

JÚNIA CÁPUA DE LIMA

OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* sp. EM AMBIENTE HOSPITALAR,
CARACTERIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E ADESÃO DE *Staphylococcus*
aureus EM SONDAS NASOENTERAIS DE POLIURETANO E SILICONE

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister*
Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L732o
2007

poliuretano

Lima, Júnia Cápua de, 1979-

Ocorrência de *Staphylococcus* sp. em ambiente hospitalar, caracterização de superfícies e adesão de *Staphylococcus aureus* em sondas nasoenterais de

e silicone / Júnia Cápua de Lima. – Viçosa, MG, 2007.
xvi, 142f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Nélio José de Andrade.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 117-142.

1. Alimentos - Microbiologia. 2. Sondas nasoenterais.
3. *Staphylococcus*. 4. Hospitais - Saneamento. 5. Aderência celular. 6. Antibióticos - Testes. 7. Drogas - Resistência em microrganismos. 8. Rugosidade de superfície. 9. Microscopia eletrônica. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 664.001579

JÚNIA CÁPUA DE LIMA

OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* sp. EM AMBIENTE HOSPITALAR,
CARACTERIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES E ADESÃO DE *Staphylococcus*
aureus EM SONDAS NASOENTERAIS DE POLIURETANO E SILICONE

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister*
Scientiae.

APROVADA: 15 de agosto de 2007.



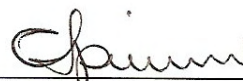
Prof. Antônio Fernandes de Carvalho
(Co-orientador)



Profª Jane Sélia dos Reis Coimbra



Profª Regina Célia Santos Mendonça



Pesq. Cláudia Lúcia de O. Pinto



Prof. Nélcio José de Andrade
(Orientador)

Dedico
a Deus,
que sempre iluminou meus caminhos,
guiou cada passo e, principalmente,
me levantou nos momentos de dificuldades.

Aos meus queridos pais Antônio e Elecir,
fonte de amor, respeito e educação.
Aos meus irmãos e grandes Engenheiros Rodrigo e André, exemplos
de companheirismo e amor.
À minha madrinha e Tia Nana, exemplo de luta.

Àqueles que possam ser beneficiados com esta e outras pesquisas que
contribuam com a qualidade de vida do ser humano.

"A coisa mais bela que o homem pode experimentar é o mistério. É esta a emoção fundamental que está na raiz de toda ciência e arte. O homem que desconhece esse encanto, incapaz de sentir admiração e estupefação, esse já está, por assim dizer, morto e tem os olhos extintos."

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus, Pai de infinita bondade, amor e sabedoria, por tudo.

Aos meus pais Antônio e Elecir, pela presença, dedicação e pelos conselhos ao longo de toda a minha caminhada.

Aos meus irmãos Rodrigo e André e às minhas primas Lélia e Janaína, pelos conselhos, pelo amor e pela paciência.

Às minhas tia Maria de Lourdes, Sandra e Judith e às minhas avós Maria Adelaide e Lília (*in memoriam*), pelas orações.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo financiamento desta pesquisa.

À empresa SOLUMED Materiais Médicos LTDA., por ter-me cedido as sondas nasoenterais; e ao químico José Luis Marcelo da Silveira, pelas informações preciosas.

Ao meu orientador e amigo Professor Nélio José de Andrade, pela oportunidade, pela paciência, compreensão e pelos ensinamentos proporcionados e, principalmente, pelos conselhos para não desistir do grande sonho de ser uma “cientista”.

Aos administrados do Hospital São Sebastião, por terem-me permitido obter as amostras do experimento; aos seus funcionários, pela ajuda valiosa, em especial ao Dr. Márcio Luiz F. e Eduardo Guerra; às enfermeiras Lidiane e Teresinha; aos demais funcionários do CTI; à nutricionista Heloisa Helena; às colaboradoras Marilene e Deise; e aos pacientes, pela colaboração.

À Professora Célia Alencar de Moraes, pela simpatia, pelos ensinamentos e, principalmente, por me mostrar a importância da Genética de Procariotos para um microbiologista.

Ao Professor Antônio Fernandes de Carvalho e Sukarno Olavo Ferreira, pela simpatia e colaboração preciosa ao longo de todo o experimento.

Ao Professor Fabyano Fonseca e Silva, por me auxiliar nas análises estatísticas.

Às Professoras Jane Sélia dos Reis Coimbra e Regina Célia Santos Mendonça, pela contribuição na elaboração do meu projeto de pesquisa e pelas sugestões após a defesa.

À Dr^a Cláudia Lúcia de Oliveira Pinto, pelas sugestões minuciosas.

À Professora Nilda de Fátima Soares, pelas sugestões, pela autorização para o uso do Instron e pelo fornecimento de meios e vidrarias empregados neste estudo.

À Dr^a Cláudia Alencar Vanetti, técnica do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV, pela ajuda e pelos ensinamentos.

À Dr^a Beatriz Glatzi e ao Dr. Fabrício Costa Bandeira, pelos ensinamentos médicos e pelo apoio durante a pesquisa.

Ao meu compadre Dr. José Paulo Bittencourt, pelo empréstimo de manuais médicos.

À Professora Cristina Tristão de Andrade, do Instituto de Macromoléculas Eloísa Mano (IMA), da UFRJ, pela autorização do uso do goniômetro; à técnica Beatriz de Souza Chagas, pelos ensinamentos; e aos estudantes Natália Ferreira de Magalhães, Felipe Fortes de Lima, Márcia Cristina da Silva e Gisela Kloc Lopes, pela ajuda durante as análises.

À minha amiga Mayara Souza Pinto, pela amizade e por me acolher em seu lar durante a minha etapa no Rio de Janeiro.

Ao José Xisto, da farmácia Drogafarma, pelos esclarecimentos e pela paciência.

Ao Nuno Fernandes, pela compra dos antibióticos.

A todos os funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, especialmente Antônio Carlos (Pio, “o rei”), Thiago, José Tomaz (Perereca), Geralda, Vaninha, Marco, Lúcia, Juarez, Maria Rita, Eliana, Sr. Manoel, Sr. Luiz, Fernando (embalagem) e aos senhores Zé e Zé Geraldo da fábrica, pela colaboração.

Ao funcionário Luiz Carlos, do Departamento de Veterinária da UFV, por ter retirado e cedido o sangue de carneiro para plaqueamento.

À minha amiga Roberta Careli (Rô Cicareli), que há tão pouco tempo nos conhecemos, contudo foi minha grande companheira, pelos ensinamentos e conselhos compartilhados.

Às minhas amigas do peito Pollyana (Mobinha), Marla (Marlíssima), Fernanda (Nandinha), Líllian (Lelê), Amanda (Mor) e Marília (Lila), pela paciência de ouvir as dificuldades desta caminhada.

À minha amiga Priscillinha (Piu), por ter compartilhado de momentos de aventura e ensinamentos durante parte de meu experimento no Rio de Janeiro.

Às minhas amigas “feias” Abilene e Najara, pela força durante a minha seleção para o mestrado e pelo companheirismo em Rio Verde, GO.

Aos meus amigos Victor Ferreira, Franceline Lopes (Line), Roberta Tie (Rorozinha), Ana Flávia (Fafá), Guilherme Garcia (Gui) e Rony Assis, pelos conselhos valiosos que me fizeram chegar até aqui.

Às minhas companheiras de luta Talita Moreira (Tatá) e Vanessa Cristina (Vanessinha), pela cumplicidade.

Ao Washington e à Natália, do Laboratório de Embalagem, e à Luciana Rodrigues (Lu), pelos ensinamentos e pela ajuda durante o experimento.

Aos meus grandes companheiros Joelma (Jô Lee), Joice (Jack Joice), Caio (Caio Blá), Patrícia (Pati Girl) e Everton – vocês foram minhas pernas, braços e mente quando estive cansada –, pelo companheirismo.

Aos meus amigos do Laboratório de Higiene Industrial e Microbiologia de Alimentos Ana Márcia e às “Danis”, Maraísa, Sílvia e Keyla, pela ajuda em diversas etapas do experimento.

À Maria Aparecida (Cida), por ter cedido parte dos recursos de seu projeto para a realização do meu trabalho.

Ao Rogério, do Laboratório Interlab, pela dedicação e competência.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

JÚNIA CÁPUA DE LIMA, filha de Antônio Luiz de Lima e Elecir Capua Rosa de Lima, nasceu em Ponte Nova, Estado de Minas Gerais, em 12 de junho de 1979.

Em julho de 2005, graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

Em agosto de 2005, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFV, submetendo-se à defesa da dissertação em 15 de agosto de 2007.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. O gênero <i>Staphylococcus</i>	5
2.2. <i>Staphylococcus</i> spp.: causa de infecções nosocomiais	8
2.3. Avaliação de ar de ambientes, superfícies e manipuladores ...	10
2.4. Antibióticos e resistência bacteriana	16
2.4.1. Classes Principais de Antibióticos	18
2.4.1.1. β -Lactâmicos	18
2.4.1.1.1. Penicilinas	19
2.4.1.1.2. Combinações β -lactâmico/Inibidor da β -lactamase	20
2.4.1.1.3. Cefens (incluindo cefalosporinas)	21
2.4.1.1.4. Carbapenêmicos	22
2.4.1.1.5. Monobactanos	22
2.4.1.2. Glicopeptídicos	23
2.4.1.3. Aminoglicosídeos	23
2.4.1.4. Macrolídios	24
2.4.1.5. Tetraciclínas	24

Página

2.4.1.6. Quinolonas	24
2.4.1.7. Inibidores da Via Metabólica do Folato	25
2.4.1.8. Classes de Drogas Únicas	25
2.4.2. O controle de infecções estafilocócicas por antibióticos	26
2.5. Biofilme	29
2.5.1. Aspectos físico-químicos na formação de biofilmes	32
2.5.1.1. Aspectos termodinâmicos	33
2.5.2. Outros fatores que influenciam a formação de um biofilme	39
2.5.3. Biofilme estafilocócico em dispositivos implantados	41
2.6. Emprego da microscopia eletrônica de varredura e contagem-padrão em placas na avaliação de adesão microbiana	44
2.7. Avaliação da microtopografia de superfícies por microscopia de força atômica	46
2.8. Nutrição enteral.....	48
2.8.1. Complicações da nutrição enteral.....	51
2.9. Sondas para alimentação enteral	53
2.10. Determinação das propriedades mecânicas	55
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
3.1. Contagem e isolamento de <i>Staphylococcus</i> sp. em um hospital municipal	56
3.1.1. Ar de ambientes.....	56
3.1.2. Manipuladores	57
3.1.3. Mucosa nasal.....	58
3.1.4. Dieta.....	59
3.1.5. Superfícies de preparo.....	59
3.1.6. Sondas.....	60
3.2. Purificação e identificação bioquímica dos isolados	61
3.3. Teste de sensibilidade a antibióticos	64
3.4. Caracterização física, físico-química e microscópica das superfícies de sondas nasoentéricas.....	64

3.4.1. Determinação da tensão de ruptura e estiramento dos polímeros.....	64
3.4.2. Hidrofobicidade	65
3.4.3. Topografia e rugosidade por microscopia de força atômica	66
3.5. Adesão de <i>Staphylococcus aureus</i> em superfícies de sondas nasoentéricas de silicone e de poliuretano	67
3.5.1. Adesão por teste em uso simulado	67
3.5.2. Determinação do número de células aderidas.....	70
3.5.3. Avaliação da adesão por microscopia eletrônica de varredura	71
3.6. Análises dos resultados	73
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.1. Enumeração e isolamento de <i>Staphylococcus</i> sp. em um hospital municipal	75
4.1.1. Ar de ambientes.....	75
4.1.2. Manipuladores	78
4.1.3. Mucosa nasal.....	80
4.1.4. Dieta.....	81
4.1.5. Superfícies de preparo.....	83
4.1.6. Sondas.....	85
4.2. Purificação e identificação bioquímica dos isolados	87
4.3. Teste de sensibilidade a antibióticos	91
4.4. Caracterização física, físico-química e microscópica das superfícies de sondas nasoentéricas.....	101
4.4.1. Determinação da tensão de ruptura e estiramento dos polímeros.....	101
4.4.2. Hidrofobicidade	103
4.4.3. Microscopia de força atômica	105
4.5. Adesão de <i>Staphylococcus aureus</i> em superfícies de silicone e de poliuretano usadas para construção de sondas nasoentéricas	107

4.5.1. Determinação do número de células aderidas.....	107
4.5.2. Avaliação da adesão por microscopia eletrônica de varredura	108
5. CONCLUSÕES.....	114
REFERÊNCIAS	117

RESUMO

LIMA, Júnia Cápua de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2007. **Ocorrência de *Staphylococcus* sp. em ambiente hospitalar, caracterização de superfícies e adesão de *Staphylococcus aureus* em sondas nasoenterais de poliuretano e silicone** Orientador: Nélio José de Andrade. Co-Orientadores: Nilda de Fátima Ferreira Soares, Antônio Fernandes de Carvalho e Fabyano Fonseca e Silva.

Espécies de *Staphylococcus* foram isoladas e identificadas de dietas enterais, do ar do ambiente de Centro de Terapia Intensiva (CTI) e da sala de preparo de nutrição enteral, de manipuladores da sonda e da dieta, de superfícies de preparo, da mucosa nasal de pacientes e de sondas nasoenterais de poliuretanos e silicone após uso em ambientes de um hospital municipal. Os isolados foram identificados utilizando-se o *kit* API Staph da BioMérieux®. Avaliou-se a sensibilidade dos isolados a antimicrobianos pelo método de discos impregnados com antibióticos das seguintes substâncias: ciprofloxacina-CIP (5 µg), amicacina-AMI (30 µg), clindamicina-CLI (2 µg), claritromicina-CLA (15 µg), ceftriaxona-CRO (30 µg), ceftazidima-CAZ (30 µg), imipenem-IMP (10 µg), oxacilina-OXA (1 µg), sultamicilina – ampicilina e sulbactam-APS (10/10 µg) e vancomicina-VAN (30 µg). Corpos-de-provas das sondas de poliuretano e silicone foram submetidos à análise de tensão de ruptura e estiramento (equipamento Instron), à análise da hidrofobicidade das superfícies internas pelo método do ângulo de contato (aparelho goniômetro) e da rugosidade e topografia

pela técnica da microscopia de força atômica. A adesão de um isolado de *Staphylococcus aureus* nas superfícies internas das sondas foi avaliada por contagem-padrão em placa e por microscopia eletrônica de varredura. Foram constatadas altas contagens de *Staphylococcus* sp. no ar do CTI ($2,15 \pm 0,36 \log \text{ UFC.m}^{-3}$), na sala de preparo da dieta ($1,64 \pm 0,17 \log \text{ UFC.m}^{-3}$) e nas sondas após uso (entre $6,88 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$ e $7,38 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$). *S. aureus* foi a espécie mais freqüente dentre os isolados (52,44%), estando presente em maior porcentagem em sondas nasoenterais (28,05%). Quarenta e quatro isolados, entre 48 analisados, foram sensíveis ao antibiótico carbapenêmico imipenem, o que correspondeu a 91,6%, e 1 isolado foi sensível ao glicopeptídeo vancomicina (2,1%). No entanto, 47 (87,5%) isolados foram resistentes ao antimicrobiano ceftazidima da classe das cefalosporina (cefens). A sonda de poliuretano foi mais resistente do que a de silicone nos testes de tensão de ruptura e estiramento e mostrou-se hidrofílica ($\Theta_w = 50,2 \pm 0,61$), enquanto a de silicone, hidrofóbica ($\Theta_w = 74,6 \pm 1,30$). O poliuretano apresentou maior rugosidade média do que o silicone, com rugosidade média (R_a) de 2,87 nm, e a diferença máxima entre o ponto mais alto e o mais baixo (R_t) foi de 53,90 nm. Observou-se a ocorrência de irregularidades, como protuberâncias, fissuras, fendas e orifícios nas fotomicrografias das superfícies. Por meio da análise microscópica, constatou-se que *S. aureus* foi capaz de aderir em ambas as superfícies. As médias das contagens de *S. aureus* aderidos, após três dias de teste, não diferiram ($p > 0,05$) e atingiram $1,11 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$ para poliuretano e $0,99 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$ para silicone. A importância dos diversos fatores envolvidos na aderência dos microrganismos às superfícies ainda deve ser melhor e mais claramente estabelecida. A utilização de modelos que simulem a contaminação bacteriana dos polímeros é muito importante para o seu aperfeiçoamento. Novos polímeros devem ser pesquisados e testados na fabricação de sondas nasoenterais com o intuito de reduzir ou impedir a adesão bacteriana, por meio da modificação das características físico-químicas da superfície.

ABSTRACT

LIMA, Júnia Capua de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August of 2007. **Occurrence of *Staphylococcus* sp. in the hospital environment, surface characterization and *Staphylococcus aureus* adhesion to polyurethane and silicone nasoenteral tubes.** Adviser: Nélcio José de Andrade. Co-Advisers: Nilda de Fátima Ferreira Soares, Antônio Fernandes de Carvalho and Fabyano Fonseca e Silva.

Staphylococcus species were isolated and identified from enteral diets, ambient air from the Intensive Care Unit (ICU) and from the enteral nutrition preparation room, handlers of feeding tubes and diets, preparation surfaces, patient's nasal mucous and polyurethane and silicone nasoenteral tubes used in rooms of a municipal hospital. The isolates were identified using the API Staph kit (BioMérieux®, France). Sensibility of isolates to antimicrobial agents was evaluated by the detection method using paper discs impregnated with the following antibiotics: ciprofloxacin-CIP (5 µg), amikacin-AMI (30 µg), clindamycin-CLI (2 µg), clarithromycin-clar (15 µg), ceftriaxone-CRO (30 µg), ceftazidime-CAZ (30 µg), imipenem-IMP (10 µg), oxacylin-OXA (1 µg), sultamicillin- ampicillin and sulbactam-APS (10/10 µg) and vancomycin-Van (30 µg). Specimens of polyurethane and silicone tubes were analyzed for rupture tension and stretching (Instron Testing Machine), hydrophobicity analysis of internal surfaces by contact angle measurement (goniometer) and surface roughness and topography by atomic force microscopy. Adhesion of *Staphylococcus aureus* isolates to tube internal

surfaces was evaluated by standard plate count and scanning electron microscopy. High *Staphylococcus* sp counts were confirmed in the ICU air ($2.15 \pm 0.36 \log \text{UFC.m}^{-3}$), in the diet preparation room ($1.64 \pm 0.17 \log \text{UFC.m}^{-3}$) and in the used tubes (between $6.88 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ and $7.38 \log \text{UFC.cm}^{-2}$). *S. aureus* was the most frequent species amongst the isolates (52.44%), with the largest percentage in nasoenteral tubes (28.05%). Among 48 isolates analyzed, 44 were sensitive to imipenem, a carbapenemic antibiotic, corresponding to 91.6%, and one isolate was sensitive to the glycopeptide vancomycin (2.1%). However, 47 (87.5%) isolates were resistant to the antimicrobial ceftazidime, in the cephalosporin class (cephens). The polyurethane tube was more resistant than the silicone one in the rupture tension and stretching tests and was shown hydrophilic ($\Theta_w = 50.2 \pm 0.61$), whereas the silicone tube was hydrophobic ($\Theta_w = 74.6 \pm 1.30$). The polyurethane tube showed higher mean surface roughness than the silicone one, with mean roughness (R_a) of 2.87 nm, with maximum difference between the highest and the lowest point (R_t) of 53.90 nm. There was occurrence of irregularities such as protuberances, fissures, rifts and holes on the surface photomicrographies. The microscopic analysis showed that *S. aureus* was capable to adhere to both surfaces. After three days of tests, *S. aureus* mean counts were not different ($p > 0.05$), reaching $1.11 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ for polyurethane and $0.99 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ for silicone. The importance of the several factors involved in microorganism adherence to surfaces still has to be better and more clearly established. The use of models simulating bacterial contamination of polymers is crucial for new developments. New polymers should be researched and tested for the production of nasoenteral tubes in order to reduce or inhibit bacterial adhesion by modifying physicochemical surface characteristics.

1. INTRODUÇÃO

O trato digestório pode constituir importante via para a invasão de patógenos e estabelecimento de infecção hospitalar. Essa infecção é responsável por seqüelas em pacientes, podendo eventualmente levar a óbito ou aumentar o tempo e o custo de internação, o que onera o sistema de saúde.

Evidências consideráveis indicam que dietas enterais com contaminações bacterianas podem ser causa de infecções e intoxicações graves. O cuidado com o preparo, conservação e administração da dieta é importante para a prevenção de complicações infecciosas quando esse tipo de nutrição é utilizado, principalmente em estabelecimentos que necessitam de controles rigorosos de higiene, a exemplo de hospitais.

A qualidade dos procedimentos de higienização do ar de ambientes, das condições higiênicas dos manipuladores de alimentos e das superfícies de equipamentos e utensílios constitui também preocupação constante para hospitais. Dentre os microrganismos causadores de infecções, o gênero *Staphylococcus* é freqüente e pode colonizar pêlos, mãos e mucosas nasais dos manipuladores e superfícies de equipamentos e utensílios, sendo, assim, incorporados aos alimentos durante o seu preparo e nos dispositivos implantados. Essas bactérias, ao aderirem nesses dispositivos, iniciam o crescimento e formam biofilme, além de desencadarem processos infecciosos. Dessa forma, o tratamento da infecção torna-se mais difícil,

considerando que os microrganismos em biofilme apresentam maior resistência à ação de antibióticos e, em muitos casos, é necessária a remoção do dispositivo.

Uma forma conveniente de prevenir esse problema é prevenir o desenvolvimento de biofilme na superfície dos biomateriais. O desenvolvimento de pesquisas que busquem informações sobre os processos de adesão bacteriana e formação de biofilmes em biomateriais poliméricos, como silicone e poliuretano, empregados na confecção das sondas, é importante para o controle de possíveis complicações dos pacientes envolvendo patógenos. Nesse sentido, é fundamental o conhecimento das características das superfícies dos biomateriais, incluindo hidrofobicidade, carga elétrica e microtopografia, além de aspectos de termodinâmica associados à energia livre de Gibbs e ao processo de adesão bacteriana.

O estudo desses aspectos é necessário para subsidiar as equipes multidisciplinares formadas em hospitais que têm como uma de suas funções a prevenção das infecções em pacientes durante o período de internação.

Os objetivos deste trabalho foram:

a) Isolar estirpes de *Staphylococcus* spp. a partir de ar de ambiente, dieta enteral, superfície de preparo da dieta, manipuladores, mucosa nasal e dispositivos nasoenterais de pacientes, em um hospital na cidade de Viçosa, MG.

b) Identificar, por métodos bioquímicos, os isolados de *Staphylococcus* spp.

c) Avaliar a sensibilidade de estirpes isoladas e identificadas a antibióticos.

d) Caracterizar a microtopografia, resistência e hidrofobicidade das sondas.

e) Simular o procedimento de administração da dieta de sistema aberto em laboratório, com a finalidade de verificar o processo de adesão e formação de biofilme de um isolado de *Staphylococcus aureus*.

f) Acompanhar o processo de adesão e formação de biofilme em superfícies de sondas nasoentéricas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O termo infecção define invasão e multiplicação de microrganismo nos tecidos. Ela pode ser clinicamente inaparente ou resultar em alterações orgânicas, em função de metabolismo competitivo, toxinas, replicação intracelular ou respostas imunológicas do tipo antígeno-anticorpo (FERREIRA, 1997).

As infecções hospitalares, denominadas infecções relacionadas à assistência à saúde ou, ainda, complicações infecciosas hospitalares, são tão antigas quanto a origem dos hospitais, remontando 325 d.C. Apesar de serem descritas há quase dois mil anos, ainda representam importante desafio na medicina moderna (KEIM, 2005), pois são as mais freqüentes e importantes complicações ocorridas em pacientes hospitalizados (PITTET; WENZEL, 1995; WENZEL, 1995; MEDEIROS et al., 2001). Estão associadas a taxas expressivas de morbimortalidade e aos maiores custos assistenciais (MUNIZ, 2005).

No Brasil, estima-se que 5% a 15% dos pacientes internados contraem alguma infecção hospitalar, o que acresce, em média, 5 a 10 dias no período de internação (MEDEIROS et al., 2001). Dados estimativos do Ministério da Saúde indicam que, a cada dia, 1.500 pacientes hospitalizados são acometidos de uma complicação infecciosa (KEIM, 2005). A taxa de mortalidade é de 10% a 20% por infecção local (MEDEIROS et al., 2001). Como exemplo, pode-se citar a bacteremia primária associada à

implantação de cateteres centrais, cuja taxa de mortalidade é de 5% a 9% (MACHADO, 2001).

Nos EUA, um em cada 136 pacientes hospitalizados apresenta doença grave em consequência de infecção hospitalar, o que equivale a dois milhões de casos e, aproximadamente, 80.000 mortes por ano (WHO, 2005). Os custos com pacientes com infecção são de aproximadamente 3,5 bilhões de dólares ao ano (VICENT, 2003). Cerca de 80.000 infecções sangüíneas relacionadas ao implante de cateteres ocorrem anualmente naquele país em unidades de terapia intensiva (UTI), cujo tratamento é estimado em 296 milhões a 2,3 bilhões de dólares. Esse tipo de infecção está associado a 2.400 a 20.000 mortes por ano (MERMEL, 2001; O'GRADY et al., 2002; TRICK, 2004).

As taxas de infecções hospitalares dependem de vários fatores relacionados à clientela, como níveis cultural e socioeconômico e seu estado imunológico, com alta incidência de doenças infecciosas comunitárias e parcela predominante subnutrida (GARZON, 1993); às características do hospital; e ao sistema de controle de vigilância epidemiológica das infecções hospitalares (MACHADO, 2001). Essas taxas podem ser reduzidas pela introdução de protocolos padronizados para investigação da infecção e por meio do uso prolongado de antibióticos intravenosos (DENNISTON et al., 2006).

O risco de adquirir infecção em um hospital é diretamente proporcional à gravidade da doença, às condições nutricionais do paciente, aos procedimentos necessários em seu tratamento e ao tempo de internação (MOURA; SILVA, 2001). O meio ambiente hospitalar, incluindo o ar, a água e as superfícies inanimadas que cercam o paciente, possui estreita relação com as infecções hospitalares e pode proporcionar focos de contato e de transmissão (ANDRADE et al., 2000).

O uso de formulações para nutrição enteral (NE) contaminadas também pode estar associado a complicações infecciosas, sendo a diarréia a complicação mais freqüente. A administração de fórmulas pode causar distúrbios gastrintestinais e contribuir para infecções mais graves, especialmente em pacientes imunodeprimidos (CARVALHO et al., 1999; KEHR et al., 2002; KLAASSEN et al., 2002; LIMA et al., 2005). Isso pelo fato

de um microrganismo viável e não viável ou, até mesmo, produtos microbianos, como exotoxinas, translocarem do intestino, por meio da mucosa epitelial, para o interior de nódulos linfáticos mesentéricos e outros órgãos extra-intestinais. A translocação pode ser desencadeada em indivíduos sob antibioticoterapia, quimioterapia, radioterapia e em situações de estresse, o que favorece o supercrescimento de bactérias patogênicas endógenas e, conseqüentemente, sua translocação. Outro fator que pode promover o supercrescimento bacteriano no intestino é a ingestão de alimentos contaminados.

