ≥ 300 UFC/150 mL.

No presente estudo, as diferenças de potencial de contaminação trouxeram diferenças significativas na quantidade de micro-organismos recuperados do instrumental cirúrgico. Já Nystrom (1981) afirma em seu estudo que os resultados das cirurgias não foram afetados pelos distintos potenciais de contaminação (limpos, contaminados, potencialmente contaminados e infectados) onde o instrumental foi utilizado. Esta afirmação vai em direção oposta aos resultados do presente estudo, que encontrou diferença significativa entre as cirurgias limpas *versus* cirurgias contaminadas ($p = 0,08$) e cirurgias limpas *versus* cirurgias infectadas ($p < 0,001$). A semelhança foi constatada apenas na comparação entre o instrumental usado nas cirurgias contaminadas *versus* cirurgias infectadas ($p = 0,122$). Esta diferença de resultados pode estar relacionada à metodologia adotada entre os estudos e a outras variáveis externas, sendo mais coerente os resultados da presente investigação.

Após dezesseis anos do primeiro trabalho neste assunto, outros autores realizaram experimentos similares aos de Nystrom (1981), porém com complementação na metodologia. Em 1997, Chan-Myers e colaboradores estudaram a carga microbiana presente em 18 instrumentos específicos de urologia. Conforme já descrito no referencial teórico, para obtenção do lavado das amostras, *flushes* de 100 mL água esterilizada

foram injetados nos lúmens dos cistoscópios e o lavado foi filtrado através da membrana de celulose com porosidade de 0,45 µm. A membrana foi dividida em duas partes, sendo uma metade da incubada em meio aeróbio e a outra metade em meio anaeróbio. A carga microbiana encontrada foi de 12 a 11.940 UFC/instrumental, sendo prevalentes os gêneros de micro-organismos *Staphylococcus* e *Micrococcus*.

A diferença metodológica entre o trabalho de Chan-Myers et al. (1997) e a presente investigação parte da distinção do tipo e da conformação dos materiais utilizados. As amostras do trabalho citado, possuem lúmen e foram obtidas por meio de *flushes* em lugar de submeter os materiais à sonicação e à agitação. Teoricamente, pode ter havido uma recuperação subdimensionada dos micro-organismos presentes no instrumental analisado por Chan-Myers et al. (1997).

Todos os micro-organismos recuperados no estudo de Chan-Myers et al. (1997) (*Staphylococcus* sp, *Micrococcus* sp, *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Streptococcus*, *Acinetobacter*), também, foram recuperados na presente investigação, incluindo a mesma quantidade de micro-organismos recuperados pelos autores acima (12 a 11.940 UFC) e pela presente investigação (1 UFC ≥ 300 UFC/instrumental).

Em 1998, os autores Chu et al. investigaram a carga microbiana de dez colonoscópios após o uso. Para coletar o material das amostras, *flushes* de 100 mL de solução esterilizada foram injetados no canal do tubo de inserção. Por meio de diluição seriada em meio específico, o lavado foi semeado em TSA, Agar sangue e Agar chocolate. Uma amostra de cada foi cultivada em ambiente de aerobiose e outra em anaerobiose. Para a recuperação da carga microbiana presente na superfície externa dos tubos de inserção, utilizou-se um tecido de microfibra embebido em solução esterilizada. Após o contato com toda a parte externa, o tecido foi imerso em 100 mL de água esterilizada, sonicado, diluído em série e cultivado nos mesmos meios de cultura do lavado dos canais de inserção. Os resultados do crescimento microbiano no canal de inserção foram de 7×10^9 UFC e na superfície externa dos tubos de inserção de $5,1 \times 10^5$ UFC. Este resultado

era de se esperar, uma vez que 80% do peso das fezes são de micro-organismos do bolo fecal.

A metodologia de recuperação dos micro-organismos dos estudos de Chu et al (1998) diferiu do presente estudo quanto a utilização da diluição seriada e a incubação em meios de cultura TSA e Agar chocolate. A quantidade de crescimento microbiano foi largamente diferente por se tratar de colonoscópios após o uso. Neste estudo, as bactérias com maior incidência (99%) foram do trato intestinal (*Escherichia coli* e bacteróides), conforme esperado.

Outra análise realizada na presente pesquisa foi a comparação dos micro-organismos recuperados do instrumental cirúrgico de cirurgias infectadas com os resultados da cultura do paciente (Tabela 1). Esta análise foi importante para comparar se o micro-organismo encontrado no material cirúrgico era o mesmo presente no local da cirurgia ou na corrente sanguínea do paciente, segundo os exames de cultura laboratorial. Das cirurgias infectadas, houve uma casuística de 26 cirurgias. Destas, quase, 65% (17/26) tiveram concordância de pelo menos 1 micro-organismo recuperado *versus* agente etiológico. O paciente em antibioticoterapia, provavelmente, não estivesse mais com o micro-organismo presente na ISC/corrente sanguínea. A média de tempo do uso terapêutico do antibiótico para o tratamento de infecção pós-operatória é de 14 dias, variando, conforme o tipo de infecção (superficial, profunda ou espaço específico) e o sítio da infecção (óssea, corrente sanguínea, entre outros). Para uma resposta definitiva da associação “paciente contaminando o instrumental”, seria necessário o recurso da biologia molecular, identificando a clonalidade dos micro-organismos concordantes.

As fontes de micro-organismos do sítio cirúrgico são várias e nem sempre é possível identificar ao certo sua origem. A principal fonte é a inoculação direta com base na própria microbiota do paciente, sobretudo da pele e do trato gastrointestinal, urinário, respiratório e genital feminino. Outras fontes podem ser a equipe cirúrgica, o instrumental e o ar ambiente (Ribeiro Filho et al, 2003).

Uma das principais fontes de contaminação do ar ambiente por micro-organismos mais relacionados com ISC é constituída pelas pessoas, pacientes e profissionais. Quanto à qualidade do ar ambiente, novas tecnologias cirúrgicas, sobretudo em cirurgias ortopédicas, vêm resultando em um grande número de estudos com operações essencialmente similares, em um sítio susceptível de infecção sendo, ele mesmo, livre de fontes de bactérias. Sob tais condições, as pesquisas vêm encontrando evidência de que o número de bactérias que contamina a ferida no final dos procedimentos cirúrgicos, é substancialmente menor quando o nível de bactérias do ar ambiente é reduzido. Grande parte desses estudos tem sido realizado com cirurgias ortopédicas de substituição de joelho e quadris, consideradas ultralimpas e de tratamentos mais difíceis, em casos de ISC (Barbosa, 2003). Estudos futuros serão necessários para a identificação direcionada das fontes disseminadoras de micro-organismos nas cirurgias ortopédicas.

A partir da Segunda Guerra Mundial, o ar climatizado foi introduzido, como um procedimento de controle de contaminação do ar ambiente em SO, além do conforto físico proporcionado aos usuários, vem sendo objeto de pesquisas comparando sua utilização com relação à contaminação do ar ambiente, materiais e superfícies. Nogler et al. (2001), realizaram um estudo com cadáveres, identificando aerossóis que permanecem suspensos e que são carregados pela corrente de ar gerada pelos climatizadores. Os autores encontraram contaminação com a *S.aureus* em aerossóis suspensos produzidos por instrumento de corte de osso de alta velocidade. Ao avaliarem, também, a contaminação do ar ambiente e da equipe cirúrgica, detectaram em amostras do ar, a presença de *S.aureus* até uma distância de 5 a 7 metros. Foram detectadas, também, partículas contaminantes nas barreiras convencionais, na cabeça do cadáver e do anestesiológista. Concluiu-se que o uso de equipamentos com alta velocidade produz aerossóis que se espalham e contaminam a SO e toda a equipe presente. Estes resultados reforçam a possibilidade de haver contaminação cruzada no ambiente cirúrgico.

Com relação à equipe cirúrgica, sabe-se que o *S.aureus* está presente na cavidade nasal de, quase, 40% dos profissionais de saúde e no períneo em cerca de 12% (Wong, 1999). Patologias descamativas da pele e doenças secretantes das vias aéreas favorecem sua disseminação (Rabhae et al, 2000). Até o momento, não há uma prática para avaliar os profissionais da saúde, como disseminadores perigosos de micro-organismos aos pacientes antes deles entrarem no campo operatório.

As taxas de infecção em cirurgias limpas consideradas exemplares são menores que 1%, aceitáveis as que variam entre 1% e 2% e as que apresentarem taxas maiores que 2% requerem investigação (Ribeiro Filho et al, 2003). Os fatores que podem ocasionar a contaminação do sítio cirúrgico são diversos, alguns destes são a própria microbiota do paciente, a equipe cirúrgica, os instrumentos cirúrgicos, a movimentação e o número de pessoas na SO, o uso incorreto de paramentação, as más condições de embalagem dos materiais, as técnicas cirúrgicas aplicadas, o tipo e as condições do sistema de climatização, a limpeza dos materiais, a qualidade dos processos de esterilização, a não certificação dos padrões de controle da esterilização, as quebras de técnica asséptica, a antisepsia do local a ser operado, o tempo prolongado de exposição do sítio cirúrgico e a concentração de micro-organismos no ar ambiente. Estudos futuros analisando individualmente cada provável fator que contribui para a contaminação microbiana nos procedimentos cirúrgicos serão necessários.

Ressalta-se que durante a coleta de dados da pesquisa constatou-se vários aspectos comportamentais que poderiam justificar a recuperação do micro-organismo no instrumental de cirurgias limpas: uso inadequado das máscaras cirúrgicas; uso inadequado dos gorros deixando cabelos a vista; avental cirúrgico de algodão sem o controle de número de reusos; trânsito excessivo de pessoas na SO; proximidade de pessoas no campo operatório sem devida paramentação; mesa auxiliar dos instrumentos fora da linha demarcatória do sistema de ventilação e excesso de pessoas circulando na SO. Nenhum paciente participante do estudo evacuou na SO.

E, finalizando a discussão dos achados desta investigação, o resultado mais surpreendente foi a positividade de algumas culturas dos instrumentos do grupo controle negativo. As duas hipóteses que foram levantadas para explicar tais resultados foram: a possível contaminação acidental dos instrumentos do grupo controle negativo durante a transferência, transporte, manobras de extração dos materiais e identificação microbiana, apesar dos rigores das técnicas experimentais em todas as etapas, e a outra, a possibilidade de falha no reprocessamento dos materiais cirúrgicos.

A presente investigação contribuiu com o estado da arte sobre ISC em procedimentos ortopédicos, trazendo como resposta principal que, a CME recebe materiais contaminados com micro-organismos com capacidade de esporular, porém numa densidade $\leq 10^2$ UFC/instrumental.

7.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

A presente investigação permitiu chegar às seguintes conclusões: entre as cirurgias limpas, contaminadas e infectadas, houve recuperação de micro-organismos nos três níveis de contaminação das cirurgias. A hipótese inicial da recuperação de micro-organismos em instrumentos de cirurgias limpas em quantidades menores que nas cirurgias contaminadas e infectadas, foi confirmada. Os micro-organismos foram basicamente os que habitam, normalmente, a microbiota humana.