Sondas nasoentéricas são descritas como fator de risco na aquisição de microrganismos resistentes a múltiplas drogas (DUCKRO et al., 2005; MATLOW et al., 2006), a exemplo de *S. aureus* resistente à meticilina (MEHALL et al., 2002). Segundo Mehall et al. (2002), bactérias resistentes a antibióticos aderidas a esses dispositivos podem ser transferidas para dispositivos de outros pacientes e causarem infecções. Esses pesquisadores atribuíram como fonte de transmissão as mãos de enfermeiros e ressaltaram a importância de sua higienização e da implementação das Boas Práticas de Controle de Infecções.

Para diminuir o índice de infecção hospitalar, a Organização Mundial da Saúde recomendou a adoção de políticas nacionais de prevenção e controle de infecção, estimulando a constituição de Comissões de Controle de Infecção em todos os hospitais (WHO, 2004).

2.1. O gênero *Staphylococcus*

Este gênero pertence à família *Micrococcaceae* e é constituído de 32 espécies (HOLT et al., 1994). São Gram-positivos, imóveis, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos e com diâmetro de 0,5 µm a 1,5 µm. Encontram-se na forma de cocos, que se dividem em mais de um plano para formar uma estrutura semelhante a cachos de uva (HOLT et al., 1994; BAIRD-PARKER, 1990).

Podem se desenvolver em uma faixa de pH de 4,2 a 9,3, com pH ótimo de 7,0 a 7,5. Sua temperatura de maior crescimento é observada entre 30 e 37 °C, devendo ser ressaltado que a temperatura para produção de

enterotoxina se encontra na faixa de 37 a 40 °C (IGARASHI et al., 1986). Essas bactérias são tolerantes a concentrações de 10 a 20% de NaCl e nitratos. Em geral, multiplicam-se em atividade de água (a_w) acima de 0,86 (JAY, 2005).

No homem, as bactérias do gênero *Staphylococcus* podem ser encontradas no conduto nasal, trato digestório, nos olhos, na garganta e superfície da pele, sendo mais freqüente nas mãos, braços, rosto e feridas (JAY, 2005; HOLT et al., 1994). Assim, essa bactéria pode contaminar o alimento direta ou indiretamente (JAY, 2005).

Algumas espécies desse gênero, principalmente *S. aureus*, podem sintetizar um grupo de exotoxinas chamadas de superantígenos tóxicos pirogênicos (PTSAGs-*Pyrogenic Toxin Superantigens*) (BECKER et al., 2001). As PTSAGs englobam a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1-*Toxic Shock Syndrome Toxin-1*), as enterotoxinas estafilocócicas (SE-*Staphylococcal enterotoxins*), além de uma exotoxina pirogênica estreptocócica (SPE-*Streptococcal Pyrogenic Exotoxins*). Essas exotoxinas podem exibir pelo menos três propriedades biológicas: a pirogenicidade, a capacidade de acentuar a endotoxicidade em coelhos e a superantigenicidade, sendo esta última propriedade importante, pois se refere à habilidade dessas exotoxinas em estimular a proliferação de linfócitos T, o que induz a liberação de citocinas e, finalmente, causa a morte dessas células. Os genes que codificam essas exotoxinas são transportados por plasmídios, bacteriófagos ou transposons (DINGES et al., 2000).

Essas enterotoxinas são termoestáveis, ao contrário da bactéria. Assim, permanecem ativas, após tratamento térmico, nos alimentos, tornando-se um risco em potencial para a saúde do consumidor e um problema para a saúde pública (CARMO et al., 2002). Atualmente, há identificados 16 tipos de enterotoxinas estafilocócicas (SE): SEA (A), SEB (B), SEC1 (C₁), SEC2 (C₂), SEC3 (C₃), SED (D), SEE (E), SEG (G), SEH (H), SEI (I), SEJ (J), SEK (K), SEL (L), SEM (M), SEM (N) e SEO (O) (CARMO, 2007), podendo algumas dessas ser produzidas no alimento em contagens mínimas até de 10³ UFC/g (CARMO et al., 2002). As enterotoxinas SEG (G), SEI (I), SEJ (J), SEK (K), SEL (L), SEM (M), SEM (N) e SEO (O) foram identificadas por seqüenciamento do gene, mas ainda

não foram purificadas. Assim, são conhecidas apenas pelo seqüenciamento de aminoácidos (CARMO, 2007). A intoxicação caracteriza-se por sintomas que incluem cãibra muscular, dor de cabeça, vômito, hipotensão, cólica abdominal, náusea e, principalmente, diarréia. Em casos graves, o indivíduo pode necessitar de cuidados médicos e crianças e idosos podem chegar ao óbito (CARMO, 1997).

Os sintomas provocados pela TSST-1 são agudos, potencialmente fatais, incluem febre alta, descamação da pele e hipotensão (CHESNEY, 1989). Essa síndrome, diferentemente da gastroenterite causada pelas SE, ainda não foi associada ao consumo de alimentos. Todavia, pode indicar um fator de virulência da estirpe (RAPINI et al., 2005).

A síndrome do choque tóxico (TSS) é separada em duas categorias: TSS menstrual e TSS não-menstrual. A taxa de mortalidade por TSS é de aproximadamente 10% a 15%, sendo inferior a 5% quando o patógeno envolvido é *S. aureus*. Dos casos relacionados à menstruação, 99% das mulheres utilizavam tampões. A TSST-1 é um potencial estimulador para liberação de interleucina-1 (IL-1) e para a síntese do fator alpha de tumor e necrose (TNF alpha). A ação dessas citocinas é responsável pela maioria das manifestações clínicas da TSS por *S. aureus* (REISS, 2000). O tipo não-menstrual responde por 45% dos casos e é secundário a infecções, como abscessos, celulite, bursite, traumatismos infectados, infecções puerperais (pós-parto), cirúrgicas em geral e infecções vaginais (FERGUSON; TODD, 1991). A síndrome associada a infecções de ferimentos após cirurgia tem período de incubação de um dia a quatro dias, e, com freqüência, doença ocorre rapidamente (REISS, 2000).

Além desses fatores de virulência, as bactérias do gênero *Staphylococcus* podem sintetizar quatro classes de citotoxinas. Estas incluem quatro hemolisinas, denominadas: (i) α -toxina, que é citolítica, age na formação de poros em membrana de vários tipos celulares e induz a síntese de eicosanóide, prostaglandinas, que resulta em vasoconstrição; (ii) β -toxina ou esfingomielinase C, que causa lise de membranas celulares ricas em esfingomielina, sendo tóxica para vários tipos celulares, como hemácias, leucócitos, plaquetas, fibroblastos e macrófagos; (iii) δ -toxina, que atua em membranas celulares formando poros em uma ampla variedade de

tipos de células de mamíferos (BOHACH et al., 1997); (iv) γ -toxina ou leucotoxinas; e (v) leucocidina de Panton-Valentine (PVL-*Panton-Valentine Leucocidin*). Estas duas últimas toxinas formam um sistema bi-componente, que é secretado de forma independente. Estas toxinas, também chamadas de leucotoxinas, são tóxicas sinergicamente para neutrófilos polimorfonucleares, monócitos e macrófagos (PREVOST et al., 1995).

Alguns estafilococos patogênicos são identificados pela capacidade de produzir coagulase (KLOOS; MUSSELWHITE, 1975). Essa característica distingue as estirpes coagulase positivas, *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* daquelas que são coagulase negativas (ECN), por exemplo *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* e *S. saprophyticus*, sendo estas últimas todas patógenos humanos (HARRIS; RICHARDS, 2006).

2.2. *Staphylococcus* spp.: causa de infecções nosocomiais

Infecção hospitalar é definida pela Portaria 2.616, de 12 de maio de 1998, do Ministério da Saúde, como “aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares” (BRASIL, 1998). É o resultado de uma série de interações entre um agente de doença, que são os microrganismos ou seus produtos (toxinas); o hospedeiro, que é o paciente; e o ambiente, que são os locais de cuidados dentro do hospital (SÃO PAULO, 2006).

As infecções hospitalares representam um grave problema médico-social, e o seu melhor conhecimento, prevenção e controle constituem um desafio a ser enfrentado. Entre os microrganismos associados à etiologia dessas infecções, *Staphylococcus aureus* (MUNDIM et al., 2003) e estafilococos coagulase negativa permanecem como importantes patógenos (COSTA et al., 2004).

O gênero *Staphylococcus* é considerado o mais importante causador de infecções devido a implantes, contribuindo para os casos de bacteremia hospitalares (COLLIGNON et al., 2005; ARCIOLA et al., 2002; FRÈRE et al., 1999; HUEBNER; GOLDMANN, 1999). *S. aureus* e *S. epidermidis*, por serem habitantes comensais da pele humana, possuem fácil acesso pelos

ferimentos, podendo alcançar dispositivos implantados. Freqüentemente, é causa persistente e crônica de infecções em humanos com cateter, prótese e outros dispositivos (RESCH et al., 2004). Isso ocorre uma vez que essas superfícies favorecem sua colonização, que pode acontecer rapidamente nas primeiras 24 horas, em razão de compostos sintetizados pelo hospedeiro, como plaquetas, proteínas do tecido e plasma (DONLAN, 2001; MAKI, 1994). Ultimamente, também têm sido isoladas de infecções humanas e animais as espécies *S. schleiferi* e *S. hyicus*. A diferenciação desses estafilococos se baseia em propriedades fisiológicas, enzimáticas e bioquímicas (BERNARDES et al., 2004).

S. aureus é o patógeno humano mais importante do gênero *Staphylococcus*. As manifestações clínicas das doenças causadas por esse patógeno variam desde intoxicações alimentares, ou infecções cutâneas de pouca importância, até infecções hospitalares graves, principalmente da corrente sanguínea (BROOKS et al., 2000). Infecções causadas por *S. aureus* acometem pacientes em todas as faixas etárias, com maior freqüência nos extremos de idade, em especial em pacientes com idade acima de 50 anos (MOREIRA et al., 1998).

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

Até duas décadas atrás, estafilococos coagulase negativa (ECN) eram considerados microrganismos comensais. Entretanto, tornaram-se patogênicos à medida que se universalizou o uso de antissépticos e o excessivo uso de metilina e oxacilina que pressionou a produção de β -lactamase e múltipla resistência aos antibióticos (SHINEFIELD, 2001; MIURA, 2002).

Dentre as espécies de ECN, *S. epidermidis* é clinicamente o mais importante em recém-nascidos. Esta bactéria, nos EUA, é responsável por

aproximadamente de 10% a 27% de todos os casos de bacteremia em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN). Entre os infectados, a maioria é prematura (80%), sendo a metade com imaturidade imunológica (SHINEFIELD, 2001; MIURA, 2002).

Os fatores de risco para a infecção por ECN incluem a presença de corpo estranho, como sonda nasogástrica, cateter venoso central, cateter umbilical, derivação ventrículo-peritônio, tubo endotraqueal, ventilação mecânica, dreno torácico, cateter de diálise peritônio, antibióticos prévios e nutrição parenteral (CUNHA et al., 2002). Silbert et al. (1997), em estudo para determinar a prevalência de infecção *versus* contaminação em pacientes, observaram que a presença desses corpos estranhos aumentou a chance de infecção em 4,4 vezes e o uso prévio de antibióticos, em 5,4 vezes. Os ECN e, em especial, *S. epidermidis* são os agentes etiológicos mais importantes das infecções relacionadas a cateteres, sendo responsáveis por 50,0% a 70,0% dos casos (VON EIFF et al., 2001).

A identificação das espécies de estafilococos é de grande significância devido ao aumento de seu significado clínico. É importante reconhecer prováveis reservatórios, para avaliar a distribuição dessas espécies bacterianas envolvidas em complicações infecciosas hospitalares e promover a monitorização da incidência de resistência entre elas (KEIM, 2005).

2.3. Avaliação de ar de ambientes, superfícies e manipuladores

O ar em um local de preparo de alimentos pode constituir uma fonte de contaminação. Deve ser dada atenção especial à possibilidade de o ar representar veículo de microrganismos patogênicos, comprometendo a segurança alimentar (EVANCHO et al., 2001).

Os microrganismos podem estar presentes nos ambientes na forma de aerossóis, que consistem de partículas dispersas no ar. Essas, por sua vez, podem ser líquidas (gotas), sólidas ou, ainda, incluir ambos os tipos e também transportar células isoladas ou aglomeradas (SULLIVAN, 1979; NORTHCUTT et al., 2004; BURFOOT, 2005). Aerossóis podem ter muitas fontes, incluindo materiais crus, pessoas, embalagens e movimentação de

equipamentos (BURFOOT, 2005). Holah (1995) mostrou que operações de limpeza são as principais fontes de aerossóis que podem incluir microrganismos. Essas operações incluem, por exemplo, lavar bandejas, equipamentos e chão.

Resultante da atividade de pessoal, a microbiota do ar é constituída por células vegetativas de bactérias, especialmente *S. aureus*, estreptococos, micrococos e outros microrganismos associados com o trato respiratório humano, cabelos e pele (SVEUM et al., 1992).

A melhor maneira para controlar contaminação por ar é restringir a geração de aerossóis. Uma vez que a partícula se encontra em suspensão, é difícil controlar sua movimentação no ar, pois aí atuam a ação da gravidade, a convecção térmica e a dispersão por turbulência. A correta especificação e instalação de equipamentos de ar (ar-condicionados e exaustores, por exemplo) podem assegurar que a maioria das partículas não contamine alimentos expostos. Para isso, recomendam-se adotar três sugestões: (i) utilizar suficiente taxa de troca de ar e filtração para remover as partículas; (ii) fornecer ar suficiente para manter uma pressão positiva em áreas de risco elevado e restringir o fluxo de ar que vem de áreas de baixo cuidado; e (iii) assegurar que o fluxo não crie regiões de baixa pressão próximas a frestas de portas, portinholas e outras aberturas que podem levar à contaminação das áreas de baixo cuidado. Vale ressaltar que a filtração é um dos principais fatores no controle da concentração de partículas do ar em ambientes. O *layout* industrial e as operações também têm grande e significativo impacto na dispersão de aerossóis (BURFOOT, 2005).

O risco de contaminação de alimentos em ambientes de alto cuidado depende de muitos fatores, dentre os quais se destacam: (i) taxa de geração de partículas do ar; (ii) tamanho e velocidade das partículas; (iii) número de partículas que contêm microrganismos; (iv) direção do fluxo de ar no ambiente; e (v) tempo de exposição e área da superfície do alimento. Esses fatores são importantes porque controlam a distância percorrida, o tempo no ar e a distribuição espacial dos microrganismos e são analisados por equipamentos, como: (i) analisadores de Fase de Efeito Doppler, tecnologia que emprega laser para medir tamanho e velocidade de gotas geradas; (ii) anemômetros, principalmente os ultra-sônicos, que permitem medir a

velocidade e direção do ar; e (iii) amostradores de ar que identificam e quantificam microrganismos (BURFOOT, 2005).

A determinação da qualidade microbiológica do ar pode ser realizada por vários métodos, incluindo a técnica de sedimentação simples, impressão em superfície de ágar, empregando-se o amostrador de ar, filtração, centrifugação, precipitação eletrostática, colisão em líquido e precipitação térmica. Cada método possui suas vantagens e limitações. Assim, a seleção de um amostrador de ar e de um método adequado ao que se pretende é um ponto a ser considerado para o monitoramento da qualidade do ar. Os métodos de sedimentação e impressão em ágar são mais utilizados e permitem o uso de meios seletivos ou não para detecção e quantificação de microrganismos presentes nos bioaerossóis (EVANCHO et al., 2001). A eficiência da avaliação microbiológica do ar varia de acordo com o amostrador utilizado e a natureza dos bioaerossóis a serem amostrados (HUYS et al., 2005).

Utilizando o método de sedimentação em placa, Pasquarella et al. (2000) propuseram o índice-padrão denominado Índice de Contaminação Microbiológica do Ar (IMA), para avaliação microbiológica de ar a ser adotada na Europa. Consiste em manter a placa de Petri de 90 mm de diâmetro exposta por 1 h, a 1 m de altura do piso e 1 m de distância de paredes ou obstáculos, referindo-se como sistema 1/1/1. Propuseram também que nos hospitais, em salas cirúrgicas e enfermarias, tenham contagens máximas de 25 e 50 UFC.placa⁻¹ de bactérias mesófilas totais, respectivamente.

Carvalho (2005), avaliando a qualidade microbiológica de ar de enfermarias de pacientes infectados (casos) ou não por *S. aureus* (controle), encontrou valores referentes ao IMA abaixo de 50, sendo observadas contagens de 41,3 UFC.placa⁻¹ e 26,5 UFC.placa⁻¹ de mesófilos aeróbios nas enfermarias de casos e controles, respectivamente. Apesar de esse índice não ser elaborado para contagens de *S. aureus*, Carvalho (2005) investigou os níveis de contaminação do ar para essa bactéria, estabelecendo como paralelo o IMA. Valores de 9,5 UFC.placa⁻¹ em enfermarias de casos e de 4,4 UFC.placa⁻¹ em enfermarias de controles foram observados, sendo, assim, muito abaixo do que o estabelecido

(PASQUARELLA et al., 2000). Os resultados relativos às contagens totais também não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os ambientes de casos e controles, sendo as contagens de bactérias mesófilas totais, em média, 10 vezes mais altas que as observadas para *S. aureus*.

Os amostradores de ar que fazem sucção consistem em imprimir certo volume de ar em ágar ou meio seletivo. Esses amostradores de ar podem ser de um ou múltiplos estágios, ou seja, contém uma ou uma série de placas de metal, com orifícios igualmente dispostos e sucessivamente menores. Essa série de placas permite que as partículas menores sejam coletadas nos estágios finais, devido ao aumento da velocidade do ar (KANG; FRANK, 1980). Com um fluxo constante de 100 L de ar por minuto, o MAS 100 *Air Sampler-Merck* (Figura 1) é um amostrador que tem a capacidade de coletar e recuperar partículas viáveis acima de 1 mm (MERCK®, 2007). Esse equipamento coleta o ar que atravessa uma placa de metal com 400 poros, igualmente distribuídos, à velocidade de $0,45 \text{ m.s}^{-1}$, e o imprime em uma superfície de meio de cultura, por aspiração vertical ou horizontal. É classificado pela 16ª edição de Standard Methods for the Examination of Dairy Products como método classe B, método testado, usado com eficácia em certas situações de pesquisa. O amostrador fornece resultados corretos e precisos, compensando fatores como influência do fluxo de ar, volume de ágar e dimensão da placa (EVANCHO et al., 2001).



Figura 1 – Amostrador de ar por sucção.
Fonte: MERCK, 2007.

Amostradores de ar têm sido utilizados em pesquisas para contagens de microrganismos em ambientes hospitalares (PEREIRA et al., 2005; SEXTON et al., 2006; ANDERSEN et al., 2002). De acordo com Salustiano et al. (2003), a técnica de impressão em ágar permite a recuperação de duas a 10 vezes mais células microbianas do que a técnica de sedimentação simples.

Segundo Tang et al. (2006), doenças causadas por estafilococos, cuja fonte de contaminação é o ar, são raras de ocorrer, contudo vêm sendo demonstradas em pacientes que possuem doenças respiratórias virais associadas. Esses pesquisadores relataram também que se um microrganismo patógeno tem alguma parte do seu ciclo de vida no trato respiratório, é muito provável de estar presente em aerossóis espalhados no ambiente por meio da fala, respiração, tosse e espirros, e, portanto, o ar pode ser uma via de disseminação e aquisição de infecções. Todavia, para outros patógenos humanos que podem multiplicar em muitas superfícies, dentro ou fora do corpo humano, por exemplo *S. aureus*, essa forma de transmissão não está bem esclarecida. Sabe-se que, além da transmissão principal, por meio de contato, existe o indício de que pacientes portadores dessa bactéria no trato respiratório podem disseminá-las por meio de aerossóis de curto alcance (< 1 m). Os microrganismos que causam com maior frequência infecções respiratórias são: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter* (SOUZA; 2005; TEIXEIRA et al., 2004; SILVA et al., 2003). Por exemplo, casos de pneumonia por *Methicillin-Resistant S. aureus* (MRSA) têm como via de transmissão principal a via aérea (CARVALHO, 2005; WEBER; RUTALA, 2003).

Ayliffe et al. (2001) relataram que *S. aureus* pode ser disseminado durante a arrumação de cama, quando presente em células epiteliais em fômites (substâncias inanimadas capazes de transmitir doenças contagiosas), a exemplo de lençóis. Essas partículas, em sua maioria, têm mais de 5 µm de diâmetro (SHIOMORI et al., 2002) e sedimentam sobre as superfícies devido à gravidade (PASQUARELLA et al., 2000). Shiomori et al. (2002) relataram que durante a arrumação de camas há um aumento na contagem de MRSA no ar de 4,7 UFC. m⁻³ para 116 UFC.m⁻³ para cada

paciente infectado internado, e essas contagens continuaram aumentando após 15 min.

As superfícies sujeitas à adesão microbiana podem ser consideradas potenciais fontes de contaminação do ar do ambiente, fornecendo condições adequadas para formação de bioaerossóis (HELDMAN, 1974; BRABES, 2005).

A contaminação de superfícies ocorre por meio do contato com manipuladores e também por meio da deposição de partículas de ar contendo microrganismos, originando uma contaminação cruzada (SILVA, 1996). A técnica do *swab*, ou rinsagem, é recomendada para isolar e quantificar microrganismos em manipuladores, superfícies de equipamentos e utensílios (EVANCHO et al., 2001).

Superfícies que entram em contato com os alimentos apresentam diferentes microtopografias de superfície, podendo apresentar fissuras, ou microfissuras ou fendas com tamanho suficiente para abrigar microrganismos (BOWER et al., 1996; CARELI, 2005). Assim, equipamentos e utensílios mal higienizados têm sido associados a surtos de doenças de origem alimentar ou a alterações de alimentos durante o processamento (SILVA, 1996). Aproximadamente, 16% dos surtos de intoxicações e infecções alimentares são devidos a superfícies de utensílios e equipamentos contaminados (BANWART, 1989). Haeghebaert et al. (2002) mostraram que a contaminação de equipamentos contribuiu com 59% de surtos de doenças de origem alimentar investigadas na França, durante o ano de 2001. Conseqüentemente, é importante melhorar o conhecimento dos fatores envolvidos na transferência de microrganismos de equipamentos para os alimentos, especialmente durante o contato do alimento com a superfície.

O contato direto dos alimentos com os manipuladores é outra fonte de contaminação a ser referida. Aproximadamente, 2,1 milhões de pessoas apresentaram quadros de doenças alimentares em 2000, nos Estados Unidos. Dados revelaram que ocorreram 325.000 hospitalizações e 5.000 mortes no mesmo ano (SMITH et al., 2000).

A preocupação maior é com relação à passagem de microrganismos dos manipuladores para os alimentos, a partir das vias aéreas superiores –

como nariz, garganta e faringe – da pele, das mãos e de lesões, como feridas. Mais importante ainda é a recontaminação dos alimentos já preparados pelos alimentos crus, tendo as mãos como veículo de transferência importante, além de superfícies, utensílios e uniformes. O uso de luvas de borracha, látex ou silicone, é questionável, pois elas não necessariamente ajudam a melhorar as condições bacteriológicas dos alimentos, principalmente pelo fato de que o uso de luvas pode levar os manipuladores a negligenciar a lavagem correta das mãos. Estudos comprovam que a higienização adequada das mãos é mais eficiente do que o uso de luvas (CARMO et al., 2002).

Em hospitais, a principal via de aquisição de MRSA é através das mãos de profissionais de saúde, sendo os principais reservatórios de *S. aureus* nos hospitais os pacientes infectados/colonizados por esse microrganismo (BOYCE, 2004). Segundo Kluitmans et al. (1997), esse patógeno é eliminado no ambiente por meio de “escamas”, que se desprendem da pele ou por aerossóis contaminados (KLUITMANS et al., 1997). Assim, sua transmissão de paciente a paciente pode ocorrer tanto por via aérea quanto por contato direto (mãos) e indireto (SHIOMORI et al., 2002).

A relação entre manipuladores de alimentos e doenças bacterianas de origem alimentar pode ser a responsável pela contaminação dos alimentos, principalmente através de manipuladores doentes, de portadores assintomáticos, de manipuladores que apresentam hábitos de higiene pessoal inadequado, ou, ainda, os que usam métodos higiênicos inadequados, na preparação de alimentos (SMITH et al., 2000).

2.4. Antibióticos e resistência bacteriana

O uso de substâncias antimicrobianas na prática médica teve início antes mesmo da descoberta dos microrganismos. Relatos apontam que Hipócrates (460 - 377 a.C.) realizava a lavagem dos ferimentos com vinho, com a finalidade de evitar infecções. Entretanto, o grande impacto para a comunidade científica na antibioticoterapia foi a descoberta da penicilina, por

Alexander Fleming, em 1929, quando trabalhava com colônias de *Staphylococcus* spp. (FERREIRA, 1997).

Produzidos por bactérias ou fungos filamentosos, os antibióticos são substâncias químicas que possuem atividade bactericida ou bacteriostática sobre microrganismos (PAIVA NETTO, 1989).

O uso adequado de antibióticos não apenas em nível hospitalar, mas também no manejo das infecções mais comuns da comunidade, tem sido objeto de discussões cada vez mais freqüentes, na tentativa de conter os crescentes índices de resistência que vêm sendo observados. Para clínicos e pediatras, a escolha do agente antimicrobiano é um ponto-chave. Nesse momento, a atenção da comunidade médica e do público em geral está dirigida para os altos custos das medicações e para os índices crescentes de resistência aos antibióticos. Portanto, a escolha judiciosa de antibacterianos vem se tornando prioritária (FERREIRA et al., 2006).

O uso indiscriminado desses antimicrobianos provoca o desenvolvimento de resistência bacteriana e, conseqüentemente, o surgimento de infecções por meio de microrganismos multirresistentes. Por esse motivo, cada vez mais se torna necessário o conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias que mais freqüentemente causam infecções e do modo de disseminação dessa resistência.

Resistência é descrita como uma relativa insuscetibilidade do microrganismo para um tratamento em condições particulares (GILBERT; McBAIN, 2003).

A resistência pode ser intrínseca ou extrínseca. Resistência intrínseca é baseada em características inerentes ao microrganismo, como fisiologia e particularidades estruturais da estirpe, por exemplo morfologia e composição da parede celular, sendo pouco provável de ser transmitida para outros microrganismos; assim, não representando risco de disseminação do gene. A resistência adquirida (extrínseca) ocorre devido a mutações ou aquisição de DNA de outras bactérias (WRIGHT, 2005), por meio de mecanismos de transferência de material genético, como: conjugação (transferência de genes por meio da formação de *pilus* após contato direto célula-célula, diferindo dos demais), transformação (aquisição de DNA livre diretamente do meio), transdução (o DNA é transferido por meio de bacteriófagos) e

transposição (transferência de genes de um local do DNA para outro por meio de transposons) (SNYDER; CHAMPNESS, 2003).