Houve maior recuperação microbiana do instrumental cirúrgico utilizado nas cirurgias contaminadas e infectadas quando comparado com os empregados nas cirurgias classificadas como limpas. Entre as cirurgias contaminadas e infectadas, não houve diferença estatisticamente significativa. Independente da classificação das cirurgias por potencial de contaminação, a maior incidência quantitativa da recuperação dos micro-organismos localizou-se na faixa de 1 a 100 UFC, ou seja, $\leq 10^2$ UFC.

A média de tempo foi analisada como uma variável independente, para verificar se havia interferência na quantidade de crescimento recuperado nos três diferentes potenciais de contaminação. Concluiu-se que houve diferença estatisticamente significante, apenas, entre o grupo de cirurgias limpas e infectadas. A média do tempo de cirurgia com potencial de contaminação limpa foi maior do que nas cirurgias infectadas.

As amostras coletadas foram compostas de instrumentos provenientes de cirurgias que aconteceram no primeiro horário do dia e outras que não ocorreram no primeiro horário do dia. Para este critério de ocorrência do procedimento cirúrgico, não houve diferenças significativas do crescimento microbiano entre nenhum dos potenciais de contaminação (limpa, contaminada e infectada).

Os micro-organismos recuperados das cirurgias infectadas foram comparados com os agentes etiológicos das culturas do paciente. O

resultado desta análise possibilitou concluir que houve a concordância de 65% de micro-organismo semelhante entre os dois grupos analisados.

Considerando os micro-organismos recuperados das cirurgias ortopédicas, a CME enfrenta um desafio considerado baixo, por quanto 78% dos micro-organismos recuperados dos instrumentos analisados foram bactérias vegetativas que apresentam sua curva de morte em torno de 80°C, sendo o ciclo da autoclave padronizado por um período de exposição mínimo de três minutos e meio a 134°C em autoclaves com pré-vácuo, considerado suficiente para instrumentos termossensíveis.

Mesmo constatado a presença de 5% de micro-organismos do gênero *Bacillus*, que em condições adversas são capazes de esporular, este foi recuperado em uma densidade máxima de 10^2 UFC, muito abaixo da densidade presente no indicador biológico.

Referências

REFERÊNCIAS

Abramson JH. WINPEPI (PEPI-for-Windows): computer programs for epidemiologists. *Epidemiol Perspect Innov.* 2004;1(1):6.

Barbosa MH. Paramentação cirúrgica: máscaras faciais. In: Lacerda RA, coordenadora. *Controle de infecção em centro cirúrgico: fatos, mitos e controvérsias*. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 315-60.

Block SS. Definition of terms. In: Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 19-55.

Block SS, editor. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991. p. 65-88.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria interministerial MS/MET n. 482, de 16 de abril de 1999. Dispõe sobre os procedimentos de instalações de Unidade de Esterilização por óxido de etileno e de suas misturas e seu uso, bem como, de acordo com as suas competências, estabelecer as ações sob a responsabilidade do Ministério da Saúde e Ministério do Trabalho e Emprego [legislação na Internet]. Brasília; 1999. [citado 2008 mar. 20]. Disponível em: http://www.saude.mg.gov.br/atos_normativos/legislacao-sanitaria/estabelecimentos-de-saude/esterilizacao-por-oxido-de-etileno/portaria_482.pdf.

Chan-Myers H, McAlister D, Antonoplos P. Natural bioburden levels detected on rigid lumened medical devices before and after cleaning. *Am J Infect Control.* 1997;25(6):471-6.

Chu NS, Chan-Myers H, Ghanzanfari N, Antonoplos PA. Levels of naturally occurring microorganisms on surgical instruments after clinical use and after washing. *Am J Infect Control.* 1999;27(4):315-9.

Chu NS, McAlister D, Antonoplos PA. Natural bioburden levels detected on flexible gastrointestinal endoscopes after clinical use and manual cleaning. *Gastrointest Endosc.* 1998;48(2):137-42.

Estados Unidos da América. Department of Health and Human Services (HHS). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Healthcare-associated infections [texto na Internet]. [cited 2008 mar. 20]. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/healthDis.html>

Fernandes AT, Ribeiro Filho N, Barroso EAR. Conceito, cadeia epidemiológica das infecções hospitalares e avaliação custo-benefício das medidas de controle. In: Fernandes AT, Fernandes MOV, Ribeiro Filho N, Graziano KU, Gabrielloni MC, Cavalcante NJF, et al., editores. *Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde*. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 215-65.

Fernandes TA, Ribeiro Filho N, Mazzano RS, Santana LB, Cerbara EFV, Cassaro Júnior E. Bactérias aeróbias. In: Fernandes AT, Fernandes MOV, Ribeiro Filho N, Graziano KU, Gabrielloni MC, Cavalcante NJF, et al., editores. Infecção hospitalar e suas interfaces na área de saúde. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 336-403.

Filho NR, Fernandes AT, Lacerda RA. Infecção do sítio cirúrgico. In: Vários autores. Controle de Infecção Hospitalar. Ed Atheneu, São Paulo, 2003; 69-84.

Friberg B. Ultraclean laminar airflow ORs. AORN J. 1998;67(4):841-2,845-51.

Goveia VR. Avaliação da eficácia da esterilização de furadeiras elétricas domésticas utilizadas em cirurgias ortopédicas [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2007.

Graziano KU, Silva A, Bianchi ERF. Limpeza, desinfecção, esterilização e anti-sepsia. In: Fernandes AT, Fernandes MOV, Ribeiro Filho N, Graziano KU, Gabrielloni MC, Cavalcante NJF, et al., editores. Infecção hospitalar e suas interfaces na área de saúde. São Paulo: Atheneu; 2000. v. 1. p. 266-305.

Graziano KU. Embalagem de artigos odonto-médico-hospitalares. In: Lacerda RA, coordenadora. Controle de infecção em centro cirúrgico: fatos, mitos e controvérsias. São Paulo: Atheneu; 2003a. p. 197-212.

Graziano KU. Processo de limpeza, desinfecção e esterilização de artigos odonto-médico-hospitalares e cuidados com o ambiente de centro cirúrgico. In: Lacerda RA, coordenadora. Controle de infecção em centro cirúrgico: fatos, mitos e controvérsias.. São Paulo: Atheneu; 2003b. p. 163-95.

Graziano KU. Materiais e equipamentos: tratado de medicina estética. São Paulo: Roca; 2007. v. 1. p. 1851-79.

Kutscha-Lissberg F, Hebler U, Källiche T, Arens S. Principles of surgical therapy concepts for postoperative and chronic osteomyelitis [abstract]. Orthopade. 2004;33(4):439-54.

Leonhardt MC, D'Elia CO, Santos ALG, Lima ALLM, Pecora JR, Camanho GL. Revisão da artroplastia total de joelho em dois tempos: o valor da cultura obtida por biópsia artroscópica. Acta Ortop Bras. 2006;14(4):226-8.

Lima ALLM, Barone AA. Infecções hospitalares em 46 paciente submetidos a artroplastia total de quadril. Acta Ortop Bras. 2001;9(1):36-41.

Lima ALLM, Pécora JR, Albuquerque RM, Paula AP, D'Elia CO, Santos ALG, et al. Infecção pós-artroplastia total de joelho: considerações e protocolo de tratamento. Acta Ortop Bras. 2004a;12(4):236-41.

Lima ALLM, Zumiotti AV, Uip DE, Silva JS. Fatores preditivos de infecção em pacientes com fraturas expostas nos membros inferiores. *Acta Ortop Bras.* 2004b;12(1):32-9.

Mayhall CG. Surgical infections including burns. In: Wenzel RP, editor. *Prevention and control of nosocomial infections*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p. 614-44.

Nobre M, Bernardo W. *Prática clínica baseada em evidência*. São Paulo: Elsevier; 2006. Busca de evidência em fontes de informação científica; p. 43-57.

Nyström B. Disinfection of surgical instruments. *J Hosp Infect.* 1981;2(4):363-8.

Padoveze MC, Del Monte MCC. Limpeza e desinfecção de artigos. In: Molina E, coordenadora. *Limpeza, desinfecção de artigos e áreas hospitalares e anti-sepsia*. São Paulo: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar; 1999. p. 4-26.

Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. *Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos*. 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 105-49.

National Research Council, National Academy of Sciences, Division of Medical Sciences, Ad Hoc Committee on Trauma: Postoperative wound infections. The influence of ultraviolet on the operating room and of various other factors. *Ann Surg* 160 (Suppl 2): 1, 1964.

Nogler M, Lass-Flörl C, Ogon M, Mayr E, Bach C, Wimmer C. Environmental and body contamination through aerosols produced by high speed cutters in lumbar spine surgery. *Spine.* 2001;26(19):2156-9.

Polit DF, Beck CT, Hungler BP. *Fundamentos de pesquisa em enfermagem: métodos, avaliação e utilização*. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 124-43.

Rabhae GN, Ribeiro Filho N, Fernandes AT. Infecção do sítio cirúrgico. In: Fernandes AT, Fernandes MOV, Ribeiro Filho N, Graziano KU, Gabrielloni MC, Cavalcante NJF, et al., editores. *Infecção hospitalar e suas interfaces na área de saúde*. São Paulo: Atheneu; 2000. v. 1. p. 479-505.

Ribeiro SMCP. *Reprocessamento de cateteres de angiografia cardiovascular após uso clínico e contaminados artificialmente: avaliação da eficácia da limpeza e da esterilização [tese]*. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2006.

Ribeiro Filho N, Fernandes AT, Lacerda RA. Infecção do sítio cirúrgico. In: Lacerda RA, coordenadora. *Controle de infecção em centro cirúrgico: fatos, mitos e controvérsias*. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 69-84.

Rutala WA, Gergen MF, Jones JF, Weber DJ. Levels of microbial contamination on surgical instruments. *Am J Infect Control*. 1998;26(2):143-5.

Rutala WA, Weber DJ. Disinfection, sterilization and antisepsis. Flórida: Association for Professionals in Infection Control & Epidemiology, INC; 2006. An overview of disinfection and sterilization in healthcare facilities; p. 12-48.

São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica. Vigilância epidemiológica das infecções hospitalares: dados 2004 [texto na Internet]. São Paulo; 2004. [citado 2006 jun 12]. Disponível em: <http://www.cve.sp.gov.br>

Silva AA, Abreu ES, Fernandes MVL, Stempliuk VA. Aspectos relevantes no reprocessamento de artigos de uso único. In: Padoveze MC. Reprocessamento de artigos de uso único. São Paulo: APECIH, 2008. p. 42-49.

Spaulding EH. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: Lawrence CA, Block SS, editores. Disinfection, sterilization and preservation. Philadelphia: Lea & Febiger; 1968. p. 517-31.

Microbial Tests. In: Pharmacopeia. 25th ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2007. (USP 30 - NF 25).

Wong ES. Surgical site infection. In: Mayhall CG, editor. Hospital epidemiology and Infection control. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 288-310.

Wong ES. Surgical site infections. In: Mayhall CG, editor. Hospital epidemiology and infection control. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, Willians & Wilkins; 1999.