Atualmente, sabe-se que iniciar precocemente a antibioticoterapia, antes mesmo de obter respostas do laboratório, em relação à cultura do agente microbiano e provas de sensibilidade, salva a vida de muitos pacientes. Todavia, a situação ideal é conhecer primeiramente qual a suscetibilidade da bactéria antes de empregar drogas de ação antimicrobiana. Em muitas situações, observa-se que infecções respondem a uma droga antimicrobiana escolhida empiricamente, mas, no momento em que se recebe a análise de suscetibilidade, observa-se que no paciente os microrganismos seriam resistentes *in vitro* àquela droga. O contrário também é verdadeiro quando se observa que *in vivo* não há resposta adequada, mas o microrganismo é suscetível ao antibiótico *in vitro*. A explicação para tais fatos é devida a fatores inerentes ao tecido em que há infecção, por exemplo baixo pH, pouca disponibilidade de oxigênio e suprimento sanguíneo deficitário (FERREIRA, 1997).

2.4.1. Classes Principais de Antibióticos

A indicação clínica de determinado antibiótico exige o conhecimento de suas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas, que permitem o seu emprego racional e a obtenção dos resultados desejados. Com o intuito de facilitar essa escolha, os antibióticos são classificados de acordo com a sua estrutura química e efeito sobre o microrganismo, sendo bacteriostático ou bactericida, e segundo seu espectro de ação (PAIVA NETTO, 1989; TAVARES, 2001). Neste último caso, podem atuar inibindo a síntese da parede celular, de proteínas, promovendo alterações na membrana celular e impedindo a duplicação do cromossomo (PAIVA NETTO, 1989).

2.4.1.1. β -Lactâmicos

As β -lactaminas compreendem um grupo de substâncias caracterizadas pela presença do anel central β -lactâmico (Figura 2) de

quatro membros comuns, em que seu principal modo de ação é a inibição da síntese da parede celular (NCCLS, 2003; TAVARES, 2001). Estruturas adicionais em anel ou grupos substitutivos acrescentados ao anel β-lactâmico determinam se o agente é, ou não, penicilina, cefem, carbapenem ou monobactam (NCCLS, 2003).

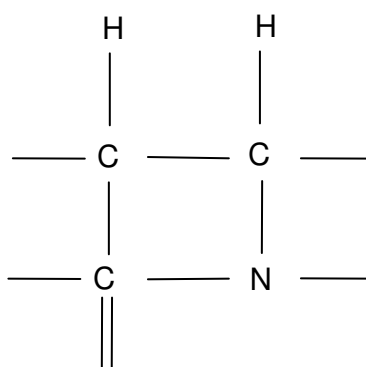


Figura 2 – Anel β-lactâmico.

2.4.1.1.1. Penicilinas

O termo penicilina é a denominação genérica de um amplo grupo de agentes bactericidas que inclui a penicilina G, penicilina V, oxacilina, diicloxacilina, nafcilina, ampicilina, amoxicilina, ticarcilina e piperacilina (REESE et al., 2002).

O mecanismo de ação exato desses compostos não foi completamente elucidado. Entretanto, sabe-se que agem sobre peptídeoglicanos, impedindo o desenvolvimento da sua estrutura normal na parede celular, tornando-a mais frágil e suscetível à lise (CUNHA, 2006). O espectro desses antimicrobianos inclui, principalmente, bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e algumas fastidiosas que não produzem β-lactamase (NCCLS, 2003).

As penicilinas são divididas em dois grupos, as naturais e as semi-sintéticas. As naturais são obtidas por fermentação pelo microrganismo *Penicillium chrysogenum*, como também pelo *Penicillium notatum*. Na prática

clínica são utilizadas a benzil-penicilina (penicilina G) e fenoximetil-penicilina (penicilina V) (TAVARES, 2001). Pelo fato de apresentarem baixo espectro de atividade e sensibilidade às penicilinases (enzimas sintetizadas principalmente por *S. aureus* que adquirem resistência pela transdução de plasmídeo) (TAVARES, 2001), penicilinas semi-sintéticas têm sido desenvolvidas em laboratório pela adição de diferentes radicais à estrutura das penicilinas naturais (CUNHA, 2006). Esses compostos sintéticos são produzidos por meio da modificação da cadeia lateral da estrutura nuclear comum das penicilinas, que inibe a ação da penicilinase (uma betalactamase), impedindo a abertura do anel betalactâmico (REESE et al., 2002). As penicilinas semi-sintéticas podem ser divididas em três grupos: (i) pequeno espectro (feneticilina e propicilina), absorvíveis por via oral, mas são sensíveis à ação de penicilinase; (ii) pequeno espectro e resistentes à ação da penicilinase (metecilina, oxacilina e seus derivados); e (iii) largo espectro, como ampicilina, amoxicilina, epicilina, carpecilina e outras (TAVARES, 2001). Esses últimos agentes bactericidas são utilizados principalmente para tratar *S. aureus* produtores de penicilinases, mas sensíveis a metecilina (REESE et al., 2002).

As principais vantagens das penicilinas e derivados são o baixo custo do tratamento, o alto índice terapêutico e a baixa toxicidade (FERREIRA, 1997).

2.4.1.1.2. Combinações β -lactâmico/Inibidor da β -lactamase

Essas combinações de antimicrobianos incluem a penicilina e um segundo agente que tem atividade antibacteriana mínima, mas funciona como inibidor de algumas β -lactamases. Atualmente, três inibidores da β -lactamase são utilizados: o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam. Os resultados de testes de apenas parte da penicilina da combinação contra organismos produtores de β -lactamase não prediz a sensibilidade à combinação das duas drogas (NCCLS, 2003).

Sultamicilina é um antibiótico desenvolvido especificamente para fazer face a problemas de resistência. É uma pró-droga dupla, cuja combinação de antibióticos é composta por ampicilina, um β -lactâmico e sulbactam, um

inibidor de β -lactamase. O espectro de ação desses compostos compreende cocos e bacilos Gram-positivos, Gram-negativos aeróbicos e alguns anaeróbicos (REESE et al., 2002).

2.4.1.1.3. Cefens (incluindo cefalosporinas)

Os antimicrobianos conhecidos como cefens incluem as cefalosporinas, assim como os agentes nas subclasses cefamicina, oxacefem e carbacefem. Os diferentes agentes antimicrobianos cefens podem apresentar um espectro de atividade ligeiramente diferente contra as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. As diversas cefalosporinas são classificadas como cefalosporinas de primeira, segunda, terceira ou quarta gerações, de acordo com uma seqüência cronológica. Os representantes de um grupo ou geração específico não possuem necessariamente o mesmo espectro de atividade (NCCLS, 2003), conforme indicado na Tabela 1.

Tabela 1 – Espectro de ação de cefalosporinas

Cefalosporina	Espectro de Ação
Primeira geração	- Apresentam boa atividade contra bactérias Gram-positivas e menor contra Gram-negativas. Exceção feita a enterococos e <i>S. aureus</i> meticilina-resistente e <i>S. epidermidis</i> . Exemplos: cefalotina e cefalexina.
Segunda geração	- Possuem atividade maior contra bactérias Gram-negativas, em comparação com a primeira geração de cefalosporina. Exemplos: cefaclor e cefamandol.
Terceira geração	- São menos ativas contra bactérias Gram-positivas, em comparação com a primeira geração. Todavia, possuem maior ação contra Gram-negativas, comparando as duas gerações anteriores. Exemplos: ceftazidima e ceftriaxona.
Quarta geração	- Cefepima é, às vezes, chamada de cefalosporinas de quarta geração, mas podem ser descritas como um “híbrido” de cefotaxima e ceftazidima. Apresentam maior estabilidade diante da hidrólise mediada por beta-lactamases cromossômicas ou daquelas transmitidas por plasmídios. Por isso, maior espectro de ação contra Gram-positivas.

Fonte: Adaptado: PAIVA NETTO, 1989; REESE et al., 2002.

As cefalosporinas continuam sendo antibióticos de ampla utilização popular. São drogas seguras, familiares aos clínicos e, principalmente, ativas contra *S. aureus* produtores de penicilinas, sendo seu uso possível em pacientes com alergias do tipo retardado às penicilinas (REESE et al., 2002).

O mecanismo de ação das cefalosporinas é semelhante ao das penicilinas. Agem interferindo na síntese da parede celular bacteriana, especificamente na fase de transpeptidação (BASSOI, 1975).

Com o advento de novos antibióticos, principalmente com as novas quinolonas, em 1980, e dos novos macrolídeos, claritromicina e azitromicina na década de 1990, o domínio do mercado de antibióticos exercido pelas cefalosporinas reduziu-se (REESE et al., 2002).

2.4.1.1.4. Carbapenêmicos

A estrutura dos carbapenêmicos (imipenem e meropenem) difere ligeiramente da estrutura das penicilinas. Contudo, são muito mais resistentes à hidrólise por β -lactamase, o que lhes dá um amplo espectro de atividade contra muitas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (NCCLS, 2003).

2.4.1.1.5. Monobactanos

Os agentes antimicrobianos monobactanos são β -lactâmicos monocíclicos (NCCLS, 2003). O aztreonam, que possui estreito espectro de ação somente para as bactérias aeróbicas Gram-negativas, incluindo a maioria das enterobactérias (FERREIRA, 1997). É o único monobactâmico aprovado pelo *Food Drugs and Administration United States-FDA* (NCCLS, 2003).

O aztreonam foi o primeiro monobactâmico de utilidade clínica. Ativo contra a maioria dos microrganismos Gram-negativos, sem a nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos (gentamicina ou tobramicina). Contudo, possui pouca ou nenhuma atividade contra Gram-positivos (REESE et al., 2002).

2.4.1.2. Glicopeptídicos

Estes antibióticos constituem a classe dos aminociclitolis, pois em sua estrutura contêm um derivado de ciclitol. Apresentam atividade bactericida, por provocarem alterações ribossomais, de tal modo que a formação das proteínas aconteça de forma anormal, levando a lesões irreversíveis da célula bacteriana (TAVARES, 2001). A atividade deste grupo de agentes antimicrobianos é dirigida às bactérias Gram-positivas (NCCLS, 2003).

Vancomicina é um exemplo de agente antimicrobiano glicopeptídico, isolado do fungo *Amycolatopsis orientalis*. É ativo principalmente contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Clostridium difficile* e *Corynebacterium* spp., mas não possui atividade contra bactérias Gram-negativas e micobactérias. A consolidação da vancomicina como um poderoso antibiótico contra bactérias Gram-positivas multirresistentes trouxe um período de certa tranquilidade na interminável guerra contra microrganismos patogênicos. Entretanto, essa situação é rompida com o aparecimento das primeiras estirpes de enterococos resistentes à vancomicina, conhecidos por *Vancomycin-Resistant Enterococci* (VRE) e mais recentemente com a transmissão de genes responsáveis pela resistência à vancomicina presentes nos VRE para *S. aureus* MRSA, confirmado em três casos isolados (CDC, 2004; CDC, 2002b; CDC, 2002a), sendo conhecidos como *Vancomycin-Resistant S. aureus* (VRSA) (SILVEIRA et al., 2006).

2.4.1.3. Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são usados, principalmente, para tratar infecções por bastonetes Gram-negativos aeróbios ou em combinações sinérgicas com agentes antimicrobianos ativos na parede celular (penicilina, amicacina, ampicilina e vancomicina) contra algumas bactérias Gram-positivas resistentes, como os enterococos (NCCLS, 2003). Inibem a síntese protéica de bactérias em nível de ribossoma, por se ligarem irreversivelmente à porção 30S. São muito úteis devido ao custo, ao raro desenvolvimento de resistência bacteriana, ao pequeno risco de reações

alérgicas e por haver conhecimento a respeito de sua toxicidade (REESE et al., 2002).

2.4.1.4. Macrolídios

Os macrolídios são agentes antimicrobianos estruturalmente afins que inibem a síntese protéica em nível ribossômico, por se ligarem irreversivelmente às subunidades 50S. A eritromicina e os seus derivados semi-sintéticos claritromicina e azitromicina são os macrolídios mais utilizados nos EUA, e suas modificações estruturais têm como objetivo melhorar a penetração tissular e ampliar o espectro de atividade. São geralmente bacteriostáticos, contudo podem ser bactericidas sob determinadas condições ou contra certos microrganismos. Apresentam atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (REESE et al., 2002). Claritromicina e Azitromicina também são outros exemplos de antibióticos desta classe.

2.4.1.5. Tetraciclina

Descobertas há mais de 50 anos, as tetraciclina continuam uma das classes de antibióticos mais prescritas no mundo (REESE et al., 2002). São bacteriostáticas pelo fato de inibirem a síntese protéica, em nível ribossômico, de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (NCCLS, 2003). A doxiciclina é a tetraciclina mais utilizada devido às suas propriedades farmacocinéticas superiores, menor toxicidade, tolerância aumentada e custo razoável (REESE et al., 2002).

2.4.1.6. Quinolonas

Este grupo inclui compostos estreitamente relacionados, cujo principal modo de ação é a inibição da atividade da DNA-girase de muitas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (REESE et al., 2002). Uma vez que existem algumas diferenças no espectro de atividade, pode ser necessário testar individualmente os agentes (NCCLS, 2003). São divididos em quatro gerações, e as duas últimas apresentam maior atividade contra Gram-

positivos aeróbios, bem como contra Gram-negativos e microrganismos responsáveis por pneumonias atípicas. Dentre um dos representantes deste grupo, encontra-se um antibiótico de segunda geração, o ciprofloxacina, cuja atividade é muito eficaz contra *Pseudomonas* spp. (REESE et al., 2002).

2.4.1.7. Inibidores da Via Metabólica do Folato

Este grupo de compostos abrange vários agentes quimioterápicos (sulfonamidas e trimetoprima-sulfametoxazol) com espectros de atividade similares resultantes da inibição da via metabólica bacteriana dos folatos, interferindo na replicação celular (NCCLS, 2003).

As sulfonamidas foram as primeiras drogas antibacterianas sistêmicas eficazes usadas no homem. Mas uma sulfonamida não é a droga de primeira escolha para qualquer patógeno bacteriano. São geralmente usadas na forma oral, proporcionando níveis sanguíneos bacteriostáticos (REESE et al., 2002). O sulfisoxazole está entre as sulfonamidas mais freqüentemente empregadas nas infecções do trato urinário (NCCLS, 2003).

Em geral, o sulfametoxazol é testado em combinação com a trimetoprima, em que ocorre inibição seqüencial de dois passos na via metabólica dos folatos em algumas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Figura 5). Essa combinação apresenta vantagens pelo fato de diminuir as chances de resistência bacteriana e atuar de forma sinérgica (REESE et al., 2002).

2.4.1.8. Classes de Drogas Únicas

Esta classe de agentes antimicrobianos incluem cloranfenicol, clindamicina, linezolid e quinupristin-dalfopristin, que inibem a síntese protéica, assim como rifampina, que inibe a síntese de proteína por impedir a ação da RNA polimerase ao ligar-se à enzima em microrganismos sensíveis. A nitrofurantoína, usada apenas no tratamento de infecções do trato urinário, age inibindo a síntese de várias proteínas e em nível ribossômico. A fosfomicina, também aprovada pelo FDA para infecções no trato urinário, inibe as enzimas envolvidas na síntese da parede celular (NCCLS, 2003).

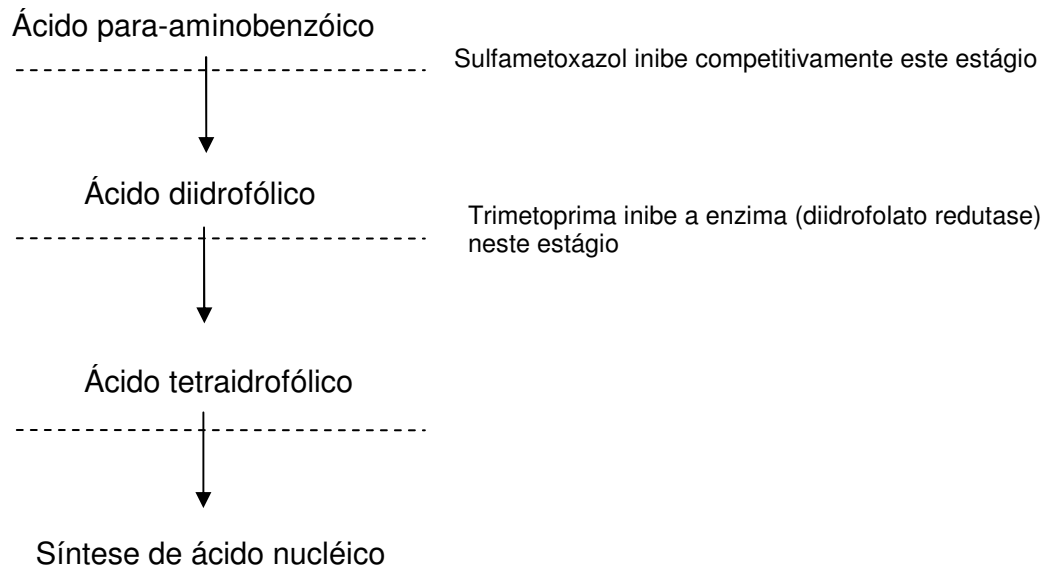


Figura 5 – Mecanismo de ação da trimetoprima-sulfametoxazol.
 Fonte: REESE et al., 2002.

2.4.2. O controle de infecções estafilocócicas por antibióticos

Vários fatores relativos a cada elemento da tríade ecológica fundamental (hospedeiro-agente-ambiente) contribuem para a prevalência e o difícil controle da infecção nosocomial. Em relação ao hospedeiro, verifica-se a existência cada vez maior do número de doentes com defesas diminuídas, seja devido à idade avançada, seja devido às múltiplas doenças subjacentes ou terapêuticas depressoras do sistema imune. Como fator contribuinte, salienta-se o uso crescente de procedimentos invasivos, como cateteres venosos, centrais e arteriais, diálise, ventilação mecânica e intervenções cirúrgicas em doentes (MUNDIN et al., 2003). Problemas associados com o desenvolvimento e dispersão de resistência a antibióticos têm aumentado desde a década de 1960 e, freqüentemente, é visto como uma principal ameaça em hospitais (GILBERT; McBAIN, 2003).

S. aureus é um microrganismo presente na história da infecção nosocomial e desenvolveu rapidamente resistência aos antibióticos. Nos anos de 1940, logo depois do surgimento das penicilinas, já apareceram estafilococos capazes de produzir penicilinase (FILE, 2000). Essas são

enzimas codificadas geneticamente em plasmídios que clivam o anel β -lactâmico dos antibióticos, tornando-os inativos. O fenótipo mais freqüente nos estafilococos inclui resistência à penicilina e à ampicilina e seus derivados. No entanto, β -lactamase é inibida por drogas antimicrobianas, como o ácido clavulânico, tazobactan e sulbactan. Atualmente, a grande maioria dos estafilococos isolados, seja coagulase positivo ou coagulase negativo, é resistente à penicilina G, como também à penicilina V, ampicilina, amoxicilina e carbenicilina. Essa resistência é elevada em mais de 90,0% (KEIM, 2005).

No final da década de 1950, bactérias do gênero *Staphylococcus* adquiriram resistência a vários antibióticos disponíveis, como a eritromicina, estreptomicina e tetraciclina. Com o intuito de combater as infecções estafilocócicas, surgiram as penicilinas semi-sintéticas antiestafilocócicas: a oxacilina em 1959 e a meticilina em 1960, as quais não são inativadas pelas beta-lactamases estafilocócicas (TAVARES, 2001). Na década de 1960, *S. aureus* tornaram-se rapidamente resistentes à meticilina (MRSA) e à oxacilina (ORSA) (FILE, 2000), devido ao fato de esses microrganismos sintetizarem uma nova proteína que se liga à penicilina (PBP-*Penicillin-Binding Protein*), a PBP2a ou PBP2', diminuindo a sensibilidade da bactéria à maioria dos antibióticos β -lactâmicos. A PBP2a é codificada pelo gene *mecA*, o qual confere resistência à meticilina ou a outras penicilinas semi-sintéticas como a oxacilina (TAVARES, 2001).

Hoje, *S. aureus* metilicina ou oxacilina resistentes são um dos principais causadores de infecções hospitalares, tornando-se um problema mundial. Septicemias por MRSA estão associadas com significantes morbidades e mortalidades, requerendo métodos rápidos de identificação e sensibilidade aos antibióticos. Atualmente, cerca de 80% das infecções estafilocócicas vêm sendo tratadas com glicopeptídeos como a vancomicina e a teicoplanina. Hoje, esta é, ainda, a classe antimicrobiana de escolha para o tratamento de infecções causadas por MRSA, embora estirpes com reduzida sensibilidade à vancomicina já tenham sido isoladas (BERNARDES et al., 2004).

Unidades de Terapia Intensiva (UTI) têm sido identificadas como locais de maior aquisição de infecção nosocomial, cujos agentes causadores

destas são resistentes a múltiplos agentes antimicrobianos, principalmente MRSA. Pacientes colonizados com MRSA em UTI apresentam grandes riscos de contraírem infecção causada por esse microrganismo, além de se tornarem reservatórios, transmitindo-o a outros pacientes pelo hospital. Estudos propõem estratégias para reduzir a aquisição de MRSA em UTI, mas poucos resultados foram alcançados. Dentre eles, um é o isolamento de pacientes até a confirmação laboratorial de sua colonização com MRSA. Entretanto, métodos laboratoriais convencionais de identificação dessa bactéria são lentos, e procedimentos de controle da infecção são ineficazes, por exemplo a higienização das mãos (GOULD et al., 2007).

A utilização da vancomicina aumentou nos últimos 20 anos, mas a sua resistência entre estafilococos foi demonstrada, em laboratório, mesmo antes de ser introduzida na clínica. Ela somente foi relatada entre os estafilococos coagulase negativo após quase 20 anos de uso, sendo observada pela primeira vez, em laboratório, em 1979, e somente em 1987 foi feito o primeiro relato de um isolado clinicamente significativo (KEIM, 2005).

Com a emergência de estirpes de *S. aureus* e ECN resistentes aos glicopeptídeos, novas classes de drogas, como as oxazolidinonas, os lipopeptídeos e as estreptograminas, surgiram como opção terapêutica para o tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas, incluindo as estirpes multidrogas resistentes (TAVARES, 2001; QUETGLAS et al., 2003).

A linezolida foi a primeira droga da classe das oxazolidinonas a ser utilizada em clínica, com efeito, fundamentalmente, bacteriostático. O mecanismo de ação principal dessa droga consiste em impedir a síntese protéica, inibindo a formação do complexo de iniciação entre tRNA, mRNA e ribossomo. No entanto, relatos têm sido feitos sobre a resistência de *Staphylococcus aureus* a essa droga logo após a sua introdução na terapêutica, porém ainda não foram detectadas cepas de estafilococos coagulase negativo resistentes (BALLOW et al., 2002).

A daptomicina é uma nova classe de drogas antimicrobianas, com ação em bactérias Gram-positivas, cujo mecanismo ainda não está totalmente esclarecido. Esse antimicrobiano tem espectro de ação semelhante ao da vancomicina, sendo mais potente que esta em relação ao

estafilococo coagulase negativo. É uma droga de atividade tipicamente bactericida contra estafilococos (ELIOPOULOS, 2004).

Com o intuito de reduzir infecções causadas pela implantação de cateteres, esses dispositivos impregnados com antimicrobianos, por exemplo, minociclina e rifampicina, são disponíveis comercialmente. A utilização desses dispositivos é capaz de reduzir infecções de 5% para 0%. Assim, de cada 850 cateteres usados, aproximadamente 500.000 dólares podem ser economizados. Resistência a essas duas drogas, quando impregnadas nesses dispositivos, ainda não foram demonstradas em estudos clínicos. Entretanto, quando esses cateteres foram implantados em animais por 7 a 14 dias, em laboratório, e então removidos e em seguida inoculados com *S. aureus*, verificou-se crescimento microbiano na zona de inibição. Esse crescimento pode representar subpopulações de *S. aureus* com reduzida sensibilidade à minociclina e rifampicina. Esse tipo de cateter é associado com menor índice de infecção, quando comparado com dispositivos impregnados com clorexidina-prata-sulfadiazina (MERMEL, 2001).

É difícil prevenir e controlar as infecções que se desenvolvem em pacientes hospitalizados por muito tempo e que são tratados com antibióticos de amplo espectro. A implementação de práticas apropriadas de controle das infecções pode reduzir o risco de colonização por bactérias multirresistentes. Isso inclui vigilância contínua e aperfeiçoada, redução no uso desnecessário de antibióticos e aplicação de novas estratégias profiláticas em pacientes portadores de *Staphylococcus* spp. para prevenção de infecções estafilocócicas mais graves por estirpes multirresistentes (BERNARDES et al., 2004).

2.5. Biofilme

Biofilmes são compostos por microcolônias de organismos, incluindo bactérias, fungos e protozoários (KEEVIL, 1989), cujas células se encontram imobilizadas em um substrato e, freqüentemente, embebidas em uma matriz polimérica orgânica por eles sintetizada (Figura 6). É uma acumulação na superfície que não é necessariamente uniforme durante um período de tempo e espaço (CHARACKLIS; MARSHALL, 1990).

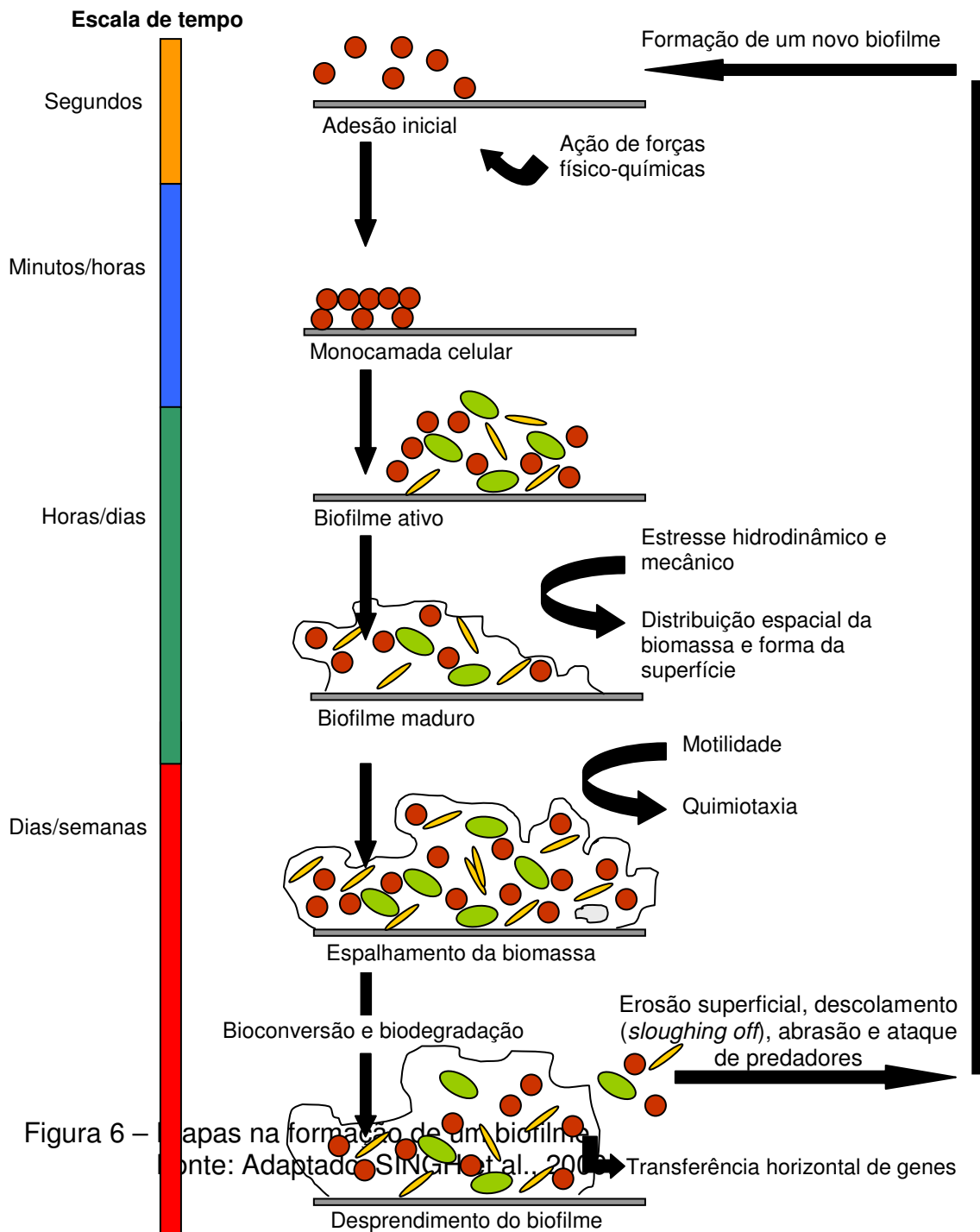


Figura 6 – Etapas na formação de um biofilme.