Apêndices

APÊNDICE 1

“ANÁLISE DA CARGA MICROBIANA NOS INSTRUMENTOS UTILIZADOS EM CIRURGIAS ORTOPÉDICAS”

Instrumento para coleta de dados

DATA DA CIRURGIA: ____/____/____

Dados do Paciente

Nome do paciente: _____

Nº de RGHC: _____ Sexo: _____

Data de nascimento: _____ Idade: _____ Cor de pele: _____

Ocupação/Profissão: _____ Estado civil: _____

Dados Atendimento/Solicitante

Instituto: IOT – Instituto de Ortopedia e Traumatologia

Provedor/Convênio: _____

Grupo Cirúrgico

Nome da Clínica: _____

Diagnóstico

Descrição: _____

Dados Cirúrgicos

Tipo de Cirurgia: _____

Sala de Cirurgia: _____

Horário: _____ às _____ Duração do Ato cirúrgico: _____

Profissionais

Nome Completo _____ Registro _____

1.Cirurgião: _____

2.Assistente: _____

3.Assistente: _____

4.Assistente: _____

5.Instrumentadora: _____

6.Anestesista: _____

7.Circulante: _____

Anestesias

( ) Raqui ( ) Peridural ( ) Geral ( ) Local ( ) Outras

Informações Complementares

- ( ) Paciente evacuou na SO
- ( ) Ar condicionado não funcionante
- ( ) Contaminação do material cirúrgico
- ( ) Equipe fora do fluxo laminar
- ( ) Paramentação inadequada da equipe
- ( ) Uso incorreto da máscara
- ( ) Ocorrência de furo na luva cirúrgica (manipulação de instrumental pesado)
- ( ) Excesso de pessoas na sala (≥ 12)
- ( ) Complicação anestésica no intra-operatório
- ( ) Outras intercorrências durante o Ato Cirúrgico

POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO

( ) Limpa   ( ) Contaminada   ( ) Infectada

MATERIAL COLETADO**Nº DO LACRE**

1º _____

2º _____

3º _____

GCN _____

INTERVALO ENTRE O TÉRMINO DE CIRURGIA E A EXTRAÇÃO DA CARGA MICROBIANA
EM MINUTOS: _____

Etiqueta do paciente

APÊNDICE 2

APÊNDICE 3

Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos classificados como procedimento limpo. São Paulo, 2008.

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1 UFC/150 ML	AMOSTRA 2 UFC/150 ML	AMOSTRA 3 UFC/150 ML
1	6/out/08	ATJ*	2	2H45	BLOCO DE CORTE <i>Micrococcus</i> sp 2	BLOCO DE CORTE	AMOSTRA DESCARTADA
2	6/out/08	LAMINECTOMIA	3	3H	ALICATE	ADSON <i>B. subtilis</i> 2	X
3	7/out/08	ATQ**	1	4H30	PINÇA P/ PARAFUSOS Bacilo Gram + S.coagulase - 2 3	CENTRALIZADOR PARAFUSOS	GOIVA
4	7/out/08	ATJ	10	3H30	BLOCO DE CORTE	GUIA DE RESSECÇÃO	X
5	9/out/08	ATQ	2	2H30	SACABOCADO <i>Penicillum</i> sp 1	CRAFORD	X
6	9/out/08	ATQ	3	2H20	RASPA ACETABULAR	RASPA ACETABULAR	RASPA ACETABULAR
7	10/out/08	Revisão ATQ	10	X	ROCHESTER	KOCHER	X
8	15/out/08	ATJ	3	X	PORTA AGULHA S.coagulase - 3	KELLY S.coagulase - 2	X
9	16/out/08	ATQ	10	2H30	FREZA RÍGIDA	AMOSTRA DESCARTADA	X
10	17/out/08	Artrodese L3 L5	9	2H25	AFASTADOR AUTOSTÁTICO Bacilo Gram + S.coagulase - 2 8	SACABOCADO S.coagulase - 2	X
11	20/out/08	Artrodese de coluna lombar	9	2H30	KERRISSON <i>B.subtilis</i> 1	KERRISSON S.coagulase - 1	AFASTADOR AUTOSTÁTICO S.coagulase - 1

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1	UFC/150 ML	AMOSTRA 2	UFC/150 ML	AMOSTRA 3	UFC/150 ML
12	20/out/08	ATJ	2	2H10	KELLY <i>B.subtillis</i>	1	KELLY		SACABOCADO <i>Micrococcus</i> sp	1
13	20/out/08	ATJ	X	1H50	KOCHER S.coagulase - <i>Enterobacter</i> sp	6 5	KOCHER S.coagulase -	12	X	
14	21/out/08	ATQ	1	2H20	RASPA ACETABULAR <i>B.subtillis</i>	1	ALONGADOR <i>S.aureus</i>	1	APLICADOR DE PRÓTESE S.coagulase -	2
15	21/out/08	ATQ	10	3H15	RASPA ACETABULAR		RASPA ACETABULAR S.coagulase -	1	BROCA FLEXÍVEL Bacilo Gram +	1
16	23/out/08	ATQ	2	1H47	CRAFORD		SACABOCADO		SACABOCADO	
17	23/out/08	Dissectomia L5-S1 + artrodese	9	2H40	KERRISSON		KERRISSON		PINÇA DE DISCO	
18	23/out/08	Revisão ATQ	4	4H55	SACABOCADO <i>S.aureus</i>	110	SACABOCADO S.coagulase -	≥ 300	ALICATE S.coagulase -	37
19	23/out/08	Retalho grácil p/ perna	5	4H	PORTA AGULHA		TESOURA <i>S.aureus</i>	6	X	
20	24/out/08	Revisão de ATQ	10	1H55	CRAFORD S.coagulase -	1	CURETA		SACABOCADO S.coagulase -	1
21	24/out/08	Laminectomia + Artrodese	9	2H30	AFASTADOR AUTOSTÁTICO		PONTA DE ASPIRADOR S.coagulase -	1	DISTRATOR	
22	30/out/08	Revisão ATJ	6	2H10	ANATÔMICA		PINÇA PEGA PARAFUSO		FARABEUF <i>Micrococcus</i> sp <i>Trichophyton</i> sp	1 1
23	30/out/08	Hiperoste colo	1	1H	FREE		FARABEUF S.coagulase - <i>B.subtillis</i>	3 1	PORTA AGULHA	
24	30/out/08	ATJ	2	2H25	PORTA AGULHA S.coagulase -	1	SACABOCADO S.coagulase -	2	FARABEUF S.coagulase -	1
25	30/out/08	Exploração de plexo braquial	4	3H15	KELLY		KELLY		KELLY	