Fonte: Adaptado de SINGH et al., 2002.

Além de representar um sistema biológico com alto nível de organização, em que bactérias formam comunidades funcionais, estruturadas e coordenadas (DAVEY; O'TOOLE, 2000), organismos em um biofilme criam microambientes que podem fornecer proteção contra condições ambientais adversas (KEEVIL, 1989).

Outra definição refere-se que um biofilme é caracterizado por células que originam comunidades sésseis, aderidas irreversivelmente a um substrato, embebidas a uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares sintetizadas por si mesmas. Apresenta um fenótipo modificado com relação à taxa de crescimento, transcrição de genes (DONLAN; COSTERTON, 2002) e capacidade de resistir a tratamentos antimicrobianos e, portanto, um problema de saúde pública (DONLAN, 2001). Biofilmes, em geral, são formados em superfícies inertes e em tecidos mortos, portanto comprometendo a saúde de pacientes imunodeprimidos com implantes médicos (DAUTLE et al., 2003).

Vários mecanismos para adesão bacteriana em diferentes superfícies de contato têm sido propostos (ZOTTOLA, 1994; ZOTTOLA, 1997). Segundo a teoria descrita por Marshall et al. (1971), a adesão em superfícies sólidas é um processo que acontece em duas etapas. A primeira é reversível, pois o microrganismo está fracamente aderido à superfície através de forças de Van der Waals e atrações eletrostáticas, propiciando fácil remoção da célula bacteriana, de tal modo que esta, após estar fixa à superfície, continua a exibir movimentos brownianos, podendo ser removida por ação de forças de cisalhamento, ou pelo seu movimento ativo. Entretanto, a segunda é irreversível, uma vez que o tempo de aderência envolve adesão física da célula à superfície e deixa de poder ser facilmente removido desta, deixando de exibir movimentos brownianos. Essa adesão é realizada por meio de material extracelular, de natureza polissacarídica ou protéica, produzido pelo microrganismo, o que se denomina matriz de glicocálix. O glicocálix auxilia a formação do biofilme, sendo sintetizado somente após a adesão superficial, fornecendo condições para adesão do peptídeoglicano das bactérias Gram-positivas e a parte externa da membrana externa das Gram-negativas de natureza, principalmente, lipoprotéica.

O biofilme formado torna-se diferenciado em relação às condições de crescimento, como nutrientes e oxigênio e com multicamadas, sendo mais resistente à resposta imune do hospedeiro (GOLDMANN; PIER, 1993; RESCH et al., 2004), como à fagocitose (HARRIS; RICHARDS, 2006).

2.5.1. Aspectos físico-químicos na formação de biofilmes

A adesão bacteriana depende das propriedades físico-químicas do material do substrato e da superfície da célula. A possibilidade de formar ligações específicas entre a bactéria e a superfície depende da composição química dessa e da composição da camada mais externa da célula (VALCARCE et al., 2002). Além disso, são importantes o tipo, a forma iônica e o tamanho da partícula do material. No que diz respeito ao meio, fatores como pH, concentração de sais orgânicos, compostos orgânicos, agitação, duração e temperatura de contato são importantes nesse processo (TROLLER, 1993).

Em superfícies, a adesão microbiana é uma condição indispensável na formação de biofilmes. Inicia-se com interações de longo alcance, fracas, não-específicas entre células e superfície. Essas ligações são instáveis, podendo as bactérias ser removidas por meio de um fluido (CHEN; ZHU, 2005). Se a aproximação da bactéria com a superfície é desfavorável, as células necessitam ultrapassar uma energia de barreira para estabelecer contato direto com a superfície. Somente quando a bactéria está muito próxima à superfície, pequenas forças irão prevalecer (RAZATOS et al., 1998).

Uma vez que as células se encontram muito próximas da superfície, podem formar interações de curto alcance e específicas, estando, assim, aderidas à superfície irreversivelmente (CHEN; ZHU, 2005). Esse processo é, principalmente, governado por propriedades físico-químicas dos microrganismos, como também das superfícies (OLIVEIRA et al., 2003). Estirpes bacterianas com diversas propriedades de superfície celular apontam diferentes cinéticas de adesão e afinidades por substratos (CHEN; ZHU, 2005; BAKKER et al., 2002). Propriedades físico-químicas de superfícies de bactérias podem ser quimicamente modificadas para estimular ou impedir a adesão (WHITEKETTLE, 1991; VAN DER MEI et al., 2001; CHEN; ZHU, 2005).

Estudos têm sido dedicados a processos de colonização de superfícies e à fisiologia de biofilmes (O'TOOLE et al., 2000; SAUER et al., 2002; LEJEUNE, 2003; CARELI, 2005). O objetivo de se controlar o

desenvolvimento de biofilmes é comum em várias áreas de pesquisa como a biotecnologia, a saúde pública e a formação desta complexa comunidade microbiana em superfícies que entram em contato com os alimentos durante o processamento (XAVIER et al., 2005).

2.5.1.1. Aspectos termodinâmicos

Diferentes abordagens têm sido utilizadas para descrever e, simultaneamente, prever a adesão bacteriana em superfícies (OLIVEIRA et al., 2003). Em geral, a adesão pode ser ilustrada pela teoria DLVO, cujas iniciais correspondem aos pesquisadores que inicialmente a descreveram: Derjaguin e Landau em 1941 e Verwey e Overbeek em 1948, pela Teoria Termodinâmica da Adesão; e DLVO Estendida, complementada por Van Oss et al. em 1994 (SHARMA; HANUMANTHA RAO, 2003).

Segundo a Teoria Termodinâmica da Adesão, a energia livre de superfície interfacial de interação microrganismo e superfície é comparada antes e depois da adesão. A comparação é expressa em termos de energia livre de adesão (equação 1):

$$\Delta G^{TOT} = \gamma_{sb} - \gamma_{sl} - \gamma_{bl} \quad (\text{Equação 1})$$

em que ΔG^{TOT} é a energia livre de Gibbs, γ_{sb} a tensão superficial entre superfície e bactéria, γ_{sl} a tensão superficial entre superfície e líquido e, por fim, γ_{bl} a tensão superficial entre bactéria e líquido (VAN OSS, 1991).

A adesão de um microrganismo a uma superfície sólida em solução aquosa só se estabelece se o filme de água que reveste as duas superfícies for removido. Portanto, a interface bactéria/líquido (bl) e a interface superfície de adesão/líquido (sl) terão que ser substituídas pela interface bactéria/superfície de adesão (sb) (CHAVES, 2004).

Como todo sistema na natureza, a interação microrganismo e superfície também irá proceder em direção à diminuição de energia livre. Isso significa que a adesão do microrganismo ocorrerá se ΔG^{TOT} for negativa e será termodinamicamente desfavorável se for positiva. O cálculo das tensões superficiais γ_{sl} e γ_{bl} é possível através da medida do ângulo de

contato (θ) entre superfície ou bactéria com líquidos-padrão com energia livre conhecida (SHARMA; HANUMANTHA RAO, 2003).

A clássica teoria DLVO parte da definição de que os microrganismos seriam partículas quimicamente inertes (VAN OSS et al., 1987; VAN OSS et al., 1988), ou seja, seriam como colóides liofóbicos. Uma vez que a maioria das bactérias não excede os 2,0 μm de comprimento, a sua densidade é pouco superior à da água e possui carga global negativa, podendo ser considerada, nesse caso, como partículas coloidais vivas (MARSHALL, 1976). Todavia, não houve consideração dos aspectos microbiológicos da adesão. Essa teoria afirma que a energia potencial total de interação entre dois corpos é resultante da ação combinada entre as forças atrativas de Lifshitz-Van der Waals e as forças de dupla camada elétrica, que geralmente são repulsivas, uma vez que a maioria das superfícies adquire carga negativa em solução (equação 2).

$$\Delta G^{TOT} = \Delta G^{EL} + \Delta G^{LW} \quad (\text{Equação 2})$$

em que ΔG^{EL} é a energia livre das forças da dupla camada elétrica e ΔG^{LW} , a energia livre das forças da Lifshitz-Van der Waals (VAN OSS et al., 1990).

No caso dos sistemas biológicos, a carga superficial é resultante da adsorção de íons ou de ionização dos grupos superficiais. Esse fenômeno é geralmente dependente das propriedades da solução aquosa, principalmente o seu pH. A superfície de um sólido carregada eletricamente, juntamente com os íons existentes no líquido em contato com o sólido, forma uma camada difusa, conhecida como dupla camada elétrica, resultante do mecanismo de atração e repulsão de íons e do efeito oposto dos movimentos brownianos (CHAVES, 2004).

A teoria DLVO considera apenas as forças de longo alcance. No entanto, quando uma partícula ou microrganismo está muito próximo (2 - 5 nm) de uma superfície, forças de curto alcance passam a regular o processo. Tais forças, denominadas não-DLVO (ELIMELECH, 1995), são representadas pelas forças de repulsão de Born, forças de hidratação, interações hidrofóbicas e pontes poliméricas.

A contribuição das interações consideradas pela teoria DLVO resulta em um perfil de energia potencial que é muito dependente da força iônica do

meio (Figura 7). Assim, se a força iônica do meio é baixa, o perfil de energia potencial de interação entre os dois corpos de sinal igual apresenta um máximo de energia, que representa uma barreira para a aproximação dos corpos, e um mínimo de energia, designado mínimo primário, que se localiza a uma distância inferior a 2 nm da superfície. Quando se aumenta a força iônica do meio, a barreira de energia diminui, devido à diminuição da energia da dupla camada elétrica. Assim, para valores intermédios da força iônica do meio, o máximo de energia diminui, e cria-se um mínimo secundário. Este, quando os microrganismos interagentes são bactérias, situa-se a 5 nm – 20 nm da superfície e pode ser tanto mais profundo quanto maiores forem as forças atrativas de Van der Waals. Uma vez ultrapassado o máximo de energia e atingido o mínimo primário, a ligação entre os dois corpos interagentes torna-se irreversível. Para valores elevados da força iônica do meio, a energia potencial de interação é sempre negativa, e nesse caso todas as partículas podem atingir o mínimo primário. A existência de dois mínimos de energia permite distinguir entre a adesão reversível, quando ocorre no mínimo secundário, e irreversível, quando ocorre no mínimo primário (CHAVES, 2004).

A intensidade das forças de Lifshitz-Van der Waals é diretamente proporcional ao tamanho das partículas que se interagem e na razão inversa da distância à superfície. As forças de dupla-camada elétrica estão relacionadas à carga elétrica superficial e aos movimentos brownianos. A superfície de um sólido eletricamente carregado em contato com uma solução aquosa atrai íons de sinal contrário do meio e simultaneamente repele os de sinais iguais. Uma vez que a maioria das superfícies adquire carga negativa em solução, as forças da dupla camada elétrica apresentam, geralmente, um caráter repulsivo (OLIVEIRA, 2006). Dessa maneira, a adesão somente será irreversível quando a energia livre de Gibbs total for negativa ($\Delta G^{\text{TOT}} < 0$), e a distância entre a superfície e o microrganismo for mínima tanto quanto possível (Figura 7).

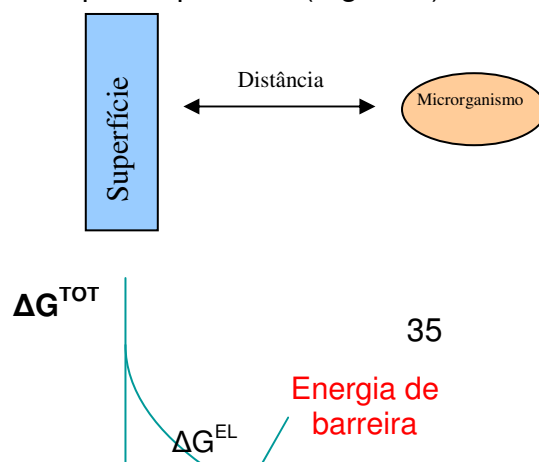


Figura 7 – Gráfico ilustrativo do processo de adesão: (ΔG^{LW}) energia livre de Lifshitz-Van der Waals, (ΔG^{AB}) energia livre ácido-base de Lewis, (ΔG^{EL}) energia livre de dupla camada elétrica e ΔG^{TOT} energia livre total em função da distância (nm).
Fonte: AZEREDO, 2006.

A teoria DLVO só prevê se a adesão ocorre no mínimo primário, mas não permite quantificar a energia potencial dessa interação. Quando uma partícula atinge o mínimo primário, um conjunto de forças de curto alcance passa a dominar a interação e a determinar as forças de adesão (CHAVES, 2004).

Van Oss e uma equipe de pesquisadores, em 1994, integraram os aspectos termodinâmicos da adesão à teoria DLVO. Essa teoria ficou conhecida como XDLVO ou DLVO Estendida e considerou as forças de curto alcance, principalmente as interações hidrofóbicas. A energia livre das interações totais numa superfície (ΔG^{TOT}) é resultante do somatório das energias livres das interações de Lifshitz-Van der Waals (ΔG^{LW}), interações ácido-base de Lewis (ΔG^{AB}), forças eletrostáticas de dupla camada elétrica (ΔG^{EL}) e interações resultantes dos movimentos brownianos (ΔG^{BR}), conforme a equação 3 (VAN OSS, 1994):

$$\Delta G^{TOT} = \Delta G^{LW} + \Delta G^{AB} + \Delta G^{EL} + \Delta G^{BR} \quad (\text{Equação 3})$$

O contato direto entre a bactéria e a superfície pode ser estabelecido em nível molecular, por meio de substâncias poliméricas extracelulares, sintetizadas pelas bactérias. Esses compostos não estão sujeitos ao mesmo tipo de repulsão que as bactérias, portanto podem facilitar a adesão entre a bactéria e a superfície por várias combinações de ligações químicas (eletrostáticas, co-valentes e de hidrogênio) e interações dipolo (dipolo-dipolo, dipolo-induzido dipolo e íon-dipolo), além de interações hidrofóbicas. Conseqüentemente, a bactéria pode vir a ter diferentes tipos de adesividade (MARSHALL, 1992).

Van Oss e Giese (1995) desenvolveram uma metodologia de cálculo que permite quantificar a hidrofobicidade da superfície do material através das componentes da tensão superficial. Segundo esses autores, a hidrofobicidade é expressa em termos da energia hidrofóbica de atração e define o grau de interação entre as moléculas de um material imerso em água.

O ângulo de contato formado por uma gota de um líquido sobre uma superfície sólida (Figura 8) é o ângulo entre um plano tangente a uma gota e a superfície onde o líquido se encontra depositado. Esse ângulo permite avaliar a molhabilidade dessa superfície. Se o líquido for a água, o ângulo formado será relacionado à hidrofobicidade da superfície. Ângulos inferiores a 50° indicam superfície hidrofílica e ângulos superiores a 50° , superfície hidrofóbica (VAN OSS; GIESE, 1995; ADAMSON, 1982). Contudo, para Vogler (1998), uma superfície hidrofóbica deve apresentar ângulo de contato com a água superior a 65° .

A hidrofobicidade microbiana é definida pela energia de atração entre células apolares ou levemente polares, imersas em fase aquosa (VAN OSS; GIESE, 1995; CERCA et al., 2005). Pode ser medida por vários métodos, contudo a técnica que melhor determina a hidrofobicidade é a do ângulo de contato (DOYLE, 2000).

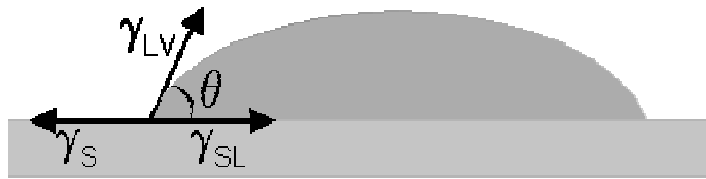


Figura 8 – Ângulo de contato (θ) entre uma gota líquida e uma superfície plana e horizontal e tensões superficiais da superfície do sólido γ_s , do líquido em equilíbrio com o vapor γ_{LV} e superfície/líquido γ_{SL} .
Fonte: VAN LOOSDRECHT et al., 1987.

A equação de Young-Good-Girifalco-Fowkes relaciona o ângulo de contato formado pelo líquido sobre uma superfície sólida com os componentes da tensão superficial do líquido e da superfície, representada pela equação 4. Para a realização das medidas, devem-se utilizar um líquido apolar e dois polares.

$$(1 + \cos \theta) \gamma_l^{TOT} = 2(\sqrt{\gamma_s^{LW} \gamma_l^{LW}} + \sqrt{\gamma_s^+ \gamma_l^-} + \sqrt{\gamma_s^- \gamma_l^+}) \quad (\text{Equação 4})$$

em que γ_l^{TOT} é a tensão superficial total do líquido; γ_l^{LW} e γ_s^{LW} são as tensões superficiais das forças de interação ácido-base de Lewis; γ_l^+ e γ_s^+ são as componentesceptoras de elétrons do componente ácido-base da tensão superficial; e γ_l^- e γ_s^- são as componentes doadoras de elétrons do componente ácido-base da tensão superficial, considerando-se que são as tensões para os líquidos (l) e para a superfície (s) analisados. Para líquidos apolares, a componente polar da tensão superficial é nula, e, portanto, a equação 4 reduz-se à equação 5:

$$\gamma_s^{LW} = \frac{\gamma_l^{TOT}}{4} (1 + \cos \theta)^2 \quad (\text{Equação 5})$$

As equações permitem determinar os componentes da tensão superficial de líquidos a 25 °C. Na Tabela 2 são mostrados os componentes da tensão de superficial de líquidos (VAN DER MEI et al., 1997).

Tabela 2 – Componentes da tensão superficial de líquidos a 25 °C

Líquido	Tensão Superficial (mJ.m ⁻²)			
	γ_l^{Tot}	γ_l^{LW}	γ_l^+	γ_l^-
Di-iodometano	50,8	50,8	0,0	0,0
α -Bromonaftaleno	44,4	44,4	0,0	0,0
Água	72,8	21,8	25,5	25,5
Glicerol	64,0	34,0	3,92	57,4
Formamida	58,0	39,0	2,28	39,6
Decano	23,8	23,8	0,0	0,0

Fonte: VAN DER MEI et al., 1997.

As teorias apresentadas anteriormente não levam em conta os aspectos microbiológicos da adesão. Consideraram-se apenas os aspectos físico-químicos e termodinâmicos da adesão, não se levando em conta o fato de os microrganismos serem entidades vivas e as suas características microbiológicas poderem condicionar a adesão (CHAVES, 2004).

2.5.2. Outros fatores que influenciam a formação de um biofilme

Segundo alguns autores (CHARACKLIS, 1990; BOTT, 1993; VIEIRA, 1993), o desenvolvimento de um biofilme pode também ser condicionado por diversos fatores, entre os quais se destacam: o pH, a temperatura, a força iônica do meio, a velocidade de escoamento, a concentração de nutrientes do meio líquido, as características dos microrganismos presentes no meio líquido, o tipo de material e a rugosidade da superfície sólida e a presença de micronutrientes e agentes antimicrobianos.

A microtopografia da superfície pode aumentar ou diminuir a associação da bactéria à superfície. Superfícies que entram em contato com alimentos, como o vidro, o aço inoxidável, o polietileno e a borracha, apresentam diferentes microtopografias de superfície e podem conter fissuras e fendas com tamanho suficiente para alojar bactérias (BOWER et al., 1996). O aumento dos níveis de adesão associados à rugosidade da superfície atribui-se à proteção das células no interior das irregularidades da superfície das forças de cisalhamento, permitindo que a adesão irreversível

seja estabelecida mais facilmente, sendo, por isso, locais preferenciais para a colonização inicial. Além disso, as irregularidades da superfície contribuem para aumento na área superficial disponível para a adesão (QUIRYNEN et al., 1994).

Segundo Donlan e Costerton (2002), engenheiros acreditam que o fluxo turbulento aumenta a adesão bacteriana e a formação de biofilme, por meio da colisão de células planctônicas na superfície. Quando a velocidade do fluido é baixa, a resistência à transferência de massa (nutrientes, oxigênio e outros compostos) do meio líquido para os microrganismos embebidos no biofilme é mais elevada, sendo, desse modo, o crescimento do biofilme prejudicado. Quando a velocidade do fluido é elevada (elevados números de Reynolds), obtém-se, conseqüentemente, elevada turbulência do líquido. Portanto, isso implica dois aspectos de caráter opostos: um aumento na transferência de massa do líquido para o biofilme, o que poderá originar um aumento na taxa de desenvolvimento de biofilme; ou o aumento da velocidade aumenta também as forças de tensão de corte que poderão causar maior erosão e desprendimento de porções de biofilme; e, por conseqüência, diminuição na quantidade de biomassa fixada ao suporte sólido. No entanto, a redução em biomassa origina biofilmes menos espessos, o que poderá beneficiar o transporte de nutrientes no interior do biofilme (PEREIRA, 2001).

A relativa facilidade com que os biofilmes se desenvolvem é devida, em parte, ao fato de que grande variedade das espécies de microrganismos que os compõem requer quantidades mínimas de nutrientes para que ocorra o seu crescimento. Quanto maior a quantidade de nutrientes disponíveis sob a forma de carbono orgânico facilmente assimilável, maior o crescimento microbiano e maior também a diversidade de organismos que podem ser mantidos (CHAVES, 2004).

Estruturas extracelulares, como lipopolissacarídeos, flagelos e proteínas de membrana, podem influenciar a adesão de bactérias à superfície (CAMMAROTA; SANT'ANNA, 1998; GÓMEZ-SUÁREZ et al., 2002), a forma, a espécie bacteriana, a idade da cultura e a concentração do microrganismo, podendo também afetar esse processo. Bactérias Gram-

negativas, por exemplo, aderem mais facilmente (MOSTELLER; BISHOP, 1993).

2.5.3. Biofilme estafilocócico em dispositivos implantados

O uso de dispositivos médicos tem aumentado nas últimas décadas. De fato, prevê-se que cada pessoa em uma sociedade tecnologicamente avançada irá ter um implante pelo menos uma vez na vida. Isso varia de um simples cateter para bombeamento de sangue a dispositivos como corações artificiais. A utilização desses dispositivos tem resultado em melhora na qualidade de vida e no tempo de sobrevivência de pacientes, entretanto emerge como um problema principal, uma vez que há infecções relacionadas ao seu uso (HUME et al., 2004).

A presença de biofilme sob dispositivos médicos implantados já foi descrita em lentes de contato, cateteres venosos centrais, tubos endotraqueais, dispositivos intra-uterinos, válvulas cardíacas mecânicas, marcapassos, cateteres de diálise peritoneal, próteses articulares, tubos de timpanostomia, cateteres urinários e de derivação ventrículo-peritoneal (DOLAN, 2001).

Bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos têm sido observados como formadores de biofilme sob dispositivos médicos implantados. Dentre essas bactérias comumente isoladas desses dispositivos incluem: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus auricularis* e *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus viridans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (KEIM, 2005).

A contaminação do biomaterial pode ocorrer durante a sua implantação cirúrgica, a partir de bactérias presentes na pele ou em mucosas de paciente ou, ainda, a partir das mãos da equipe cirúrgica ou clínica durante os procedimentos de manutenção desses dispositivos (VON EIFF et al., 2002).

Relatos, nas duas décadas passadas, têm mostrado que biofilmes formados especialmente por estafilococos causam infecção descrita como “infecção crônica associada a polímeros” (PETERS et al., 1982; RESCH et al., 2004). Nos hospitais, os reservatórios são representados por pacientes colonizados, funcionários e pelo próprio ambiente (LYTSKY, 1978; MUNDIM et al., 2003).

A patogênese relacionada às infecções de dispositivos implantados é multifatorial e constitui um passo crucial na aderência de *Staphylococcus* à superfície do polímero (Figura 9) (PEACOCK et al., 2002; BALABAN et al., 2003; AOKI et al., 2005). Primeiramente, bactérias desse gênero aderem a uma superfície por meio de fatores não específicos, como carga e hidrofobicidade da superfície, proteínas (autolisinas) e ácido tecóico da parede celular. Em seguida, o estágio de adesão inicial é caracterizado pela produção de fatores que medeiam contato célula-célula durante a formação de biofilmes. Um principal componente de biofilmes compostos por *S. epidermidis* é a adesina polissacarídica intercelular (PIA). Outros fatores que medeiam a formação de biofilme são recentemente identificados como proteínas associadas à superfície, como a Aap, *accumulation-associated protein* e Bap/Bhp, *biofilm-associated protein* (ZIEBUHR et al., 2006).

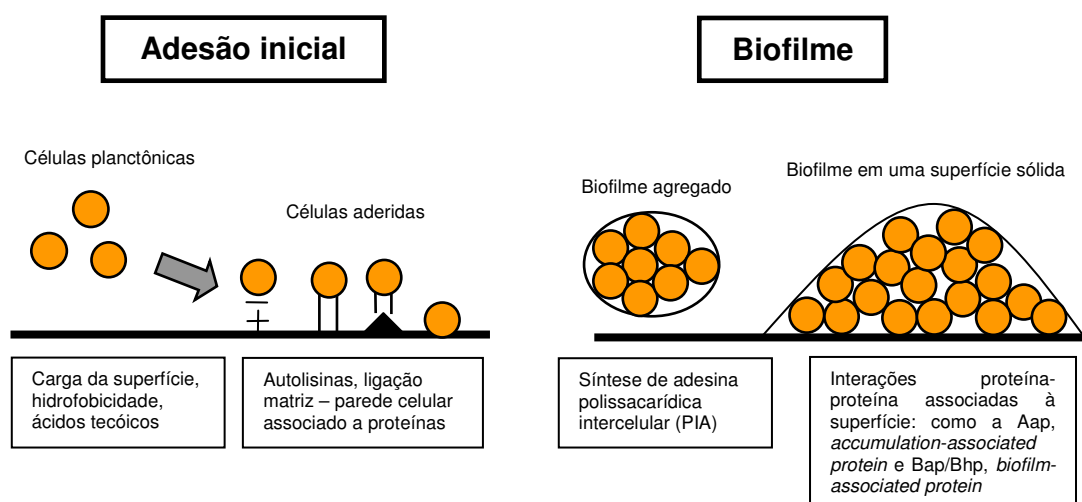


Figura 9 – Fatores envolvidos na adesão inicial em superfícies e na formação de biofilmes por estafilococos.
Fonte: ZIEBUHR et al., 2006.

PIA é codificada pelo operon *ica* (adesina intercelular), entretanto recentes relatos sugerem que esse operon também codifica as adesinas capsulares (PS/A), e, portanto, PIA e PS/A relacionam-se quimicamente. Esse operon parece ter importante papel na patogenicidade da infecção de *S. epidermidis*. Em um estudo, aproximadamente 85% dos isolados de sangue de *S. epidermidis* apresentavam os genes *ica* quando comparados com isolados saprofíticos, que continham apenas 6% (ZIEBUHR et al., 1997). A expressão do operon *ica* é regulada por parâmetros ambientais, tanto em laboratório quanto também sob condições *in vivo*. Crescimento anaeróbio, a presença de antibióticos em concentrações de subinibição e estresse osmótico resultaram na elevação da expressão do operon *ica* ou da síntese de PIA (FITZPATRICK et al., 2002). Knobloch et al. (2002) relataram que compostos alcoólicos utilizados para a desinfecção de pele tiveram o potencial de aumentar a formação de biofilmes em isolados de *S. epidermidis ica*-positivos e, conseqüentemente, causar infecção relacionada à presença de corpos estranhos. Fitzpatrick et al. (2002) concluíram, a partir de estudos, que o operon *ica* é a marca de virulência de *S. epidermidis* de estirpes isoladas e relacionadas com a causa de infecções em UTI; todavia, a produção de biofilme é também dependente das condições ambientais. Essa regulação ambiental é complexa, e as condições do hospedeiro e o local da infecção podem também desenvolver papel importante

Quorum sensing é um mecanismo de regulação em cascata da expressão bacteriana de genes em resposta ao aumento da densidade celular. *S. aureus* sintetiza uma série de exotoxinas via o sistema *agr*, e simultaneamente há inibição da formação de biofilme (IWATSUKI et al., 2006). Quando há aumento no número de células de *S. aureus*, há também síntese de moléculas sinalizadoras (*agr*) no intuito de comunicarem que estão em *quorum* (OTTO, 2004). Essas moléculas foram descritas primeiramente como reguladores pleiotrópicos de exotoxinas estafilocócicas, de proteases e proteínas da membrana (VUONG, 2000; LINDSAY; FOSTER, 1999). O sistema *agr* (Figura 10) de *S. aureus* consiste de quatro genes (*agrA*, *agrC*, *agrD* e *agrB*), que são co-transcritos de RNAII, e do gene que expressa a molécula efetora do sistema *agr*, RNAIII, que também expressará o gene da α -toxina (*hdi*) (IWATSUKI et al., 2006).

ressaltando-se que a escolha do tipo de microscopia a ser utilizada dependerá do aspecto de formação do biofilme que se deseja analisar (ZOTTOLA, 1997). Essas técnicas permitem obter informações sobre a distribuição na superfície e morfologia de células e colônias microbianas e a presença de exopolissacarídeos (BEECH, 2004).

As técnicas microscópicas são as mais recomendadas para visualização da adesão bacteriana, crescimento e formação de biofilmes em sistemas de processamento de alimentos, podendo até acompanhar o desenvolvimento do biofilme em tempo real (PARIZZI, 1999). Dentre essas técnicas, as eletrônicas são as mais indicadas quando se deseja analisar a interação microbiana na matriz do biofilme. De modo geral, as amostras são fixadas usando-se agentes químicos, a exemplo do glutaraldeído, do paraformaldeído e do ósmio ou criofixadas, em que a amostra é rapidamente congelada para evitar os danos às células pelos cristais de gelo (ZOTTOLA, 1997).

Uma das técnicas de microscopia eletrônica inclui-se a de varredura – MEV. Uma seqüência típica de preparação da amostra a ser analisada pela MEV consiste no desenvolvimento de biofilme sobre um “suporte” sólido, por exemplo em sondas de poliuretano e silicone, seguidos pela fixação da amostra, dessecação e cobertura com metal (ouro). Essas etapas influem na qualidade da imagem resultante (ZOTOLLA, 1997).

Existem diversos métodos disponíveis para determinação de células viáveis aderidas a superfícies, sendo um deles o método de contagem-padrão em placas. Essa técnica se baseia na premissa de que cada célula microbiana presente na amostra irá formar, quando fixada em um meio de cultura sólido adequado, uma colônia visível e isolada. Após a coleta pela remoção dos microrganismos aderidos por meio de rinsagem, raspagem, *swab* ou uso de vórtex, seguem-se a diluição da amostra em diluente esterilizado, inoculação da amostra em placas de Petri, adição de meio nutriente, incubação em temperatura adequada, por um intervalo de tempo predeterminado e contagem do número de colônias formadas. Alguns aspectos devem ser considerados quando se utilizam métodos não-visuais: todas as células sésseis aderidas à superfície precisam ser removidas, não devendo conter células não-aderidas (não-fixadas) ou planctônicas. Também, os diferentes microrganismos presentes na amostra devem

crescer nas condições de cultivo preestabelecidas, e os resultados devem refletir a realidade do biofilme (ZOTTOLA, 1997).

Variando o tipo de meio de cultura e as condições de incubação, é possível selecionar o gênero ou a espécie que se deseja contar. Como as células microbianas muitas vezes ocorrem em agrupamentos, não é possível estabelecer uma relação direta entre o número de colônias e o número de células. A relação correta é feita entre o número de colônias e o número de unidades formadoras de colônias (UFC), que podem ser tanto individuais quanto agrupamentos característicos de certos microrganismos (SILVA et al., 1997).

2.7. Avaliação da microtopografia de superfícies por microscopia de força atômica

A microscopia de força atômica (MFA) tornou-se muito popular nos últimos anos devido ao fato de possibilitar a construção de imagens digitais de aspectos superficiais em níveis nanométricos. A microtopografia de uma superfície é determinada por meio do rastreamento da amostra por uma fina agulha montada em um *cantilever* (Figura 11). Devido à ação de forças, por exemplo forças de Van der Waals, eletrostáticas, que ocorrem entre a agulha e a superfície da amostra, há deflexão do *cantilever*. Essa deflexão é monitorada por meios óticos (OREFICE, 2007).

As diferentes técnicas fornecem diversas possibilidades para a construção das imagens de diferentes tipos de amostras e para gerar ampla gama de informações. Os modos de fazer as imagens, também chamados de modos de varredura ou de operação, referem-se fundamentalmente à distância mantida entre a agulha e a amostra, no momento da varredura, e às formas de movimentar a agulha sobre a superfície a ser estudada. A detecção da superfície realiza-se visando à criação de sua imagem. Há um contínuo de modos possíveis de fazer imagens, devido às diferentes interações em razão da distância entre a ponteira e a amostra, assim como o esquema de detecção utilizado. A escolha do modo apropriado depende da aplicação específica que se deseja fazer (ZANETTI, 2007).

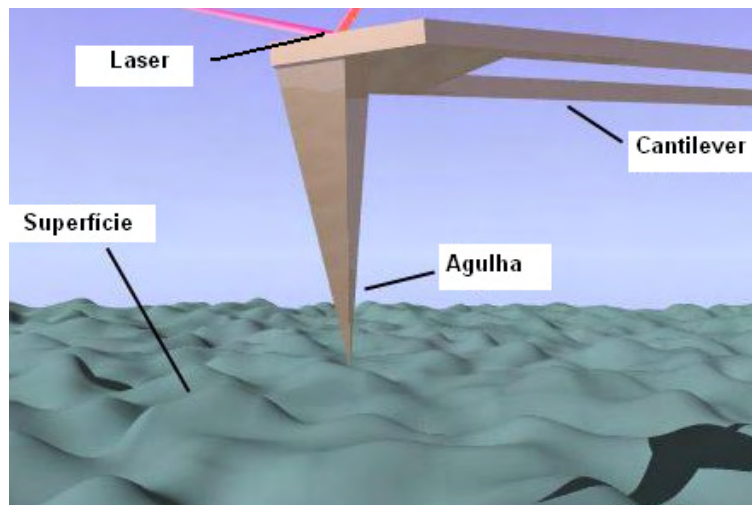


Figura 11 – Representação da técnica da microscopia de força atômica.

Fonte: SIBER, 2007.

A microrrugosidade tornou-se importante em função da qualidade dos materiais. Em 1990, com a aparição do microscópio de força atômica, as medições de nanorrugosidade em silício começaram. Para a realização desse parâmetro há a utilização de um *software* apropriado para essas medições. Realizada a imagem da superfície a ser medida, calcula-se a média aritmética do somatório de todos os valores da altura de pontos utilizados em dado perfil; esse parâmetro é conhecido como R_q . Entretanto, o parâmetro mais freqüentemente utilizado para a rugosidade é o R_a : média aritmética dos desvios das alturas de pontos do valor médio de R_q . Considerando a estatística de alturas máximas dos pontos dos picos, definem-se os parâmetros R_p e R_t . R_p é a altura máxima do perfil acima da linha média, e R_t é a altura máxima do pico ao vale, no perfil. O algoritmo do

software para as medidas de perfis de superfícies desse tipo leva em conta os 20 pontos mais altos do perfil (ZANETTE, 2007).

Assim, percebe-se que a MFA pode contribuir para o estudo de fenômenos interfaciais à medida que permite avaliar interações entre espécies presentes nestas. Dessa forma, para o caso de sistemas envolvendo macromoléculas, podem-se avaliar o efeito da estrutura e composição das interfaces em processos como adesão, adsorção, interpenetração de cadeias poliméricas, entrelaçamento e formação de ligações químicas (OREFICE, 2007).

2.8. Nutrição enteral

A nutrição por meio de sondas introduzidas no tubo digestivo (Figura 12) é um procedimento antigo. Atribui-se a John Hunter, em 1776, a primeira tentativa de administrar alimentos diretamente no estômago, através de um tubo rígido. Entretanto, somente após o advento da nutrição parenteral que a nutrição enteral tomou grande impulso e firmou-se como técnica importante no controle da desnutrição. Esse fato não foi por causa dos novos conhecimentos sobre metabolismo e fisiologia da nutrição, mas também com a criação de dietas com fórmulas quimicamente definidas, de alto valor nutricional, baixo teor de resíduo e fácil digestibilidade (NETO, 2003).

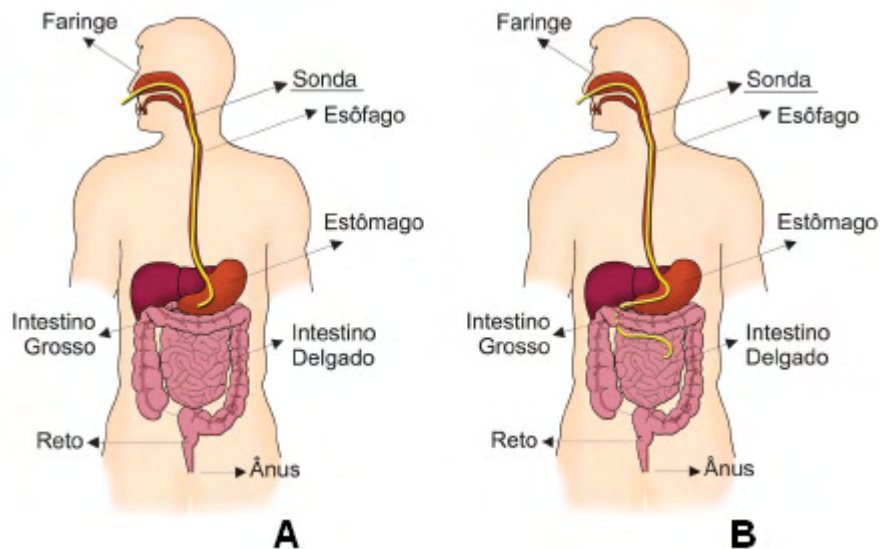


Figura 12 – Posicionamento da sonda. A: sonda no estômago (nasogástrica); e B: sonda no intestino (nasoentérica).
Fonte: DREYER et al., 2004.

Nutrição Enteral (NE) é a ingestão controlada de nutrientes, na forma isolada ou combinada, de composição definida ou estimada, especialmente formulada e elaborada para uso por sondas ou por via oral. Pode ser industrializada ou não, utilizada exclusiva ou parcialmente para substituir ou completar a alimentação oral em pacientes desnutridos ou não, conforme suas necessidades nutricionais, em regime hospitalar, ambulatorial ou domiciliar, visando à síntese ou manutenção dos tecidos, órgãos ou sistemas (BRASIL, 2000).

Uma dieta, antes de tudo, deve ser completa, ou seja, fornecer todos os nutrientes, em qualidade e quantidade necessária para atender à demanda nutricional do paciente. Isso, portanto, implica citar carboidratos, lipídeos, proteínas, água, minerais e vitaminas (NETO, 2003).

As dietas podem ser classificadas de acordo com o seu modo de preparo, fornecimento dos macronutrientes, complexidade, osmolaridade e contribuição dos nutrientes sobre o Valor Total da Dieta (VCT), conforme a Tabela 3. Em relação aos métodos de administração de alimentação por sonda, podem-se classificá-las em dois: (i) administração intermitente, em que há gotejamento por gravidade intermitente (gavagem), sendo a vazão

controlada por um dispositivo tubular denominado equipo; e (ii) administração contínua, em que a dieta é administrada por gotejamento lento e contínuo ou, preferencialmente, através de bomba de infusão, tanto volumétrica (mL.h^{-1}) quanto peristáltica (gotas.h^{-1}). Nesse caso é indicada sempre que a sonda estiver em posição pós-pilórica, ou quando houver dificuldades de esvaziamento gástrico, distensão e risco de aspiração (BARBOSA et al., 2001).

Quando é administrada sob a forma de infusão contínua, gota a gota, recomenda-se iniciar com a infusão de 50 mL.h^{-1} , sempre durante o período de vigília do paciente. O aumento do fluxo deve ser realizado com um acréscimo de 25 a 50 mL.h^{-1} , a cada um ou dois dias, de acordo com a tolerância do paciente, até atingir a quantidade desejada (NETO, 2003).

Tabela 3 – Classificação das dietas enterais

Classificação das Dietas	Subclassificação
Modo de preparo	- Artesanais ou naturais - Industrializadas ou quimicamente definidas
Fornecimento de macronutrientes	- Nutricionalmente completa - Nutricionalmente incompleta
Complexidade dos nutrientes	- Elementares ou monoméricas - Oligoméricas ou pépticas - Poliméricas - Dietas modulares - Especial ou especializada
Osmolaridade	- Hipotônicas - Isotônicas - Hipertônicas
Contribuição dos nutrientes sobre o valor calórico total da dieta (VCT)	- Normocalóricas - Hipercalóricas - Hipocalóricas

Fonte: BARBOSA et al., 2001.

As dietas enterais podem ser administradas por meio de dois sistemas diferentes, o aberto, que requer manipulação prévia à sua administração, e o fechado, em que se utiliza um alimento industrializado, estéril, acondicionado em recipiente hermeticamente fechado e apropriado para conexão ao equipo. Existem critérios básicos que devem ser utilizados para a seleção da dieta. Dentre os fatores a serem considerados, ressaltam-se a integridade do trato digestório; a situação metabólica; o tipo de macronutrientes da dieta em relação à capacidade absorvida e digestiva do paciente; as densidades calóricas e protéicas (cal.mL^{-1} ; $\text{g de proteína.mL}^{-1}$; relação Na:cal); a capacidade da dieta, ingerida dentro das quantidades toleradas, para atingir as necessidades nutricionais do paciente; e o custo/benefício da dieta (BARBOSA et al., 2001).

Geralmente, a dieta enteral é indicada para pacientes clinicamente comprometidos, seja por patologias do trato gastrintestinal alto, seja por intubação orotraqueal, por distúrbios neurológicos com comprometimento do nível de consciência ou dos movimentos mastigatórios. É indicada também nos casos em que o paciente apresenta ingestão oral baixa, por anorexia de diversas etiologias (ALVAREZ; GUIDA, 2000; DISARIO, 2006).

2.8.1. Complicações da nutrição enteral

As complicações da nutrição enteral podem ser classificadas em três grupos: as ditas complicações mecânicas, as quais se relacionam com a introdução e manutenção da sonda nasoentérica; as complicações metabólicas, aquelas relacionadas com os efeitos metabólicos da dieta após a sua absorção; e as complicações gastrintestinais, que relacionam a infusão da dieta no tubo digestivo. Dentre estas últimas, destaca-se a diarreia, devido à intoxicação e infecção alimentar (NETO, 2003).

No Brasil, a utilização da nutrição enteral teve início na década de 1960. Ainda que essa terapia salve vidas, a alimentação por sonda enteral está associada a diversas complicações, dentre elas a possibilidade de

contaminação microbiana (SILVA, 2004), pelo fato de serem ricas em macro e micronutrientes e, portanto, excelentes meios de crescimento de microrganismos (MAURÍCIO et al., 2005).

Essa situação é de grande preocupação para os médicos, pelo fato de essas dietas serem oferecidas a pacientes de risco para infecção, incluindo neonatos, pacientes transplantados, com injúrias encefálicas, câncer e AIDS. Fontes de contaminação associadas com dietas em pó reconstituídas incluem os ingredientes da dieta, liquidificadores e os líquidos utilizados em hospitais (OLIVIERA et al., 2000). Pode ainda originar-se de contaminação cruzada de equipamentos, utensílios e superfície de trabalho higienizados inadequadamente; de ingredientes ou outros aditivos utilizados na preparação ou modificação da fórmula; de armazenamento e transporte em condições inadequadas de manipuladores, equipos, sistemas de administração (CARVALHO et al., 1999) e ingredientes não-estéreis (SANTOS et al., 2004).

As possíveis causas contaminantes de formulações enterais, o contato manual, ou manipulação, constituem a mais significativa via de contaminação microbiana no ambiente hospitalar. Aspectos referentes às técnicas de manipulação utilizadas e a própria saúde do manipulador, além do uso de práticas inadequadas de higiene e preparo das fórmulas enterais por pessoas inabilitadas, podem provocar a contaminação cruzada desses alimentos, o que vem constituir um potencial problema aos seus usuários. A contaminação por contato manual pode também ocorrer no momento da transferência das fórmulas de seus recipientes originais para os reservatórios de administração (SANTOS et al., 2004).

Procedimentos normais para administração de dietas aos pacientes resultam no preparo dessas de acordo com as instruções do fabricante. Porém, algumas dietas são preparadas com antecedência e armazenadas no hospital, em temperatura ambiente ou refrigeradas, em alguns casos, por mais de 24 horas. A manutenção das dietas em temperatura ambiente, seja durante a administração ou durante a estocagem e transporte por períodos prolongados, representa riscos potenciais para o crescimento microbiano, caso haja contaminantes (SILVA, 2004).

No Brasil, foram relatados casos de dietas enterais contaminadas, e as dietas artesanais e em pó apresentaram mais altas porcentagens de inadequação quando comparadas com dietas prontas para uso. Os principais pontos críticos de controle identificados foram: a higienização e desinfecção de utensílios e equipamentos; o tempo de preparo associado com a temperatura do produto final e a exposição em temperatura ambiente; a temperatura de refrigeração; a água; a higiene e a antissepsia de manipuladores; e a higienização e desinfecção externa de embalagens (CARVALHO et al., 1999; KESSLER et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2000; SANTOS; TONDO, 2000; MITNE et al., 2001; MUNIZ, 2005).

Freedland et al. (1989) reportaram uma taxa de 30% a 90% de contaminação em sistemas de alimentação enteral. Bactérias como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, além de leveduras, foram isoladas de dietas enterais por Campbell (1995).

A contaminação microbiana das fórmulas enterais pode ocorrer em diversas etapas, sendo também a manipulação uma etapa especialmente crítica (LIMA et al., 2005). As Boas Práticas de Preparação da Nutrição Enteral (BPPNE) estabelecem as orientações gerais para aplicação nas operações de preparação da NE, bem como critérios para aquisição de insumos, materiais de embalagem e NE industrializada (BRASIL, 2000). Portanto, a utilização do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) torna-se essencial em locais como centrais de sondas e lactários, onde são preparadas dietas e fórmulas lácteas (MAURÍCIO et al., 2005; SANTOS; TONDO, 2000).

As complicações associadas à contaminação microbiana da nutrição enteral incluem: colonização gastrintestinal, que ocorre em mais de 25% dos pacientes em enfermaria geral e em 63% daqueles em UTI (BOWLING, 1998), pneumonia, infecção intestinal e bacteremia, que podem prolongar a hospitalização e aumentar o risco de mortalidade (ALVAREZ; GUIDA, 2000). Já foi demonstrado que, quando o preparo e a administração da nutrição enteral cumprem com todas as normas de biossegurança e com os procedimentos de BPPNE, a contaminação das dietas é reduzida de 53% para 2% (MONTEMERLO et al., 1996).

Prevenir a contaminação e manter a qualidade microbiológica da alimentação enteral é especialmente importante para aqueles pacientes que estão imunocomprometidos, devido a desnutrição, estresse metabólico e doença ou idade avançada (MOE, 1991).

2.9. Sondas para alimentação enteral

O ideal seria que todos os pacientes que necessitassem de suporte nutricional pudessem ingerir por via oral as dietas preparadas para nutrição enteral. Dessa maneira não haveria a utilização de sondas, o que evitaria o desconforto, riscos e o maior custo do tratamento.

As sondas nasoentéricas para nutrição enteral estão disponíveis no mercado sob várias formas. Podem ser constituídas de silicone, poliuretano ou de outros polímeros. São flexíveis, de fino calibre, leves, macias, resistentes à ação das secreções digestivas e de elevada tolerabilidade por parte dos pacientes. Todas possuem um fio-guia inoxidável flexível para ajudar na passagem da sonda pelo trajeto nasogástrico. Variam de 50 a 91 cm para sondas pediátricas e de 91 a 110 cm para sondas de adultos. O calibre é fornecido em French (Fr), sendo 1 Fr equivale a 0,33 mm; para adultos, varia de 8 a 12 Fr. A extremidade distal pode possuir uma cápsula de mercúrio ou tungstênio, com o objetivo de facilitar a sua progressão até a porção inicial do jejuno, por meio do movimento peristáltico. São radiopacas, o que permite a sua visualização por radiografia e verificação do seu posicionamento correto (PASCUAL et al., 1993).

A característica e composição da superfície de cateteres e outros dispositivos são cruciais para evitar a adesão bacteriana. Muitos desses biomateriais contêm aditivos como plastificantes, estabilizantes e polímeros orgânicos que melhoram as propriedades físico-químicas e a biocompatibilidade. Esses aditivos podem ser metabolizados por microrganismos que os utilizam para a manutenção do seu crescimento na superfície (PASCUAL et al., 1993).

Poliuretanos são biomateriais apropriados para a construção desses dispositivos (PASCUAL et al., 1993). Também são conhecidos como policarbamatos polióis (CARELI, 2005), que são polímeros com grande

variedade de propriedades, que incluem a capacidade de formar filmes à temperatura ambiente, flexibilidade, resistência química a solventes (COUTINHO et al., 2000), resistência à oxidação, à abrasão e à radiação gama (STEVENS, 1990; ABIQUIM, 2004b). Todas essas propriedades são baseadas na reação de um diisocianato orgânico com componentes contendo grupos de hidróxidos, chamados de polióis (STEVENS, 1990; ABIQUIM, 2004b). Durabilidade elevada, resistência a ácidos, à oxidação, à abrasão e à baixa resistência a alcalinos são características marcantes desse tipo de superfície (RODRIGUEZ, 1989). Sólidos ou expandidos, flexíveis, semi-rígidos ou rígidos, os poliuretanos podem assumir a forma de artefatos moldados, revestimentos, elastômeros, espumas ou fibras (STEVENS, 1990).

Outro biomaterial utilizado na confecção de sondas é o silicone. Este tipo de sonda é muito utilizado para a administração do suporte nutricional em pacientes com doenças críticas. Quando corretamente usados, esses tubos são extremamente seguros e efetivos (RINKER et al., 2000). O silicone é um polímero quimicamente inerte e resistente a ácidos e bases, à radiação gama, à decomposição pelo calor, à água ou a agentes oxidantes, além de ser bom isolante elétrico. Resistentes ao calor e à intempérie, os silicones são apresentados nas formas fluida, de resina ou de elastômeros, ou seja, borrachas sintéticas. Suportam temperaturas que variam de - 65 °C a 400 °C. É usado em muitos segmentos da indústria de alimentos sem perder suas características de permeabilidade, elasticidade e brilho (RODRIGUEZ, 1989; ABIQUIM, 2004a). Superfícies de silicone possuem várias características que são responsáveis pela sua ampla aplicação, destacando-se a sua grande flexibilidade, longevidade e compatibilidade com os meios de aplicação. Por ser inerte e atóxica, não traz malefícios para o meio ambiente, não contamina o solo, nem a água nem o ar. Além disso, não altera o sabor dos alimentos com os quais entram em contato (STEVENS, 1990; ABIQUIM, 2004a).

2.10. Determinação das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas compreendem a resposta dos materiais às influências mecânicas externas, manifestadas pela capacidade de desenvolverem deformações reversíveis e irreversíveis e resistirem à fratura. Essas características são geralmente avaliadas por meio de ensaios, que indicam dependências tensão-deformação. Dentre as propriedades mecânicas, encontram-se as elásticas, que são características importantes da resistência dos materiais. O corpo de prova é estendido a uma velocidade-padrão constante até a sua ruptura. A resistência à tração é avaliada pela carga aplicada por unidade de área no momento da ruptura. O alongamento do corpo de prova originado durante o teste representa aumento porcentual do comprimento da peça sob tração, no momento da ruptura. Materiais com grande teor de ligações cruzadas, como os utilizados nas espumas rígidas, são fortes e duros, porém quebradiços, e os elastômeros e as espumas flexíveis têm alongamento na ruptura muito maior (VILAR, 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A primeira etapa deste trabalho foi realizada em um Centro de Terapia Intensiva (CTI) e em uma sala de preparo de nutrição enteral (SPNE) de um hospital de Viçosa, Minas Gerais, onde as estirpes de *Staphylococcus* sp. foram isoladas.