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1	UFC/150 ML	AMOSTRA 2	UFC/150 ML	AMOSTRA 3	UFC/150 ML
26	31/out/08	ATQ	10	X	SACABOCADO S.coagulase - <i>B.subtillis</i>	1 1	SACABOCADO		ALICATE	
27	31/out/08	Artrodese de coluna L4 - L5	9	2H30	BONC TAP		SCREW DRIVERS		ROD HOLDER	
28	3/nov/08	Amputação transtibial	10	3H20	SACABOCADO Bacilo Gram +	1 1	FARABEU <i>B.subtillis</i>	1	JACARÉ/ESPANHOLA	
29	9/dez/08	Artrodese tríplice modelante	6	2H	CURETA S.coagulase - <i>B.subtillis</i>	1 1	CABO DE BISTURI		PORTA AGULHA	

Dados não coletados ou amostra descartada
Instrumentos com crescimentos microbianos positivos
 * Artroplastia total de joelho
 ** Artroplastia total de quadril

APÊNDICE 4

Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos classificados como procedimento contaminado. São Paulo, 2008.

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1 UFC/150 ML	AMOSTRA 2 UFC/150 ML	AMOSTRA 3 UFC/150 ML
1	8/out/08	Reconstrução + Fixação	4	2H	SACABOCADO	SACABOCADO	ALICATE
2		Ressecção artroplástica (pé diabético)	6	2H05	CRAFORD	KELLY <i>S.aureus</i> 2 <i>Enterobacter sp</i> 1	X
3	14/out/08	Reconstrução + Fixação Cômulo e patela	5	1H35	BROCA	KELLY <i>S.coagulase -</i> 1	KOCHER <i>S.coagulase -</i> 1 <i>S.aureus</i> 4
4	16/out/08	Revisão ATJ	1	2H30	SACABOCADO <i>S.coagulase -</i> 4	PORTA AGULHA <i>S.aureus</i> 2	X
5	20/out/08	Tratamento de pseudo artrose de tíbia	5	4H25	KELLY <i>S.coagulase -</i> 52	KELLY	SACABOCADO
6	21/out/08	Reconstrução + fixação	4	2H10	PORTA AGULHA	PINÇA PEGA PARAFUSO	HALSTED <i>S.coagulase -</i> 8
7	21/out/08	Enxerto esponjoso tíbia	5	1H25	KELLY	SACABOCADO	DESCOLADOR <i>S.coagulase -</i> 1
8	24/out/08	Reconstrução + fixação de tíbia	4	2H10	KELLY <i>S.aureus</i> 52	CABO DE BISTURI <i>S.aureus</i> 120	KELLY <i>S.aureus</i> 230
9	24/out/08	Retalho para Úlcera de pressão	7	1H15	SACABOCADO <i>S.aureus</i> 2	PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i> 240	TESOURA <i>S.aureus</i> 118
10	31/out/08	Fixação Metatarso	5	2H05	SENM-MILLER	SENM-MILLER <i>B.subtilis</i> 1	SENM-MILLER
11	31/out/08	Debridamento + fechamento fenda	7	1H10	PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i> 110 <i>P.aeruginosa</i> 10 <i>Enterobacter sp</i> 11	ADSON <i>S.coagulase -</i> 9 <i>A.baumannii</i> 8 <i>P.aeruginosa</i> 1	ANATÔMICA <i>S.coagulase -</i> 3 <i>C.albicans</i> 2 <i>A.baumannii</i> 1 <i>P.aeruginosa</i> 3 <i>Enterobacter sp</i> 5

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1	UFC/150 ML	AMOSTRA 2	UFC/150 ML	AMOSTRA 3	UFC/150 ML
12	2/nov/08	Fratura de cotovelo	9	1H15	TORQUÍMICO <i>S.aureus</i>	4	MEDIDOR DE PROFUNDIDADE <i>S.aureus</i>	1	GUIA LCP <i>S.aureus</i>	2
13	3/nov/08	Redução + fixação de calcâneo bilateral	4	4H10	PORTA AGULHA		RUGINA		ANATÔMICA	
14	5/nov/08	Redução + fixação de rádio distal	6	3H35	ANATÔMICA <i>S.coagulase - B.subtillis</i>	1 1	PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i>	1	FARABEU	
15	5/nov/08	Redução + fixação de tornozelo	5	3H15	FARABEU <i>A.xylosoxidans</i>	1	ALICATE Bacilo Gram +	1	AFASTADOR COM GARRA	
16	6/nov/08	Rellase subescapular	7	1H15	PORTA AGULHA <i>S.coagulase - B.subtillis</i>	1 1	AFASTADOR COM GARRA <i>S.coagulase - Penicillum sp</i>	1 1	AFASTADOR <i>Penicillum sp</i>	1
17	11/nov/08	Reconstrução + fixação cotovelo	4	4H50	CURETA <i>S.aureus</i>	3	CIZALHA <i>S.coagulase -</i>	16	ALICATE <i>S.coagulase - B.subtillis</i>	30 2
18	14/nov/08	Amputação transfemural	5	4H	KELLY <i>S.coagulase - B.subtillis S.aureus</i>	2 1 1	KELLY Bacilo Gram + <i>S.coagulase - S.aureus</i>	2 4 6	AFASTADOR WERTIME <i>S.coagulase - B.subtillis</i>	36 3
19	17/nov/08	HIM de tibia	X	2H30	KELLY <i>S.aureus</i>	6	KELLY <i>S.aureus</i>	42	PASSADOR DE FIO GUIA	
20	21/nov/08	HIM de tibia	4	2H25	TESOURA		ANATÔMICA		PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i>	1
21	21/nov/08	Retalho local	7	1H15	PORTA AGULHA <i>S.aureus A.baumannii Providencia rettgeri</i>	15 6 45	HALSTED <i>S.aureus Penicillum sp Providencia rettgeri</i>	9 1 4	ANATÔMICA <i>S.aureus A.baumannii Providencia rettgeri</i>	59 1 2
22	21/out/08	desbridamento	7	2H30	ADSON <i>S.coagulase - Citrobacter diversus</i>	2 1	ANATÔMICA <i>S.coagulase - S.aureus</i>	1 2	KELLY <i>S.coagulase - B.subtillis S.aureus</i>	1 1 2

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1	UFC/150 ML	AMOSTRA 2	UFC/150 ML	AMOSTRA 3	UFC/150 ML
23	8/dez/08	Soltura de retalho Groen + sutura	X	1H20	KOCHER <i>B.subtillis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 262	ADSON <i>Enterococcus</i> sp <i>Klebsiella pneumoniae</i>	42 254	ADSON S.coagulase -	6
24	11/dez/08	Redução cirúrgica + síntese de fratura	2	1H05	BROCA		PORTA AGULHA		KELLY <i>B.subtillis</i>	1
25	12/dez/08	Redução cruenta + fixação interna de clavícula	4	X	PORTA AGULHA Bacilo Gram +	110	ANATÔMICA Bacilo Gram +	1	KELLY Bacilo Gram +	50
26	12/dez/08	Redução cruenta + fixação interna de clavícula	4	X	TESOURA Bacilo Gram + <i>B.subtillis</i>	1 1	CENTRALIZADOR PARAFUSOS Bacilo Gram +	2	FARABEUF Bacilo Gram +	2

Dados não coletados ou amostra descartada

Instrumentos com crescimentos microbianos positivos

APÊNDICE 5

Distribuição das culturas positivas das amostras coletadas dos instrumentos cirúrgicos ortopédicos classificados como procedimento infectado. São Paulo, 2008.

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1 UFC/150 ML	AMOSTRA 2 UFC/150 ML	AMOSTRA 3 UFC/150 ML
1	10/out/08	L.C.* + Fistulectomia	4	X	PORTA AGULHA	SACABOCADO	X
2	13/out/08	L.C. + Retirada ATQ + Espaçador	1	2H30	SACABOCADO <i>S.aureus</i> 1	MIXTER <i>S.aureus</i> 1 <i>S.coagulase -</i> 6 <i>P.aeruginosa</i> 4	ALICATE <i>S.aureus</i> 1 <i>P.aeruginosa</i> 2
3	13/out/08	L.C. + RMS + Espaçador	4	3H10	PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i> 130 <i>S.aureus</i> 26	FREZA FLEXÍVEL <i>S.aureus</i> ≥ 300	X
4	14/out/08	Troca de espaçador de joelho	2	1H35	SACABOCADO <i>S.aureus</i> 1	KELLY <i>S.aureus</i> 6 Bacilo Gram + 1	X
5	17/out/08	L.C. Coxa Esquerda	5	1H15	PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i> 1 <i>S.aureus</i> 48 <i>A.baumannii</i> 5	SACABOCADO <i>S.coagulase -</i> 17 <i>S.aureus</i> 3 <i>C.albicans</i> 1 <i>A.baumannii</i> 33	PORTA AGULHA <i>S.aureus</i> 57 <i>Enterobacter sp</i> 40
6	20/out/08	Retirada de espaçador + HIM	4	2H15	KELLY	ADAPTADOR DE BROCA Bacilo Gram + 8 <i>S.coagulase -</i> 10	KOCHER <i>S.coagulase -</i> 1
7	23/out/08	Fratura exposta tornozelo + pé	10	1H15	KELLY	CURETA	HALSTED
8	30/out/08	L.C. + Ressecção de neuroma	7	1H	PORTA AGULHA <i>B.subtillis</i> 1 <i>S.aureus</i> 1	CURETA <i>S.aureus</i> ≥ 300	ADSON <i>S.aureus</i> 224