Nas etapas seguintes, o experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Embalagem e Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial e no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (UFV); no Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); e no Laboratório de Nanoscopia do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.1. Contagem e isolamento de *Staphylococcus* sp. em um hospital municipal

3.1.1. Ar de ambientes

A contagem de *Staphylococcus* sp. foi realizada em um Centro de Terapia Intensiva (CTI) e em uma Sala de Preparo de Nutrição Enteral (SPNE). O isolamento de *Staphylococcus* no ar foi amostrado em placas de Petri com ágar Baird-Parker (Difco™) adicionado de emulsão de gema de ovo em água salina 0,85% (p/v) esterilizada (1:1 v/v) e telurito de potássio

1% (p/v) (Laborclin[®]) (BAIRD-PARKER, 1990), pelo método de impressão em ágar (EVANCHO et al., 2001). Coletou-se um volume de ar de 1.000 litros, com o auxílio de um amostrador de ar MAS 100 (Merck[®]) de um estágio (SVEUM et al., 1992). Antes da coleta das amostras, a tampa do amostrador foi esterilizada a 121 °C, por 15 minutos, sendo sanitizada com álcool 70% (v/v) a cada amostragem. As placas foram incubadas a 37 °C, por 48 horas (LANCETTE; BENNETT, 2001).

As coletas foram realizadas em duplicata, durante a passagem das sondas no paciente, evento único, e preparo da nutrição enteral em sistema aberto, na SPNE, por no máximo três dias consecutivos, de acordo com a necessidade de o paciente utilizar a nutrição enteral.

3.1.2. Manipuladores

A presença de *Staphylococcus* sp. nas mãos do enfermeiro-chefe e de duas copeiras, que se revezavam de turno de trabalho, cada dia uma era responsável pelo preparo da dieta, foi avaliada pela técnica de *swab* (EVANCHO et al., 2001). Essa avaliação foi realizada em dois momentos distintos, o primeiro, durante a passagem da sonda no paciente e amostragem da mão do enfermeiro-chefe; e o segundo, durante o preparo da dieta na SPNE e amostragem da mão de uma das copeiras. O manipulador da sonda, enfermeiro-chefe, fazia uso de luvas esterilizadas.

A coleta das amostras de manipuladores foi feita nas mãos, nas áreas correspondentes às superfícies da palma e das bordas, partindo-se da região dos punhos. Foram utilizados *swabs* de algodão de 0,5 cm de diâmetro por 2,0 cm de comprimento, com haste de 12,5 cm de comprimento. Os *swabs* foram esterilizados a 121 °C, por 15 minutos. Para a coleta, o *swab* foi umedecido em solução-tampão fosfato. De forma angular, o *swab* foi friccionado, com movimentos giratórios, da parte inferior da palma até a extremidade dos dedos, retornando-se ao punho. Esse procedimento foi repetido por três vezes, na direção de cada dedo. Os movimentos nas bordas foram do tipo vaivem, de modo a avançar em um dos lados da mão onde as linhas dos punhos se iniciavam, passando depois entre os dedos, e no final, no outro lado da mão, encontrando-se de novo com as linhas dos

punhos (EVANCHO et al., 2001). Após as coletas, os *swabs* foram transferidos para tubos de ensaio com 10 mL de solução-tampão fosfato esterilizada a 121 °C, por 15 minutos. Os tubos foram transportados, sob refrigeração, para o laboratório, para realização da contagem de *Staphylococcus* sp. em ágar Baird-Parker.

3.1.3. Mucosa nasal

Foram amostrados quatro pacientes internados no CTI, aleatoriamente, e que necessitavam utilizar sondas nasoenterais para alimentação, por causa de um distúrbio do trato digestório ou outro motivo. As informações sobre sexo, idade, quadro clínico, sistema de administração da dieta e antibioticoterapia dos quatro pacientes são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Informações dos pacientes internados no CTI, nos quais se realizou a análise de *Staphylococcus* da cavidade nasal antes da passagem da sonda nasoenteral

Pacientes Características	A	B	C	D
Sexo	Masculino	Masculino	Masculino	Feminino
Idade	86	65	76	81
Terapia com antimicrobiano até a passagem da sonda	- Amicacina - Ceftazidima - Oxacilina	Não	- Amicacina - Claritromicina - Ciprofloxacina	Não
Sistema de administração da dieta enteral	Fechado. Uso de sonda de poliuretano	Aberto. Uso de sonda de poliuretano	Aberto. Uso de sonda de silicone	Fechado. Uso de sonda de silicone
Quadro Clínico	- Câncer de esôfago - Pneumonia - Insuficiência respiratória - Anemia	- Insuficiência respiratória - Doença pulmonar obstrutiva crônica - Pneumonia - Ventilação mecânica	- Pneumonia - Suspeita de câncer pulmonar - Bradirritmia	- Insuficiência respiratória

A amostra para pesquisa de *Staphylococcus* foi realizada na cavidade nasal do paciente no qual a sonda foi inserida. O *swab* foi umedecido em

solução-tampão fosfato, e partindo-se de um ponto inicial, com movimentos giratórios, percorreu toda a área por três vezes. Em seguida, foram transferidos para tubos de ensaio com 10 mL da mesma solução-tampão que foram umedecidos (EVANCHO et al., 2001) e conduzidos sob refrigeração para o laboratório para contagem de *Staphylococcus* sp. em ágar Baird-Parker (BAIRD-PARKER, 1990).

3.1.4. Dieta

No sistema fechado de administração da dieta, a troca do seu frasco era realizada a cada 24 h no CTI. Assim, no primeiro dia, uma amostra de 100 mL foi coletada logo após a passagem da sonda, em recipiente esterilizado, assim que havia a conexão do frasco da dieta ao equipo. Nos outros dois dias, a amostra foi coletada após substituição do sistema frasco e equipo. Tal procedimento foi realizado por no máximo três dias consecutivos, conforme a necessidade de uso de sistema de alimentação pelo paciente.

Caso contrário, se o paciente alimentava-se por meio do sistema aberto, amostras eram coletadas durante o preparo ao meio-dia e durante outros três horários de administração seguintes ao seu preparo, às 17 horas do mesmo dia e às oito horas do dia seguinte. Nesses dois últimos casos, as dietas eram conservadas sob refrigeração a 4 °C, no CTI, até o horário de sua administração. O volume da amostra coletado era de 100 mL por vez. As amostras foram refrigeradas após sua coleta e, em seguida, levadas ao laboratório para contagem de *Staphylococcus* sp. em ágar Baird-Parker (BAIRD-PARKER, 1990; SWANSON et al., 2001).

3.1.5. Superfícies de preparo

As amostras foram coletadas em uma superfície de preparo da nutrição enteral, para sistema aberto de administração, pela técnica do *swab*, durante o preparo do alimento na SPNE (EVANCHO et al., 2001).

Na pesquisa de *Staphylococcus* na superfície foi realizada um máximo de três repetições, conforme a necessidade de o paciente

permanecer internado e se alimentar por sonda. Cada repetição era realizada no momento do preparo da dieta, sem que a rotina normal de processamento fosse alterada. Foram utilizados *swabs* de algodão umedecidos em solução-tampão fosfato adicionada de 1% (v/v) de solução de tiosulfato de sódio 0,25% (BLOCK, 1991), para inativação do cloro utilizado na sanitização da superfície. A superfície-teste foi friccionada por 20 vezes, no sentido vaivem, em uma área de 100 cm², com o auxílio de um molde de coleta de 10 cm x 10 cm. Em seguida, os *swabs* foram transferidos para tubos de ensaio com 10 mL da mesma solução-tampão (EVANCHO et al., 2001). Após a coleta, os tubos foram transportados para o laboratório, sob refrigeração, para realização das análises de *Staphylococcus* sp. em ágar Baird-Parker (BAIRD-PARKER, 1990).

3.1.6. Sondas

Os pacientes internados no CTI e selecionados para o experimento receberam sondas nasoenterais de silicone ou poliuretano da marca SOLUMED®. As características das sondas são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Características das sondas nasoenterais

Características	Sonda de Poliuretano	Sonda de Silicone
Constituição	Poliuretano (TPU) Dimetilsiloxano, polivinilcloreto (PVC) e sulfato de bário	Dimetilsiloxano Polivinilcloreto (PVC), Poliacetal e sulfato de bário
Comprimento	120 cm	95 cm
Área total	298,58 cm ²	238,86 cm ²
Diâmetro	3,96 mm (12 FR)	3,96 mm (12 FR)

Em cada um dos quatro pacientes, as sondas foram retiradas após a suspensão da alimentação enteral pelo enfermeiro plantonista, o qual fazia

uso de luvas esterilizadas. Em seguida, as sondas foram colocadas em vidros também esterilizados, que foram tampados e enviados sob refrigeração para o laboratório. Foram adicionados a cada vidro 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v), realizando-se a rinsagem com movimentos giratórios, de um lado para o outro, por dois minutos. Diluições em tubos de ensaio contendo 9,0 mL de solução salina 0,1% (p/v) foram realizadas. Alíquotas de 0,1 mL da diluição 10^{-5} foram plaqueadas em meio específico para contagem e isolamento de *Staphylococcus* (BAIRD-PARKER, 1990).

3.2. Purificação e identificação bioquímica dos isolados

Os isolados obtidos do ar dos ambientes do CTI e SPNE, da dieta, mucosa nasal dos pacientes, superfície do recipiente de preparo da dieta e dos manipuladores foram selecionados de forma aleatória, com base nas características típicas e atípicas das colônias (LANCETTE; BENNETT, 2001) em ágar Baird-Parker (BAIRD-PARKER, 1990).

Os isolados foram purificados em ágar Baird-Parker (BAIRD-PARKER, 1990), empregando-se a técnica de estrias. Em seguida, os isolados foram codificados e mantidos em ágar (*Brain Heart Infusion* (BHI) (Difco™), inclinado sob refrigeração a 4 °C.

Os isolados foram caracterizados de acordo com a morfologia celular, coloração diferencial de Gram; produção de coagulase livre em plasma de coelho, em plasma coagulase – EDTA Coagu-Plasma LB (Laborclin®) e catalase, utilizando-se H₂O₂ a 10% (MARTIN et al., 2001). Como controle positivo, utilizou-se a estirpe *S. aureus* ATCC 25923.

Isolados de *Staphylococcus* sp. obtidos foram submetidos à identificação bioquímica, empregando-se o Sistema de Identificação de Estafilococos e Micrococos API Staph da BioMérieux® (Figura 13) e teste de hemólise em ágar-sangue (Merck®) acrescido de 5% (v/v) de sangue de carneiro, para verificação de β-hemólise (MARTIN et al., 2001). O sangue de carneiro foi cedido pelo Departamento de Veterinária da UFV. Todos os isolados de sondas foram submetidos à identificação. O critério de escolha para identificação dos demais isolados baseou-se na frequência de

isolamento. Esse *kit* é composto de testes bioquímicos padronizados e miniaturizados e de uma base de dados específicos (ENTIS et al., 2001). Após estriar a cultura do isolado em ágar-sangue acrescido com 5% (v/v) de sangue de carneiro, suspensões das colônias foram feitas em 6 mL de API Staph Médium esterilizado, seguindo-se como padrão a escala 0,5 McFarland. As galerias individuais, contendo meios de provas bioquímicas desidratados, foram inoculadas de acordo com a recomendação do fabricante. A seqüência da galeria inclui o controle, seguido do teste de fermentação de glicose (GLU), frutose (FRU), manose (MNE), maltose (MAL), lactose (LAC), trealose (TER), manitol (MAN), xilitose (XLT), melobiose (MEL), nitrato de potássio (NIT), b-naftil ácido fosfato (PALM), piruvato de sódio (PV), rafinose (RAF), xilose (XYL), sacarose (SAC), a-metil D-glucosídeo (MDG), n-acetil glucosamina (NAG), arginina (ADH) e uréia (URE).



Figura 13 – Modelo de uma galeria para testes bioquímicos do *Kit* API STAPH após inocular um isolado de *Staphylococcus aureus*, incubar a 37 °C e adicionar os reagentes necessários para leitura.

Após a inoculação, adicionou-se parafina nos dois últimos poços, conhecidos como ADH e URE, para criação de um ambiente de

anaerobiose. Incubaram-se as galerias a 37 °C, por 24 horas. As leituras dos testes foram feitas com o auxílio dos reagentes VP 1 e VP 2, para o teste de Voges-Proskauer (VP); NIT 1 e NIT 2, para o teste de nitrato de potássio (NIT); e ZYM A e ZYM B, para o teste β -naftil ácido fosfato (PALM). Os reagentes são descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Composição do meio de suspensão e dos reagentes de leitura

Reagentes	Composição	Quantidade
API Staph médium 6 mL	Extrato de levedura	0,5 g
	Bactopeptona	10 g
	NaCl	5 g
	Oligoelementos	10 mL
	Água desmineralizada	1000 mL
	pH 7,0 - 7,4	-
VP 1	Hidróxido de potássio	40 g
	Água	100 mL
VP 2	α -naftol	6 g
	Etanol	100 mL
NIT 1	Ácido sulfanílico	0,4 g
	Ácido acético	30 g
	Água	70 mL
NIT 2	N,N-dimetil-1-naftilamina	0,6 g
	Ácido acético	30 g
	Água	70 mL
ZYM A	Tris-hidroximetil-aminometano	25 g
	Ácido clorídrico 37%	11 mL
	Lauril sulfato de sódio	10 g
	Água	100 mL
ZYM B	Fast Blue BB	0,35 g
	2-metoxi etanol	100 mL

Fonte: API STAPH – Teste para diagnóstico *in vitro*.

3.3. Teste de sensibilidade a antibióticos

A sensibilidade dos isolados aos antibióticos foi realizada pelo método de discos impregnados com antibióticos (BAUER et al., 1966; CLSI, 2007) das seguintes substâncias: ciprofloxacina-CIP (5 µg), amicacina-AMI (30 µg), clindamicina-CLI (2 µg), claritromicina-CLA (15 µg), ceftriaxona-CRO (30 µg), ceftazidima-CAZ (30 µg), imipenem-IMP (10 µg), oxacilina-OXA (1 µg), sultamicilina - ampicilina e sulbactam-APS (10/10 µg) e vancomicina-VAN (30 µg). Os discos foram adquiridos do Laboratório DME[®] (Diagnósticos Microbiológicos Especializados, Araçatuba, São Paulo, Brasil). A escolha dos princípios ativos baseou-se na frequência de uso no CTI da unidade hospitalar estudada.

Os isolados, sendo no mínimo um de cada espécie, com índice de confiança maior que 80%, foram selecionados dentre as estirpes identificadas utilizando o *kit* API Staph da BioMérieux[®]. Os isolados escolhidos foram previamente ativados, por meio de uma alça de platina, por 24 h, a 37 °C, em 10 mL de caldo BHI e, em seguida, foram repicados em caldo BHI por 8 h. Alíquotas de 0,1 mL dessas culturas foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (MHA) (Merck[®]), empregando-se a técnica de *spread plate*. Foi utilizada uma suspensão de 10⁸ UFC.mL⁻¹. Após 3 min, em cada placa fixaram-se cinco dos 10 discos ao ágar, com o auxílio de uma pinça. As placas foram deixadas por uma hora sob temperatura ambiente, para fixação dos discos ao ágar e, em seguida, foram incubadas a 37 °C, por 24 h (CUNHA, 2006). O experimento foi realizado em uma única repetição.

3.4. Caracterização física, físico-química e microscópica das superfícies de sondas nasotéricas

3.4.1. Determinação da tensão de ruptura e estiramento dos polímeros

Sete corpos-de-prova de poliuretano e outros sete de silicone de 10 cm de comprimento e 3,96 mm (12 FR) de diâmetro foram utilizados para medidas de resistência mecânica (ASTM D 412, 2003), máxima carga (N) e deformação relativa na carga máxima (%).

As medidas foram realizadas com os corpos de prova à velocidade de pré-teste de 50 mm.min⁻¹, de teste de 100 mm.min⁻¹ e de pós-teste de 50 mm.min⁻¹, às temperaturas de 25 °C e 36 °C, com células de carga de 1 kN. O equipamento utilizado foi a máquina universal de ensaios mecânicos, Instron (modelo 3367 Q 1126), com capacidade máxima de carga de 30 kN. O experimento foi realizado em sete repetições.

3.4.2. Hidrofobicidade

Corpos-de-prova de no máximo 10 cm foram retirados da parte central de cada tipo de sonda, poliuretano e silicone, seccionados ao meio e colados a pedaços de papelão para a sua completa planificação (Figura 14). Foram selecionados corpos-de-prova que apresentaram regiões planas para a medida do ângulo de contato e, se necessário, eram reduzidos a fragmentos menores para melhorar a planificação.

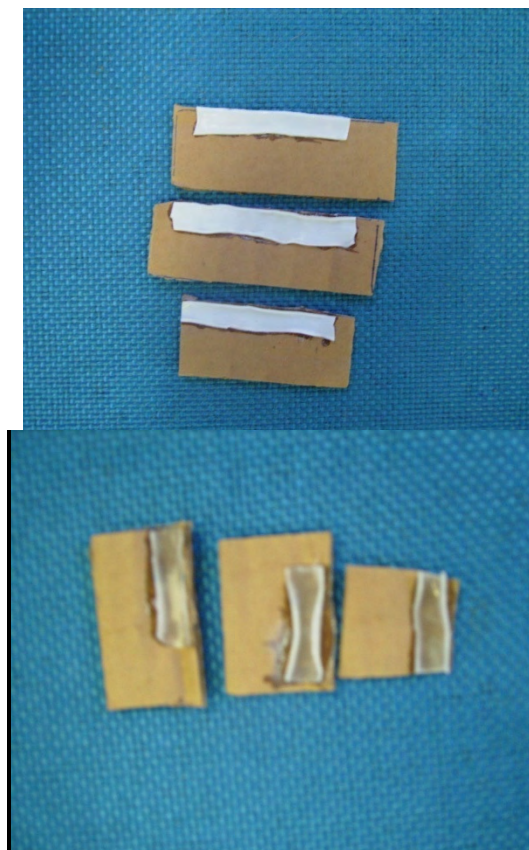


Figura 14 – Corpos-de-prova das sondas para medida do ângulo de contato: (a) cupons da sonda de silicone e (b) cupons da sonda de poliuretano.

As medidas do ângulo de contato foram realizadas na parte interna dos corpos-de-prova, utilizando-se um Goniômetro NRL A-100-00 da Ramé-Hart (Mountain Lakes - USA) com sistema de análise de imagens (Figura 15). Uma gota de 2,5 μL de água foi depositada sobre a superfície de interesse, e o ângulo foi medido por 25 vezes (OLIVEIRA, 2006) a cada minuto, à temperatura ambiente (25 $^{\circ}\text{C}$).



Figura 15 – Goniômetro: equipamento utilizado na medida do ângulo de contato entre as sondas e a água.

3.4.3. Topografia e rugosidade por microscopia de força atômica

Dois corpos-de-prova de 1,0 cm retirados da parte central de cada tipo de sonda, poliuretano e silicone, foram seccionados ao meio e enviados para a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), para análise de microscopia de força atômica.

As imagens do interior dos corpos-de-prova foram feitas utilizando-se um microscópio de força atômica marca VEECO, modelo Nanoscope IIIA, pela técnica *Tapping Mode*. Nessa técnica, uma ponta conectada a um oscilador piezoelétrico era forçada a vibrar perto da sua frequência de ressonância e tocava a superfície da amostra cerca de 500 vezes por ponto de medida. A medida das alterações, na frequência de vibração quando a altura da amostra variava, foi traduzida por um *software* em variações de altura, produzindo a imagem da amostra. Essa técnica permitiu uma alta resolução espacial, e, como a ponta da agulha não ficava permanentemente

em contato com a amostra, o risco de deformação da amostra pela ponta foi minimizado. Essa ponta apresentava um raio de curvatura entre 5 nm e 10 nm (MIRONOV, 2004). Foram determinados também, por meio de um *software* apropriado desse equipamento, os parâmetros: R_q , média aritmética do somatório de todos os valores da altura de pontos utilizados em dado perfil; R_a , média aritmética dos desvios em altura do valor médio da altura desses pontos; e R_t , altura máxima entre o pico e o vale no perfil dos cupons das sondas.

3.5. Adesão de *Staphylococcus aureus* em superfícies de sondas nasoentéricas de silicone e de poliuretano

3.5.1. Adesão por teste em uso simulado

O procedimento de administração da dieta em laboratório foi realizado de forma a simular as condições hospitalares de um sistema aberto. Foram empregados dois tipos de sondas nasoenterais, constituídas de silicone e poliuretano. As extremidades das sondas foram conectadas a diferentes sistemas: em uma das extremidades, por onde saía a dieta, as sondas foram conectadas a tampas metálicas que, por sua vez, fechavam vidros que serviam como frascos coletores da dieta após sua administração; na outra extremidade, as sondas foram conectadas a equipos, sendo esses conectados a frascos de armazenamento de dieta ou água, que eram gotejadas por gravidade intermitente. Havia duas sondas de poliuretano, e uma recebeu a dieta com inóculo de $1,0 \times 10^2$ UFC.mL⁻¹ de *S. aureus* e outra não, denominada sonda de poliuretano-controle, e duas sondas de silicone, em que uma recebeu a dieta com o mesmo inóculo e outra não, denominada sonda de silicone-controle. As sondas e frascos coletores permaneceram dentro de uma estufa a 36 °C, com o objetivo de simular a temperatura do corpo humano (Figura 16).



Figura 16 – Montagem do procedimento de administração da dieta em laboratório: (a) sondas nasoenterais de silicone (esquerda) e de poliuretano (direita), utilizadas no experimento; (b) estufa utilizada no experimento, com o suporte de dietas ao lado direito; (c) os frascos de vidro utilizados como recipientes coletores; (d) frascos coletores; (e) frascos de armazenamento de dieta; e (f) vista superior da estufa, onde se realizou a conexão sonda-equipeo.

Antes do preparo da dieta, um isolado de *S. aureus* foi ativado por 24 h, a 37 °C, em 10 mL de caldo BHI. Em seguida, o inóculo foi repicado com o auxílio de uma alça de platina em outro tubo contendo também o mesmo meio e volume, por 3 h antes do uso, na mesma temperatura. A concentração de $1,0 \times 10^2$ UFC.mL⁻¹ de *S. aureus*, contagem encontrada na dieta hospitalar em análises prévias, foi inoculada em diferentes volumes de

dieta: em 100 mL de dieta para a administração no primeiro dia; em 150 mL no segundo dia; e 200 mL no terceiro dia, conforme recomendação de um profissional especializado (nutricionista). O preparo da dieta ocorria todos os dias às 12 h e, em seguida, eram armazenadas sob refrigeração, e 1 h antes de sua administração eram retiradas para obterem temperatura ambiente. No caso das dietas administradas no primeiro dia, eram preparados quatro frascos, um para cada tipo de sonda, para administração às 11 h, horário em que se iniciava o teste. A dieta administrada foi a IsoSource HN[®], Novartis, Treta *Slim*, sabor baunilha e com volume de 1 L. Essa dieta é um alimento completo do ponto de vista nutricional para fins enteral e oral, com 1.200 calorias e esterilizado comercialmente (Tabela 7). A escolha de seu uso foi em função de sua utilização no hospital quando administrada em sistema aberto.

Tabela 7 – Informações nutricionais da dieta enteral IsoSource[®] HN em 1.000 mL

Informações Nutricionais IsoSource [®] HN em 1.000 mL	
Valor nutricional	1200 kcal
Carboidratos	157 g
Proteínas	53 g
Gorduras totais	40 g
Gorduras saturadas	23 g
Gorduras trans	0 g
Fibra alimentar	0 g
Sódio	1.200 mg
Cálcio	1.000 mg
Ferro	12 mg
Potássio	1.640 mg
Cloreto	400 mg
Fósforo	700 mg
Magnésio	260 mg
Zinco	8,0 mg
Manganês	2,4 mg
Cobre	900 µg
Molibdênio	48 µg
Iodo	132 µg
Cromo	36 µg
Selênio	36 µg
Vitamina A	600 µg
Vitamina D	6,8 µg
Vitamina E	20 mg
Vitamina C	48 mg
Niacina	16 mg

Acido pantotênico	5,2 mg
Vitamina B6	1,4 mg
Vitamina B2	1,4 mg
Vitamina B1	1,2 mg
Biotina	30 µg
Acido fólico	400 µg
Vitamina K	65 µg
Vitamina B12	2,4 µg
Colina	552 mg

Fonte: <http://www.novartis.com.br/products/pt/mn/pd_isosource_hn.gif>.

A dieta foi administrada às 8 h, 11 h, 14 h, 17 h, 20 h e 23 h de cada dia, durante três dias consecutivos, totalizando 72 h. A administração foi realizada por no máximo 1 h e meia, e a cada corrida da dieta havia passagem de 50 mL de água esterilizada (NETO, 2003). Esse procedimento teve como finalidade simular a administração de dieta enteral de um paciente internado por três dias no CTI, em que se realizou o experimento.

A troca do equipo ocorria todos os dias pela manhã, antes da administração da dieta das 8 h. Todo o material utilizado era esterilizado, e a troca do frasco de dieta ou água e do equipo foi realizada, de maneira asséptica, com a ajuda de um bico de Bunsen.

Ao final do terceiro dia, o sistema contendo frascos de água, vidros, equipos e sondas foi desmontado e os dispositivos nasoenterais, fragmentados para análises de microscopia eletrônica de varredura e contagem de células de *Staphylococcus* aderidas à parte interna das sondas. Esse teste em uso simulado foi realizado em três repetições.

3.5.2. Determinação do número de células aderidas

Uma metodologia foi desenvolvida para determinar o número de células aderidas à parte interna da sonda nasoenteral. Três corpos-de-prova de 10 cm de cada sonda, das porções do início, meio e fim, foram cortados ao final do terceiro dia do experimento de adesão. Esses três corpos-de-prova, apenas em sua parte interna, foram rinsados levemente com 0,6 mL de solução citrato 2%, com o auxílio de uma seringa, com a finalidade de remover as células planctônicas. Em seguida, foram rinsados fortemente com 10 mL da mesma solução para a retirada das células aderidas. Esse volume foi coletado em um erlenmeyer esterilizado. Alíquotas de 0,1 mL foram plaqueadas, em duplicata, em placas com ágar-padrão para contagem

(PCA), que foram incubadas a 37 °C, por 24 h, para contagem de células aderidas. A solução citrato 2% foi utilizada com o intuito de aumentar a remoção de células planctônicas e, principalmente, aderidas e imersas em uma solução protéica (dieta).

3.5.3. Avaliação da adesão por microscopia eletrônica de varredura

Três corpos-de-prova de 0,4 cm foram cortados das três porções de cada sonda, início, meio e fim, imediatamente após o término do experimento de adesão. Em seguida, foram segmentados em quatro pedaços, por meio de cortes horizontais e transversais no centro do corpo-de-prova (Figura 17).

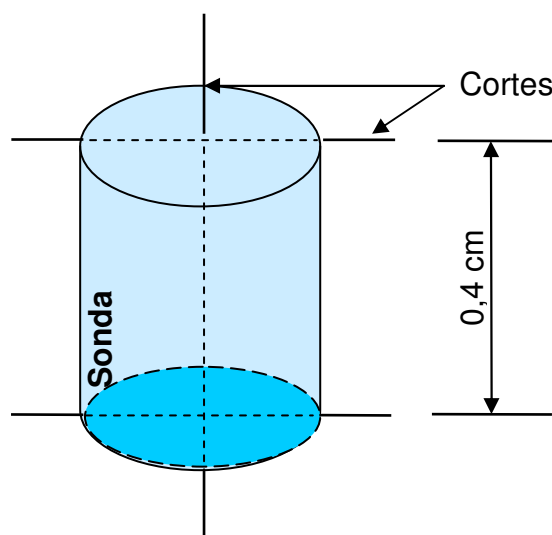


Figura 17 – Esquema ilustrativo dos cortes horizontais e transversais realizados nos corpos-de-prova das sondas para análise de microscopia eletrônica de varredura

A fixação das células aderidas à superfície interna das sondas foi feita com uma solução de concentração final de glutaraldeído 2,5% (v/v) e tampão-fosfato de 0,05 mol.L⁻¹ (1:1 v/v), com pH 6,9, durante 1 h à temperatura ambiente. Após essa etapa, os corpos-de-prova foram lavados em uma solução de concentração final de tampão-fosfato de 0,05 mol.L⁻¹, por seis vezes, em intervalos de 10 min, em um total de 1 h. As amostras

foram desidratadas com solução aquosa de álcool etílico P.A. nas concentrações de 30% (v/v), 50% (v/v), 70% (v/v), 80% (v/v) e 95% (v/v), respectivamente, com 10 min de contato em cada concentração e em solução de álcool etílico P.A. 100% (v/v), em três repetições por 15 min, para a retirada completa da água. Os corpos-de-prova foram transferidos para cestas permeáveis usadas no secador de ponto crítico (*Critical Point Dryer*) Balzers CPD 020, para evaporação do álcool utilizado na desidratação. Nessa etapa, todo o álcool da amostra foi substituído por gás carbônico na forma líquida, que ao atingir o ponto crítico evaporou, ficando os cupons secos. Fitas adesivas foram coladas no suporte de porta-amostras do microscópio (*stub*), após a secagem do material. Em seguida, os corpos de prova foram levados no metalizador *Balzers Union* FDU 010 e submetidos ao processo de metalização com uma fina camada de ouro de 15 a 25 nm, com a finalidade de tornar os corpos-de-prova bons condutores elétricos (SILVEIRA, 1989). Por fim, os corpos-de-prova foram observados no microscópio eletrônico de varredura LEO 1430 VP, com aumentos de 200 X a 15.000 X (Figura 18).

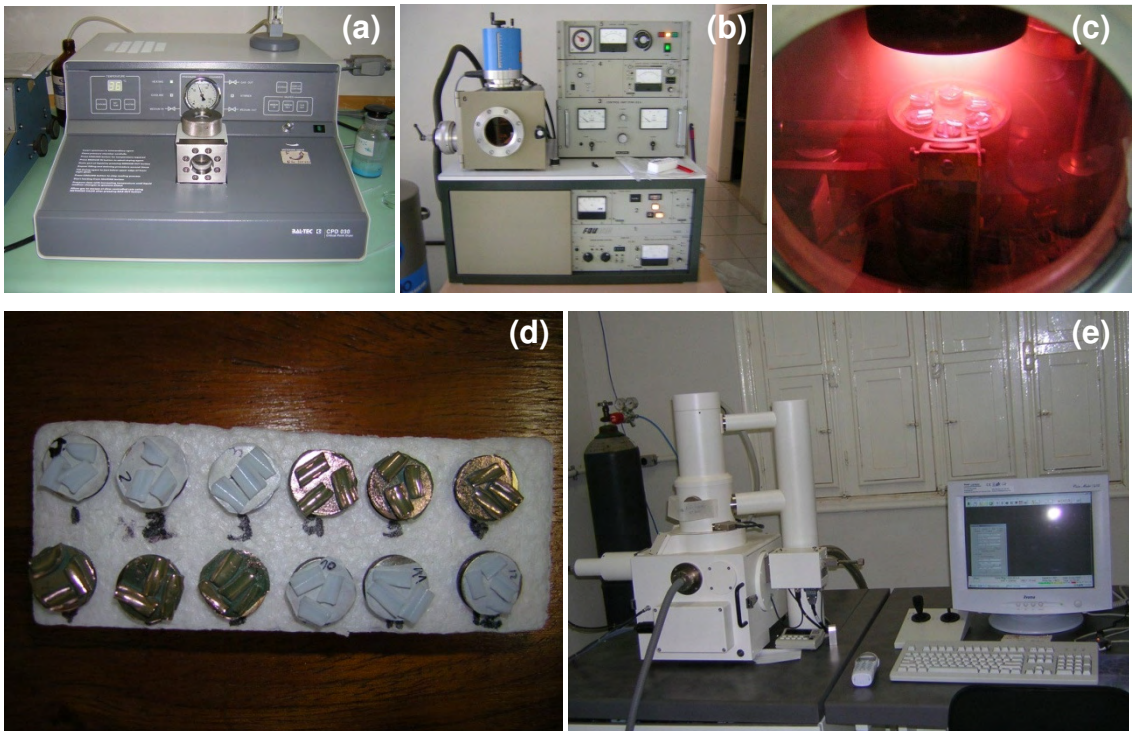


Figura 18 – Equipamentos e corpos-de-prova utilizados na análise de microscopia eletrônica de varredura: (a) secador de Ponto Crítico (*Critical Point Drye*) Balzers CPD 020; (b) metalizador *Balzers Union* FDU 010; (c) metalização dos corpos-de-prova com ouro; (d) corpos-de-prova da sonda de silicone sem metalização e cupons da sonda de poliuretano sem metalização de ouro; e (e) microscópio eletrônico de varredura LEO 1430 VP.

3.6. Análises dos resultados

A contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de *Staphylococcus* isolados do ar foi corrigida usando-se os dados de tabela específica do equipamento (MERCCK®, 2007). Os dados foram convertidos em logaritmo decimal e os resultados, expressos em log UFC.m⁻³ de ar, log UFC.mL⁻¹ de dieta, log UFC por mão, log UFC.cm⁻² e log UFC por cavidade nasal. Considerando que as sondas de poliuretano apresentavam área total de 298,58 cm² e a de silicone de 238,86 cm², as contagens de *Staphylococcus* sp. obtidas durante a etapa de isolamento e adesão por teste em uso simulado foram expressas também em UFC.cm⁻². O logaritmo decimal do número em UFC.m⁻³ das amostras de ar dos ambientes foi analisado por meio do teste t-Student, com tratamentos que envolviam dois ambientes – ar de CTI e ar da sala de preparo – e oito repetições de coleta, em um único hospital. O teste t-Student também foi empregado para analisar os resultados: (i) da contagem de *S. aureus* (log UFC.cm⁻²) após a adesão em teste de uso simulado, sendo dois tratamentos: sonda de silicone e poliuretano; e (ii) dos testes que forneceram a carga máxima (N) e a deformação (%) para cada corpo-de-prova, sondas de silicone e poliuretano, sendo sete repetições e dois tratamentos, nas temperaturas de 25 °C e 36 °C. Os resultados da contagem de estafilococos em mucosas nasais e sondas, depois da retirada dos pacientes, foram analisados por meio de intervalos de confiança de 95%. Os demais resultados da contagem de *Staphylococcus* sp. foram analisados de forma descritiva.

Os resultados da identificação bioquímica dos isolados de *Staphylococcus* foram interpretados de acordo com as recomendações do fabricante, utilizando-se o sistema de dados do API Web. Isolados com índice de confiabilidade menor do que 70% foram considerados como perfis inaceitáveis. O teste de *Cochran-Mantel-Haenszel* foi utilizado para verificar o perfil de distribuição da população de *Staphylococcus* identificada nos locais de isolamento.

Os halos de inibição aos antimicrobianos foram medidos e os resultados, avaliados de acordo com a tabela-padrão (CLSI, 2007).

A aplicação de diferentes testes estatísticos justificou-se em função dos diferentes números de tratamentos e graus de liberdade de cada experimento. O nível de significância adotado foi de 5%. As análises de variância foram realizadas utilizando-se procedimentos do programa *Statistical Analysis System* – SAS (1988).

Os ângulos de contato das superfícies das sondas, que caracterizaram a hidrofobicidade, foram analisados de acordo com a metodologia proposta por Adamson (1982), que classificou uma superfície hidrofílica como aquela cujo ângulo de contato seja menor que 50° ou hidrofóbica, aquela com ângulo de contato maior que 50°.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Enumeração e isolamento de *Staphylococcus* sp. em um hospital municipal

4.1.1. Ar de ambientes

Os logaritmos da contagem de *Staphylococcus* sp. no ar de ambientes do centro de terapia intensiva e da sala de preparo de nutrição enteral, suas médias e os respectivos desvios-padrão encontram-se na Tabela 6.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) no grau de contaminação por *Staphylococcus* sp. nas amostras de ar dos diferentes ambientes hospitalares (Tabela 6). A diferença na concentração de microrganismo nos diferentes ambientes hospitalares também foi demonstrada por um estudo realizado por Pereira et al. (2005). Esses pesquisadores quantificaram a concentração de bioaerossóis bacterianos viáveis em diferentes ambientes de um hospital do interior do Estado de São Paulo. Verificaram que, no ambiente externo ao hospital, a contagem de microrganismos viáveis foi de $1,90 \pm 0,6 \log \text{ UFC.m}^{-3}$ de ar; na unidade de terapia intensiva (UTI) para adulto, o valor encontrado foi de $2,20 \pm 1,9 \log \text{ UFC.m}^{-3}$ de ar; no centro cirúrgico, antes cirurgia ortopédica, único ambiente climatizado amostrado, a contagem foi de $1,90 \pm 1,4 \log \text{ UFC.m}^{-3}$ e, após a cirurgia, de $2,93 \pm 2,68 \log \text{ UFC.m}^{-3}$. Dentre os isolados, as espécies encontradas foram, entre outras,

Staphylococcus schleiferi, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus haemolyticus*.

Tabela 6 – Logaritmos da contagem de *Staphylococcus* sp. no ar de ambientes do Centro de Terapia Intensiva e da Sala de Preparo de Nutrição Enteral, suas médias e os respectivos desvios-padrão

Ar de Ambientes (log UFC.m ⁻³)		Desvios-Padrão
Centro de Terapia Intensiva	1,99	
	2,54	
	2,45	
	2,39	
	2,10	
	2,22	
	1,61	
	1,62	
Média ¹	2,15 a	0,36
Sala de Preparo de Nutrição Enteral	1,38	
	1,60	
	1,88	
	1,61	
	1,90	
	1,62	
	1,52	
	1,61	
Média ¹	1,64 b	0,17

¹ Diferença significativa a 5% de probabilidade, pelo teste *t-Student*.

Na legislação brasileira não existe padrão para a contagem de *Staphylococcus* sp. no ar de ambiente de salas para manipulação de dieta enteral em hospitais para sistema aberto de administração. Entretanto, existe a recomendação da APHA para que as contagens de mesófilos em ambientes de processamento de alimentos sejam de no máximo $9,0 \times 10^1$ UFC.m⁻³ (1,95 log UFC.m⁻³), quando a avaliação é feita pela técnica da impressão em ágar, e de $3,0 \times 10^1$ UFC.cm⁻².semana⁻¹ (1,48 log UFC.cm⁻².semana⁻¹), para a técnica de sedimentação simples (SVEUM et al., 1992). Adotando os níveis estabelecidos pela APHA, observou-se que o

resultado encontrado para a contagem de *Staphylococcus* sp. no ar da sala de preparo atendia às recomendações.

A presença de estafilococos no ar da sala de preparo da dieta pode contaminar os alimentos produzidos e, conseqüentemente, comprometer a saúde do paciente após a ingestão da dieta. Isso porque a dose de infecção de um patógeno é o número de organismos necessários para causar infecção. Teoricamente, um microrganismo em um ambiente com condições favoráveis para seu desenvolvimento pode se multiplicar suficientemente para causar uma doença. Assim, recomenda-se que em uma sala hospitalar não deve haver contagem de bioaerossóis bacterianos maior que 1,50 log UFC.m⁻³ no ar. Entretanto, durante uma cirurgia esse valor não deve exceder a 2,20 log UFC.m⁻³ (TANG et al., 2006). Considerando a contagem de bioaerossóis bacterianos de 1,50 log UFC.m⁻³ de ar, verificou-se que os resultados estão acima do recomendado.

Os resultados da contagem de *Staphylococcus* sp. evidenciaram que é necessária a implantação de práticas de desinfecção do ar e podem ser explicados pela presença de janelas abertas nos locais e falta de um sistema de climatização que garanta adequada renovação do ar do ambiente, principalmente no CTI. Segundo a Portaria n° 3.523, de 28 de agosto de 1998, do Ministério da Saúde, “medidas básicas referentes aos procedimentos de verificação visual do estado de limpeza, remoção de sujidades por métodos físicos e manutenção do estado de integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização”. Essas medidas visam garantir a qualidade do ar de interiores e prevenção de riscos à saúde dos ocupantes de ambientes climatizados. A unidade de terapia intensiva (UTI) é um dos locais de maior risco em um hospital (HARRIS et al., 1997) e, portanto, nesse ambiente são exigidos: pressão negativa, seis ou mais renovações do ar por hora, janelas seladas, fluxo do ar no sentido do ambiente limpo para o sujo e filtração do ar com eficiência superior a 90%. As áreas com os pacientes infectados são consideradas "sujas", tendo pressão negativa, ou seja, o ar retirado supera em 15% o fornecido. Quando ocorre a recirculação do ar, deve ser utilizado o filtro *High Efficiency Particulate Air* (HEPA). Assim, previne-se o escape do ar contaminado pelo

paciente para o restante do hospital e, também, reduz-se a concentração de microrganismos no interior da sala (STREIFEL, 1996; WHO, 2004).

Portanto, como parte integrante de um programa de segurança alimentar ou hospitalar, o ar de ambientes representa uma fonte de contaminação. Embora ainda não existam padrões oficiais na legislação brasileira para ar de ambientes hospitalares, a presença de estafilococos pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Esse fato evidencia a necessidade real de capacitação dos funcionários e criação de equipes de trabalho multidisciplinares que visem à implementação do sistema APPCC.

4.1.2. Manipuladores

As contagens de *Staphylococcus* sp. das mãos do manipulador da sonda (enfermeiro-chefe) foram todas inferiores que $1,0 \times 10^2$ UFC por mão. Esse resultado pode ser associado ao uso de luvas esterilizadas durante o procedimento da passagem da sonda, trocadas para cada paciente. Entretanto, em uma das contagens de estafilococos das mãos de um dos dois manipuladores de dieta obteve-se o valor de $2,0 \times 10^2$ UFC por mão (2,3 log UFC por mão), resultado esse acima daquele sugerido por Silva (1996), em que a contagem de *Staphylococcus* sp. não deve ultrapassar $1,5 \times 10^2$ UFC por mão (2,17 log UFC por mão) para manipuladores de alimentos em serviços de alimentação. Em ambientes hospitalares, contaminações por *S. aureus* em mãos de manipuladores é um motivo de preocupação. Kac et al. (2005) constataram a presença de *S. aureus* nas mãos de 12 profissionais da saúde, avaliados em um hospital, como componente da microbiota transiente antes e depois da higienização. Os demais resultados foram satisfatórios, com contagens menores que $1,0 \times 10^2$ UFC por mão, a justificativa pode ser atribuída ao fato de que, no início do preparo da dieta, o manipulador da dieta lavava as mãos com detergente e, em seguida, sanitizava com solução alcoólica 70 GL, além de ser orientado a respeito das Boas Práticas de Preparo da Nutrição Enteral. Segundo Anderton (1995), a infecção cruzada em hospitais ocorre principalmente via mãos, e a

conscientização sobre a importância da higienização das mãos é a forma mais efetiva de preveni-la.

A alta contagem de estafilococos constatada na mão de um dos manipuladores da dieta pode ser reduzida com a implementação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e com o sistema APPCC. A capacitação dos colaboradores responsáveis por todas as operações envolvidas, desde a manipulação da matéria-prima até a sua administração, pode resultar na diminuição das complicações referentes ao uso desse tipo de terapêutica dietética e, conseqüentemente, agir como agente redutor da ocorrência de processos infecciosos intra e, ou, extra-intestinais (SANTOS et al., 2004).

Esse fato pode ser comprovado pelo estudo realizado por Muniz (2005), que investigou a qualidade microbiológica de dietas artesanais, em pó e líquidas prontas para o uso, antes e após a implementação do sistema APPCC em um hospital universitário brasileiro. Verificou-se que a presença de *S. aureus* antes da implementação do sistema, nas mãos de manipuladores da dieta em um dos grupos de colaboradores, foi de 50%, enquanto após a implementação do sistema esse valor foi reduzido para 20%. No outro grupo de colaboradores, o valor anterior à implementação do sistema foi de 20% e passou para 0% após a implementação do sistema. A hipótese atribuída como causa da presença da bactéria nas mãos dos colaboradores foi o hábito que apresentavam de tocar as máscaras repetidas vezes, atitude que facilitava a contaminação cruzada, uma vez que o microrganismo também foi isolado da narina.

Guias da *Association for Professional in Infection Control and Epidemiology* (APIC) e do CDC recomendaram a limpeza e desinfecção das superfícies mais freqüentemente tocadas pelas mãos de funcionários do hospital e pacientes com maior periodicidade, por exemplo maçanetas, grades de leito e interruptores (MANGRAM et al., 1999; SEHULSTER et al., 2004; SIEGEL et al., 2007). Essas superfícies podem acarretar a contaminação das mãos de profissionais de saúde que podem transmitir patógenos potenciais, incluindo *S. aureus*, particularmente MRSA (CARVALHO, 2005). Superfícies em que o contato com as mãos é mínimo também devem ser higienizadas freqüentemente, pois há possibilidade de transmissão de patógenos por meio das mãos de profissionais de saúde

que, ao tocá-las, disseminam o microrganismo no ambiente hospitalar (WIDMER; FREI, 2003).

4.1.3. Mucosa nasal

A média das contagens em logaritmo (log UFC por cavidade nasal) de *Staphylococcus* sp. dos quatro pacientes (A, B, C e D) e seus intervalos de confiança de 95% são apresentados no Figura 19. Verificou-se que entre os pacientes A e D e entre C e D há diferença na contagem de *Staphylococcus* sp., uma vez que não houve sobreposição nos intervalos de confiança.

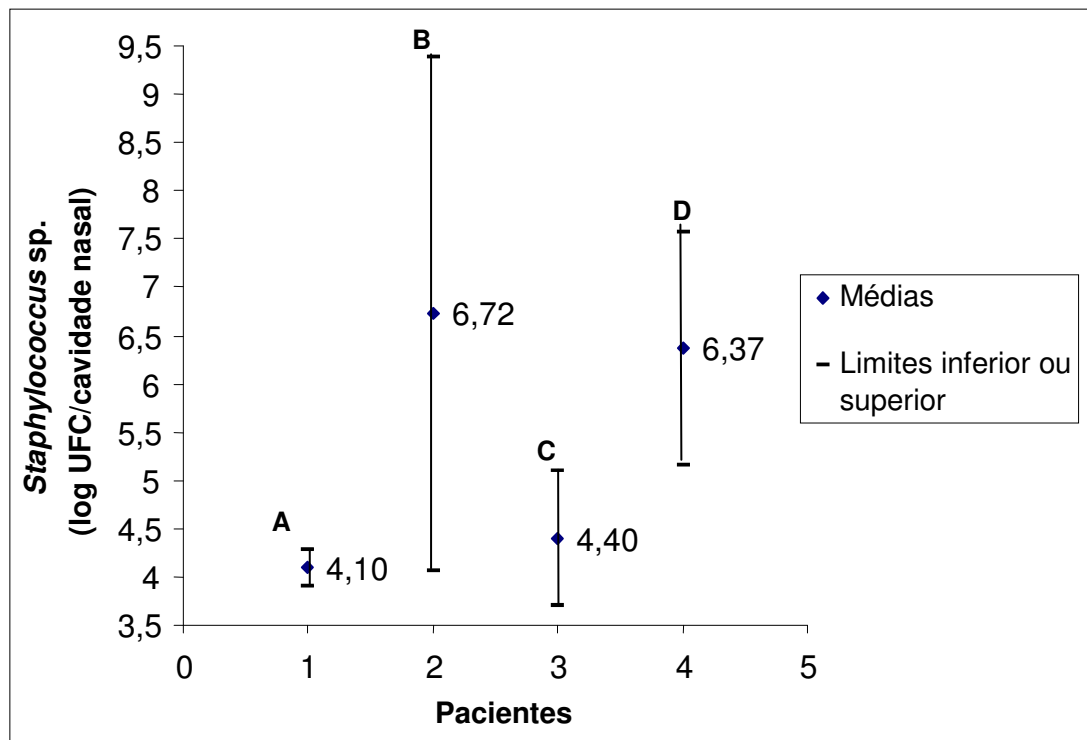


Figura 19 – Média das contagens de *Staphylococcus* sp. de cavidades nasais de quatro pacientes (A, B, C e D) e seus intervalos de confiança de 95%.

Os resultados evidenciaram que 100% dos pacientes apresentaram *Staphylococcus* sp. em suas cavidades nasais. O estudo das bactérias presentes nessa cavidade é importante, porque é um fator de risco de

infecção para o paciente e é um dos principais reservatórios de microrganismos no ambiente hospitalar (KLUITMANS et al., 1997). No total de 52 pacientes investigados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, oito (15,4%) estavam colonizados por *S. aureus* em suas cavidades nasais (CARVALHO, 2005). Yarıktas et al. (2007), por meio de um estudo, demonstraram um método de obtenção de cultura da microbiota nasal em pacientes com sinusite. Com o auxílio de um *swab* especial, isolaram da cavidade nasal de 35 adultos, com sinusite em estágio crônico, 58 estirpes, sendo 6 (10,34%) *S. aureus*, um dos patógenos mais associados a essas infecções (DAMM et al., 2004). *S. aureus* pode se propagar e se manter na cavidade nasal por longos períodos. Acredita-se que parte das infecções endógenas inicia-se com a transmissão de estafilococos para a mucosa nasal e, em seguida, com a colonização desse tecido, causando infecção em pacientes. Isso pode ser comprovado, pois, na maioria dos casos em que as vias aéreas superiores foram tratadas topicamente para eliminação da contaminação nasal, *S. aureus* também foi eliminado de outras partes do organismo. Dentre um dos compostos utilizados para esse procedimento, destacou-se a mupirocina, que eliminou essas bactérias da mucosa nasal, além de diminuir taxas de infecções estafilocócicas em pacientes que realizavam hemodiálise (PEÑA et al., 2004).

A colonização das narinas é também uma importante fonte de microrganismo na infecção cruzada, uma vez que promove a contaminação do ar e a deposição de partículas biológicas maiores que 5 µm de diâmetro sobre feridas cirúrgicas e superfícies (SHIOMORI et al., 2002).

4.1.4. Dieta

Os valores das contagens de *Staphylococcus* sp. em dietas do sistema fechado de administração foram menores que $1,0 \times 10^1$ UFC.mL⁻¹ (Tabela 7). Esses resultados eram esperados, uma vez que a nutrição enteral utilizada nesse sistema era esterilizada, sendo conectada diretamente ao equipo sem qualquer manipulação durante seu preparo e, assim, reduzindo a probabilidade de intoxicação e infecção alimentar.

Tabela 7 – Valores das contagens de *Staphylococcus* sp. em dietas enterais de sistema aberto e fechado de administração

Sistema de Administração da Dieta	Data/Hora (h) da coleta	Contagens de <i>Staphylococcus</i> (UFC.mL ⁻¹) ¹
Fechado	30/01/07 – 15:30	< 1,0.10 ¹
	30/01/07 – 15:30	< 1,0.10 ¹
	15/02/07 – 09:50	< 1,0.10 ¹
	15/02/07 – 09:50	< 1,0.10 ¹
	16/02/07 – 06:30	< 1,0.10 ¹
	16/02/07 – 06:30	< 1,0.10 ¹
	17/02/07 – 05:30	< 1,0.10 ¹
	17/02/07 – 05:30	< 1,0.10 ¹
	Aberto	07/02/07 – 12:35 ²
07/02/07 – 12:35 ²		1,0.10 ¹
07/02/07 – 17:00		< 1,0.10 ¹
07/02/07 – 17:00		< 1,0.10 ¹
08/02/07 – 08:01		< 1,0.10 ¹
08/02/07 – 08:01		< 1,0.10 ¹
08/02/07 – 12:35 ²		< 1,0.10 ¹
08/02/07 – 12:35 ²		1,0.10 ²
13/02/07 – 12:32 ²		< 1,0.10 ¹
13/02/07 – 12:32 ²		< 1,0.10 ¹
13/02/07 – 17:00		< 1,0.10 ¹
13/02/07 – 17:00		< 1,0.10 ¹
14/02/07 – 08:15		< 1,0.10 ¹
14/02/07 – 08:15		< 1,0.10 ¹
14/02/07 – 12:34 ²		< 1,0.10 ¹
14/02/07 – 12:34 ²	< 1,0.10 ¹	

¹Resultados em duplicata e ²horário de preparo da dieta.

Foram observadas também contagens de *Staphylococcus* sp. em dietas administradas em sistema aberto de 1,0x10¹ UFC.mL⁻¹ (1,00 log UFC.mL⁻¹) e de 1,0x10² UFC.mL⁻¹ (2,00 log UFC.mL⁻¹) (Tabela 7). Esse número pode ser atribuído a duas fontes de contaminação: a primeira, à contaminação do ar da sala de preparo, uma vez que a bactéria presente no ar em contato com alimento pode contaminá-lo; a segunda pode ter sido o manipulador, pois a bactéria foi isolada das mãos de um dos colaboradores responsáveis pelo preparo de uma das amostras de dieta contaminadas. Segundo Jay (2005), bactérias do gênero *Staphylococcus* tendem a ser

encontradas próximas a aberturas do corpo e superfícies da pele, a exemplo das narinas, axilas e áreas da virilha de humanos. Esse microrganismo causa intoxicação provocada pela ingestão de alimento contendo toxinas pré-formadas no alimento. As enterotoxinas estafilocócicas quando presentes no alimento ingerido possuem ação emética e diarréica no indivíduo, podendo debilitar ainda mais aqueles que já se apresentam doentes.

Ao comparar os sistemas de administração da nutrição enteral, pode-se perceber que o sistema fechado é o mais indicado, uma vez que a dieta não entra em contato com o manipulador e demais fontes de contaminação. Desport et al. (2004), estudando o risco de contaminação de dieta entérica de volume de 1,5 L quando conectadas a um sistema de nutrição enteral fechado, verificaram que esse sistema garantiu a segurança microbiológica, uma vez que a contaminação foi principalmente nas microbiotas oral e digestiva.