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1	UFC/150 ML	AMOSTRA 2	UFC/150 ML	AMOSTRA 3	UFC/150 ML
9	6/nov/08	L.C. + Rev. de prótese ou RMS + espaçador	5	2H30	SACABOCADO S.coagulase - S. aureus	40 230	KELLY S.coagulase - S. aureus	3 57	PORTA AGULHA S. aureus	15
10	7/nov/08	L.C. + VAC quadril	6	1H20	TESOURA C.albicans	2	ANATÔMICA		PORTA AGULHA B.subtillis	1
11	7/nov/08	L.C. + enxerto de perna	3	2H10	ANATÔMICA S.coagulase -	1	PORTA AGULHA B.subtillis S.aureus	1 2	PORTA AGULHA S.aureus	7
12	10/nov/08	Retalho cobertura quadril	1	3H05	PORTA AGULHA S.coagulase -	1	KELLY S.coagulase - B.subtillis	132 1	BABY KOCHER S.coagulase -	26
13	10/nov/08	Troca de espaçador de fêmur	5	1H35	SACABOCADO S.coagulase -	1	CURETA S.aureus	3	TESOURA	
14	11/nov/08	L.C.	2	1H30	KELLY		KELLY Bacilo Gram +	2	CURETA	
15	19/nov/08	L.C.	3	X	PORTA AGULHA		GOIVA S.aureus P.aeruginosa	15 1	KOCHER P.aeruginosa	1
16	19/nov/08	Amputação	4	X	DESCOLADOR B.subtillis S.aureus	2 ≥ 300	PORTA AGULHA B.subtillis S.aureus	2 ≥ 300	GOIVA S.aureus	≥ 300
17	21/nov/08	L.C. + Fixação externa de tibia	3	1H25	CURETA S.aureus	270	KELLY		AFASTADOR	
18	21/nov/08	L.C. de coxa	3	1H40	PORTA AGULHA S.coagulase -	1	KELLY B.subtillis	44	KOCHER S.coagulase - B.subtillis	4 6
19	21/nov/08	L.C. perna	5	1H10	CURETA Enterococcus sp	≥ 300	KOCHER Enterobacter sp Citrobacter diversus	≥ 300 280	ANATÔMICA Enterobacter sp Citrobacter diversus	≥300 47
20	21/nov/08	L.C. perna	4	1H	KELLY S.aureus	48	KELLY S.aureus	1	KELLY S.aureus	1

NÚMERO DA CIRURGIA	DATA DA COLETA	TIPO DE CIRURGIA	SALA	DURAÇÃO CIR. (HORAS)	AMOSTRA 1	UFC/150 ML	AMOSTRA 2	UFC/150 ML	AMOSTRA 3	UFC/150 ML
21	21/nov/08	Limpeza cirurgica - coto de amputação	X	0,5H	TESOURA <i>A.baumannii</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>E.faecallis</i>	30 280 20	CURETA <i>S.aureus</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>E.faecallis</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>	1 34 85 1	KELLY <i>A.baumannii</i> <i>P.aeruginosa</i>	80 ≥ 300
22	8/dez/08	Limpeza cirurgica	5	1H30	KELLY <i>S.aureus</i>	≥ 300	PORTA AGULHA <i>S.aureus</i>	≥ 300	PORTA AGULHA <i>S.aureus</i>	≥ 300
23	8/dez/08	Retalho com rotação perna	3	2H05	KELLY		CURETA <i>S.aureus</i>	1	AFASTADOR	
24	8/dez/08	Troca de espaçador de fêmur	3	X	KELLY <i>S.coagulase -</i> <i>B.subtillis</i>	82 1	KELLY <i>S.coagulase -</i>	191	CABO DE BISTURI <i>S.coagulase -</i> <i>B.subtillis</i>	35 1
25	8/dez/08	Desarticulação de quadril	1	2H15	LANGENBECK <i>S.coagulase -</i>	1	CABO DE BISTURI <i>S.coagulase -</i>	1	KELLY <i>S.coagulase -</i>	7
26	11/dez/08	L.C. + subida de coto	3	1H10	ANATÔMICA <i>Enterobacter sp</i>	12	PORTA AGULHA <i>S.coagulase -</i>	48	KELLY <i>Enterobacter sp</i>	230

  Dados não coletados ou amostra descartada
  Instrumentos com crescimentos microbianos positivos
 * Limpeza cirúrgica

Anexos

Anexo 1

	CERTIFICADO DE QUALIDADE - "QUALITY CERTIFICATE"	
	Código do Produto (Code): HAWPO4700	
	Descrição (Description):..... MEMBRANA HA EM ESTERES DE CELULOSE (NITRATO 75-80% E ACETATO), 0,45 MICRA, 47MM, BRANCA, LISA, 100 UNID/CX.	
	Lote Número (Lot Number): B8MN69834 FABRICADO: SET/2008	
	Validade (Expiration Date): 3 ANOS, OBSERVADAS AS CONDICÕES DO VERSO	
A Millipore Indústria e Comércio Ltda. certifica que o produto acima descrito foi manufaturado de acordo com os processos de fabricação Millipore a ele aplicáveis, tendo sido testado segundo as especificações de qualidade da Millipore e que seu desempenho atende às características descritas na literatura técnica publicada pela Millipore, assim como às respectivas especificações técnicas do produto. Millipore Indústria e Comércio Ltda. certifies that the product described above was manufactured according to the applicable Millipore's manufacturing process, being tested under Millipore's quality specifications and that it will perform according to what is published in the technical literature provided by Millipore and will comply with the product technical specifications.		
Millipore Indústria e Comércio Ltda Rua São Paulo, 30 - Barueri-S.P.-Brasil CEP 06465 130 CNPJ 46.387.973/0001-26 Tel. 55 11 4133 8700 Fax 55 11 4191 2779 Qualidade Assegurada		

Anexo 2

DEPARTAMENTO DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

Prof. Dr. Tarcísio E.P. Barros Filho

Prof. Dr. Arnaldo Valdir Zumioti

Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo

Memo/CC-DOT/87/2008

São Paulo, 20 de agosto de 2008.

Ilma. Sra.
Profa. Dra. Kazuko Uchikawara Graziano
Orientadora

Ref: Protocolo de Pesquisa da Escola de Enfermagem da USP, intitulado “Carga microbiana recuperada do instrumental utilizado em cirurgia ortopédica segundo o potencial de contaminação das cirurgias”.

Pesquisadora Executante: Flávia dos Santos Moraes

A Comissão Científica do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo **analisou e aprovou** nesta data, a solicitação para desenvolver o protocolo de pesquisa acima citado, junto ao Centro Cirúrgico do IOT HC FMUSP.

Prof. Alberto Tesconi Croci
Presidente
Comissão Científica – DOT