A contaminação de dietas enterais pode agravar o quadro clínico de pacientes hospitalizados, em especial quando estes recebem dietas por qualquer tipo de sondas e, assim, escapa de defesas naturais do organismo, como o pH gástrico. Uma pequena quantidade de patógenos entéricos pode ser inócua para a maioria das pessoas saudias, mas pode causar diarréia e até mesmo a morte de pacientes imunocomprometidos (MUNIZ, 2005). Por esse motivo que Mathus-Vliegen et al. (2000) recomendaram para pacientes críticos dietas enterais esterilizadas em razão do risco representado pelas complicações infecciosas se forem administradas dietas de sistemas abertos. Entretanto, considerando-se o baixo custo, as fórmulas artesanais e em pó são mais utilizadas na maioria dos hospitais brasileiros (MITNE et al., 2000).

4.1.5. Superfícies de preparo

As contagens de *Staphylococcus* do liquidificador utilizado no preparo das dietas foram todas (100%) menores que $1,0 \times 10^0$ UFC.cm⁻². Esse resultado pode ser atribuído à conscientização dos funcionários quanto à importância das práticas adequadas de higienização de superfícies

empregadas no preparo da dieta. Todos os dias antes do início do procedimento de homogeneização da dieta, o funcionário lavava o copo do liquidificador com detergente. Em seguida, após um enxágüe com água filtrada, adicionava ao liquidificador uma solução de hipoclorito de sódio a 250 mg.L^{-1} de cloro residual total, que era agitada por 2 min. A eficiência antibacteriana do hipoclorito de sódio é diretamente proporcional à quantidade de ácido hipocloroso presente na solução. Acredita-se que o cloro combine com as proteínas das membranas celulares, formando compostos que interferem no metabolismo celular (BOUCHER, 1979; ESTRELA, 2000). Silva Júnior (2002) recomendou, para sanitização, imergir o utensílio em 200 mg.L^{-1} por 15 min, procedimento diferente do realizado para a sanitização da superfície de preparo da dieta. A baixa contagem de *Staphylococcus* do liquidificador observada pode ser explicada pela adequada remoção de resíduos da superfície durante o procedimento de limpeza. A eficácia da higienização depende da ação mecânica, pois bactérias e outros microrganismos são suspensos pelos fluidos utilizados durante a etapa de limpeza, a exemplo da água e detergente, e removidos da superfície (PRÜSS et al., 1999). Shih et al. (1970), estudando *in vitro* a ação antibacteriana do hipoclorito de sódio 5,25% (Clorox) sobre *Streptococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* em canais radiculares de dentes, concluíram que o hipoclorito de sódio, nessa concentração, foi efetivo, mas eles sugeriram um medicamento intracanal para controlar o crescimento bacteriano.

Os resultados encontrados neste estudo diferem daqueles obtidos por Muniz (2005), que analisou a superfície de liquidificadores utilizados no preparo de dietas líquidas, em pó e artesanais, de dois grupos de manipuladores no hospital. Verificou que, antes da implementação do sistema APPCC, as contagens de bactérias mesófilas nessas superfícies foram de $1,7 \times 10^8 \text{ UFC.cm}^{-2}$, grupo 1, e de $4,6 \times 10^7 \text{ UFC.cm}^{-2}$, grupo 2, e, após a implementação, foram de $6,6 \times 10^4 \text{ UFC.cm}^{-2}$ e de $3,2 \times 10^6 \text{ UFC.cm}^{-2}$, para os respectivos grupos. Esse resultado indicou, portanto, que essas superfícies eram o principal ponto crítico de controle no preparo das dietas artesanais e em pó. Além disso, o pesquisador atribuiu a redução das

contagens de microrganismo da dieta em pó à ausência da utilização desse equipamento durante o preparo na fase após a implementação do APPCC.

Outros pesquisadores verificaram também a influência desse equipamento na contaminação de dietas enterais liquidificadas (KESSLER et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2000). Oliveira et al. (2000) e Bergami (2002) relataram que, mesmo após a implementação das Boas Práticas de Manipulação (BPM) e do sistema APPCC, houve contaminação significativa de dietas, o que associaram ao uso desse equipamento. Entretanto, Santos e Tondo (2000) acreditaram que, além de a contaminação desses alimentos ser associada ao uso de equipamentos e utensílios mal higienizados, pode ser proveniente também da matéria-prima, no caso de preparações sem tratamento térmico, o que evidencia a necessidade de melhorias nas BPM.

4.1.6. Sondas

Na Figura 20 são apresentados os intervalos de confiança (95%) dos logaritmos das contagens de estafilococos ($\log \text{UFC.cm}^{-2}$) presentes em sondas após a sua retirada dos quatro pacientes. Foram observadas contagens de *Staphylococcus* que variaram entre 6,88 $\log \text{UFC.cm}^{-2}$ no paciente D e 7,38 $\log \text{UFC.cm}^{-2}$ no paciente A. Verificou-se que os intervalos de confiança sobrepuseram-se e, portanto, as contagens de estafilococos isolados das sondas apresentaram-se dentro dos limites inferior e superior de A, pelo fato de ser o maior valor do intervalo de confiança.

Em outro estudo, Mehall et al. (2002) observaram, também, crescimento de bactérias, dentre elas do gênero *Staphylococcus*, da porção extracorporal de sondas de alimentação enteral utilizadas em crianças. Observaram uma concentração média de bactérias inferior em relação aos resultados obtidos neste trabalho, 10^5 unidades formadoras de colônia, sendo isoladas três espécies bacterianas por tubo. De 125 sondas recolhidas, apenas oito não apresentaram crescimento microbiano. Foram isoladas 23 estirpes de *S. aureus*, sendo 12 dessas MRSA, portanto demonstrando que esses dispositivos são reservatórios de bactérias resistentes a antibióticos.

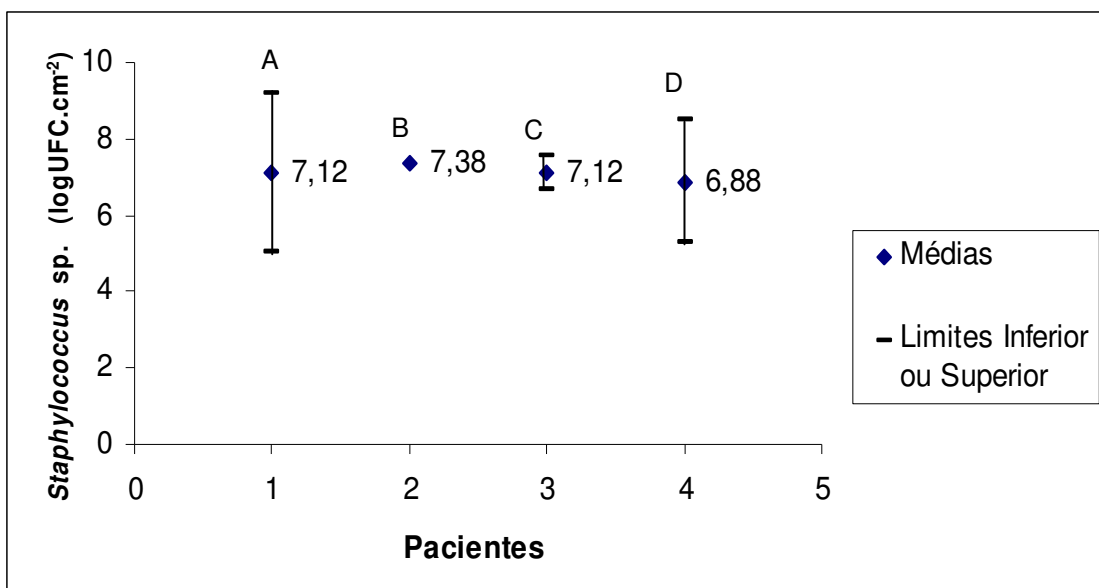


Figura 20 – Intervalo de confiança de 95% do logaritmo da contagem de *Staphylococcus* sp. presente em sondas após a utilização em quatro pacientes de diferentes sistemas de administração da dieta. Não há intervalo para B, uma vez que o valor das contagens foram as mesmas.

Daule et al. (2003) isolaram e identificaram bactérias de cateteres de silicone para gastrostomia. Verificaram que, dentre os 100 isolados, prevaleceram cocos Gram-positivos, principalmente *S. aureus*. A microbiota isolada foi capaz de formar biofilme, e o seu crescimento foi associado às complicações de saúde do paciente e à deterioração dos dispositivos, levando, conseqüentemente, à sua remoção. Fatores como tipo das formulações enterais, antibióticos e outros medicamentos, características da superfície de silicone e microbiota presente na pele, também contribuíram para a formação do biofilme bacteriano. Além do crescimento bacteriano, fungos foram isolados. Esses microrganismos, quando associados a biofilmes bacterianos, podem aumentar a destruição do dispositivo pelo possível metabolismo de componentes do silicone e também conduzir à formação de tecido de granulação. Os referidos autores relataram que minimizar a formação de biofilme deve ser uma meta crítica no *design* e seleção de biomateriais para novos dispositivos enterais, pois o uso de

sonda nasogástrica mostrou-se associação com infecção hospitalar (TOUFEN et al., 2003).

4.2. Purificação e identificação bioquímica dos isolados

Foi obtido um total de 151 isolados do gênero *Staphylococcus*. Consideraram-se típicas as colônias negras e lustrosas, devido à precipitação de telurito de potássio e halo de clarificação, em função da atividade da lecitinase, e as colônias negras, opacas e sem halo foram consideradas atípicas (MARTIN et al., 2001).

De 151 isolados, 42 (27,81%) foram provenientes do ar do CTI, 42 (27,81%) de fossas de quatro pacientes, 42 (27,81%) de sondas, sendo 20 (13,25%) de poliuretano e 22 (14,56%) de silicone, 21 (13,90%) de ar da sala de preparo de dietas, 2 (13,24%) da dieta, 2 (13,24%) das mãos dos manipuladores das dietas, e nenhum isolado foi obtido a partir das superfícies do liquidificador e do manipulador da sonda. Do total de isolados, 60,26% foram coagulase positivos e 39,74%, coagulase negativos. Dentre os isolados de dieta, apenas um (50%) era coagulase positivo e identificado como *S. aureus*. Esse resultado observado na contagem de *S. aureus*, coagulase positiva, em dietas encontrou-se dentro do padrão legal (BRASIL, 2000). A administração de fórmulas eventualmente contaminadas pode causar distúrbios gastrintestinais e colocar em risco a saúde do paciente. Muniz (2005) também observou que dietas enterais podem ser contaminadas por *S. aureus* e que a contaminação desse alimento pode ser reduzida ou eliminada com a implementação do sistema APPCC. Esse pesquisador verificou que, antes da implementação dessa ferramenta de gestão da qualidade, foram observadas contagens de *S. aureus* maiores do que o padrão legal (BRASIL, 2000) em 37,5% das dietas artesanais e 25,0% das dietas em pó manipuladas por um dos dois grupos de funcionários. Esse resultado foi atribuído à porcentagem de manipuladores portadores da bactéria nas narinas e mãos, 100% e 50%, respectivamente. Porém, após a implementação, apenas em algumas amostras de dietas em pó (12,5%) os resultados não foram condizentes com o padrão legal (BRASIL, 2000).

Dentre os 151 isolados de *Staphylococcus*, apenas 100 foram submetidos à identificação bioquímica, empregando-se o *kit* API Staph da BioMérieux®. Dentre os 100 isolados submetidos aos testes bioquímicos pelo *kit* API Staph, um isolado não apresentou perfil de identificação e 17 exibiram índice de confiança menor que 70%, sendo, portanto, esses 18 isolados considerados perfis inaceitáveis. Os 99 isolados com perfil aceitável de identificação foram avaliados de acordo com a formação do halo de β -hemólise em ágar-sangue acrescido de 5% de sangue de carneiro. Verificou-se que 76,8% dos isolados foram capazes de sintetizar a hemolisina, o que indicou uma característica de virulência. A Figura 21 indica a presença do halo de β -hemólise em um isolado de *S. aureus*.

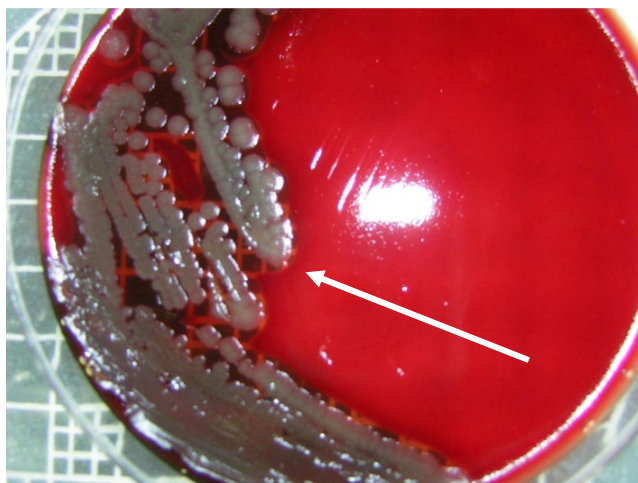


Figura 21 – Halo de β -hemólise em um isolado de *S. aureus*.

De um total de 32 espécies de estafilococos relacionadas por *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (HOLT et al., 1994), sete (21,87%) foram isoladas. Conforme apresentado, *S. aureus* foi a espécie mais freqüente dentre as estirpes isoladas (52,44%), estando presente em maior porcentagem em sondas nasoenterais (28,05%) (Tabela 9).

Tabela 9 – Perfil de distribuição dos isolados de *Staphylococcus* spp. identificados pelo API Staph nos locais de isolamento

Espécie	Local						
	Freqüência ¹ Porcentagem ²	Ar CTI	Ar Sala de Preparo de Dieta	Dieta	Mucosa Nasal	Manipulador (copeira)	Sonda
<i>S. aureus</i>	7 ¹ 8,54 ²	1 1,22	1 1,22	10 12,20	1 1,22	23 28,05	43 52,44
<i>S. chromogenes</i>	2 2,44	0 0,00	0 0,00	1 1,22	0 0,00	1 1,22	4 4,88
<i>S. cohnii</i> spp. <i>cohnii</i>	0 0,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00	1 1,22	1 1,22
<i>S. epidermidis</i>	3 3,66	2 2,44	0 0,00	3 3,66	0 0,00	1 1,22	9 10,98
<i>S. lentus</i>	0 0,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00	0 0,00	1 1,22	1 1,22
<i>S. saprophyticus</i>	0 0,00	1 1,22	0 0,00	0 0,00	0 0,00	1 1,22	2 2,44
<i>S. xylosus</i>	2 2,44	6 7,32	1 1,22	5 6,10	0 0,00	8 8,76	22 26,83
Total	14 ³ 17,07 ⁴	10 12,20	2 2,44	22 22,22	1 1,22	36 43,90	82 100

¹ Número de isolados identificados de determinada espécie pelo *kit* API Staph.

² Porcentagem de isolados de uma espécie em relação aos 82 isolados identificados.

³ Somatório de microrganismos presentes no local de isolamento em relação aos 82 isolados identificados.

⁴ Porcentagem de microrganismos presentes no local de isolamento.

Observação: Na tabela não apareceram os resultados para manipulador das sondas (enfermeiro-chefe) e liquidificador, porque nenhuma espécie foi isolada desses locais. Consideraram-se isolados com valores de índice de confiança maior que 70%. A distribuição de isolados foi homogênea, a 5% de probabilidade, pelo teste de Cochran-Mantel-Haenszel.

Os resultados deste estudo foram diferentes dos observados por Szewczyk et al. (2000), uma vez que não isolaram *S. aureus* em maior frequência no ambiente hospitalar e em pacientes infantis. A espécie de *S. cohnii* (44%) foi mais freqüente, seguida por *S. epidermidis* (23%), *S. hominis* (12%), *S. haemolyticus* (10%), *S. hominis* (12%), *S. lugdunensis* (2%), *S. saprophyticus* (3%) e *S. warneri* (1%). De crianças internadas, eles isolaram com maior frequência *S. epidermidis* (59%), e *S. aureus* foi o terceiro microrganismo (11%).

A distribuição das espécies identificadas foi homogênea em relação ao local de coleta ($p>0,05$), ou seja, apresentou distribuição independentemente do local de isolamento. Esta análise justifica o isolamento de diferentes espécies de *Staphylococcus* spp., indiferentemente do local ou alimento analisado no hospital (Tabela 9).

Foram identificadas cinco espécies de *Staphylococcus* do ar dos ambientes, com prevalência das espécies *S. aureus* (33,33%), *S. xylosus* (33,33%) e *S. epidermidis* (20,83%). Esse resultado indicou a importância do ar como veiculador de espécies de estafilococos.

Nenhum isolado foi obtido da superfície de preparo (liquidificador) e das mãos do enfermeiro-chefe, responsável pela passagem das sondas. Porém, isolou-se *S. aureus* das mãos de um dos colaboradores (1,22%) responsáveis pelo preparo da dieta. Apesar de a frequência dessas bactérias ser baixa no alimento e nas mãos, ao encontrar condições favoráveis de crescimento elas podem multiplicar-se e sintetizar toxinas, que podem agravar o quadro clínico do paciente. Isolou-se também de dietas *S. xylosus* (1,22%).

Santos e Tondo (2000) encontraram resultados diferentes ao analisarem 25 formulações enterais produzidas no Hospital das Clínicas de Porto Alegre, RS. Verificaram que 11 (44%) das 25 amostras apresentaram contagens inaceitáveis de *S. epidermidis* e sete (28%) de *Streptococcus* spp.

Observou-se (Tabela 9) que as sete espécies identificadas estavam presentes nas sondas e, portanto, representando um reservatório do microrganismo. Estudos têm relacionado a colonização da orofaringe de pacientes por bactérias patogênicas à conseqüente formação de biofilme em sondas nasogástricas (LEIBOVITZ et al., 2003a; LEIBOVITZ et al., 2003b).

Segal et al. (2006) concluíram, em seus estudos, que a presença desses dispositivos aumenta a ocorrência de pneumonia nos pacientes, além de ser relacionada à alta prevalência e similaridade entre a microbiota patogênica na orofaringe e no estômago. Para comprovação desses resultados, foram isoladas bactérias colonizadoras do estômago, por meio da coleta de suco gástrico, e da orofaringe. *S. aureus* foi isolado de 19% da orofaringe e de 6% do suco gástrico de 107 amostras de 52 pacientes. A possível explicação para esse resultado é a transferência bidirecional de bactérias entre o estômago e a orofaringe, principalmente associada à ocorrência de refluxos.

4.3. Teste de sensibilidade a antibióticos

Quarenta e oito isolados, sendo no mínimo um de cada espécie, com índice de confiança maior que 80%, foram selecionados das 100 estirpes identificadas, para avaliação do perfil de sensibilidade aos antibióticos. A Tabela 10 indica a suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de hospital a agentes antimicrobianos mais utilizados no CTI. A frequência e porcentagem de suscetibilidade dos microrganismos a cada agente antimicrobiano encontram-se na Tabela 11.

Verifica-se, na Tabela 11, que houve maior porcentagem de isolados resistentes do que sensíveis aos antibióticos. Os microrganismos foram mais sensíveis ao antimicrobiano imipenem (91,6%). Este composto é co-administrado com cilastatina, para diminuir a sua nefrotoxicidade, e apresenta amplo espectro de ação. A excelente atividade antimicrobiana demonstrada pelos carbapenêmicos pode ser atribuída à rápida penetração do antimicrobiano na célula bacteriana e associada ao fato de esse antibiótico ser um inibidor enzimático, possuindo grande afinidade às proteínas de fixação das penicilinas, o que causa lise bacteriana (REESE et al., 2002). Na Figura 22 é apresentado o perfil de sensibilidade de um isolado 125 de *S. aureus* aos antibióticos.

Tabela 10 – Suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de ambiente hospitalar aos principais agentes antimicrobianos utilizados no CTI

Número do Isolado	Bactéria Isolada	Diâmetro dos Halos de Inibição (cm) ¹									
		AMI	APS	CAZ	CIP	CLA	CLI	CRO	IMP	OXA	VAN ³
7	<i>S. aureus</i>	1,8 ¹ (S) ²	1,2 (I)	1,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,8 (R)	5,2 (S)	0,0 (R)	1,0 (-)
8	<i>S. aureus</i>	1,8 (S)	1,6 (S)	1,4 (R)	2,2 (S)	0,6 (R)	2,2 (S)	1,2 (R)	4,2 (S)	1,8 (S)	1,0 (-)
10	<i>S. aureus</i>	1,6 (I)	1,4 (I)	2,2 (S)	2,0 (I)	0,0 (R)	0,0 (R)	2,0 (I)	1,8 (S)	0,6 (R)	1,2 (-)
15	<i>S. aureus</i>	1,0 (R)	0,6 (R)	1,2 (R)	1,6 (I)	0,4 (R)	1,8 (I)	2,0 (I)	3,6 (S)	1,0 (R)	0,8 (-)
18	<i>S. aureus</i>	1,0 (R)	0,8 (R)	1,0 (R)	0,0 (R)	0,4 (R)	0,0 (R)	1,6 (I)	1,8 (S)	1,4 (S)	0,8 (-)
21	<i>S. aureus</i>	0,2 (R)	1,2 (I)	1,0 (R)	3,0 (S)	0,8 (R)	3,4 (S)	0,0 (R)	5,2 (S)	2,0 (S)	0,0 (-)
24	<i>S. aureus</i>	1,0 (R)	1,2 (I)	1,6 (I)	2,0 (I)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,8 (I)	4,0 (S)	1,4 (S)	1,0 (-)
27	<i>S. aureus</i>	2,2 (S)	2,0 (S)	1,8 (S)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	2,8 (S)	3,0 (S)	0,4 (R)	1,2 (-)
66	<i>S. aureus</i>	1,2 (R)	2,4 (S)	3,0 (S)	0,0 (R)	0,4 (R)	1,0 (R)	1,2 (R)	5,4 (S)	2,0 (S)	0,8 (-)

¹ Diâmetro dos halos de inibição em cm.

² Escala de suscetibilidade: (S) sensível, (I) intermediário e (R) resistente.

³ O perfil de sensibilidade à vancomicina dos isolados que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

AMI (amicacina), APS (ampicilina+sulbactam), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacina), CLA (claritromicina), CLI (clindamicina), CRO (ceftriaxona), IMP (imipenem), OXA (oxacilina) e VAN (vancomicina).

Tabela 10a – Suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de ambiente hospitalar aos principais agentes antimicrobianos utilizados no CTI

Número do Isolado	Bactéria Isolada	Diâmetro dos Halos de Inibição (cm) ¹									
		AMI	APS	CAZ	CIP	CLA	CLI	CRO	IMP	OXA	VAN ³
77	<i>S. aureus</i>	1,2 ¹ (R) ²	1,4 (I)	0,6 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,2 (R)	2,0 (S)	0,0 (R)	1,0 (-)
80	<i>S. aureus</i>	0,8 (R)	0,8 (R)	0,8 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,6 (I)	2,8 (S)	0,0 (R)	0,8 (-)
120	<i>S. aureus</i>	0,0 (R)	1,4 (I)	1,2 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,6 (I)	3,6 (S)	1,6 (S)	0,0 (-)
125 ⁴	<i>S. aureus</i>	1,0 (R)	1,0 (R)	0,2 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,4 (R)	2,2 (S)	0,6 (R)	1,0 (-)
129	<i>S. aureus</i>	0,8 (R)	0,6 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,4 (R)	2,0 (S)	0,0 (R)	0,8 (-)
133	<i>S. aureus</i>	0,4 (R)	0,6 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,6 (R)	1,8 (S)	0,0 (R)	0,8 (-)
135	<i>S. aureus</i>	0,8 (R)	0,4 (R)	0,2 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,8 (R)	2,2 (S)	0,0 (R)	1,2 (-)
143	<i>S. aureus</i>	0,6 (R)	0,8 (R)	0,8 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,8 (I)	3,2 (S)	1,4 (S)	1,0 (-)
147	<i>S. aureus</i>	0,6 (R)	0,6 (R)	0,8 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,0 (R)	3,0 (S)	0,0 (R)	0,8 (-)

¹ Diâmetro dos halos de inibição em cm.

² Escala de suscetibilidade: (S) sensível, (I) intermediário e (R) resistente.

³ O perfil de sensibilidade à vancomicina dos isolados que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

⁴ Estirpe selecionada para o teste de adesão.

AMI (amicacina), APS (ampicilina+sulbactam), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacina), CLA (claritromicina), CLI (clindamicina), CRO (ceftriaxona), IMP (imipenem), OXA (oxacilina) e VAN (vancomicina).

Tabela 10b – Suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de ambiente hospitalar aos principais agentes antimicrobianos utilizados no CTI

Número do Isolado	Bactérias Isoladas	Diâmetro dos Halos de Inibição (cm) ¹									
		AMI	APS	CAZ	CIP	CLA	CLI	CRO	IMP	OXA	VAN ³
164	<i>S. aureus</i>	0,8 ¹ (R) ²	0,6 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,4 (I)	3,2 (S)	1,2 (I)	0,2 (-)
165	<i>S. aureus</i>	0,6 (R)	2,0 (S)	0,6 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,8 (I)	4,2 (S)	1,2 (I)	1,0 (-)
166	<i>S. aureus</i>	0,0 (R)	1,2 (I)	0,8 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,8 (R)	2,6 (S)	0,0 (R)	0,0 (-)
169	<i>S. aureus</i>	0,8 (R)	1,0 (R)	0,8 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,8 (R)	1,6 (S)	0,2 (R)	0,8 (-)
41	<i>S. chromogenes</i>	2,0 (S)	0,8 (R)	1,2 (R)	2,2 (S)	1,8 (S)	1,4 (R)	1,0 (R)	3,2 (S)	0,2 (R)	1,4 (-)
47	<i>S. chromogenes</i>	1,8 (S)	2,2 (S)	1,0 (R)	1,8 (I)	1,4 (I)	1,4 (R)	1,4 (I)	2,6 (S)	0,8 (R)	1,2 (-)
156	<i>S. chromogenes</i>	0,6 (R)	0,8 (R)	0,4 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,0 (R)	2,8 (S)	0,8 (R)	1,0 (-)
76	<i>S. cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i>	1,4 (R)	1,2 (I)	1,2 (R)	1,6 (I)	1,4 (I)	0,8 (R)	0,8 (R)	2,4 (S)	0,0 (R)	0,6 (-)

¹ Diâmetro dos halos de inibição em cm.

² Escala de suscetibilidade: (S) sensível, (I) intermediário e (R) resistente.

³ O perfil de sensibilidade à vancomicina dos isolados que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

AMI (amicacina), APS (ampicilina+sulbactam), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacina), CLA (claritromicina), CLI (clindamicina), CRO (ceftriaxona), IMP (imipenem), OXA (oxacilina) e VAN (vancomicina).

Tabela 10c – Suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de ambiente hospitalar aos principais agentes antimicrobianos utilizados no CTI

Número do Isolado	Bactérias Isoladas	Diâmetro dos Halos de Inibição (cm) ¹									
		AMI	APS	CAZ	CIP	CLA	CLI	CRO	IMP	OXA	VAN ³
56	<i>S. epidermidis</i>	1,2 ¹ (R) ²	0,8 (R)	0,0 (R)	1,6 (I)	1,0 (R)	1,0 (R)	0,8 (R)	3,0 (S)	0,0 (R)	0,8 (-)
74	<i>S. epidermidis</i>	1,4 (R)	1,4 (I)	1,2 (R)	1,6 (I)	0,4 (R)	0,8 (R)	1,8 (I)	1,6 (S)	0,4 (R)	0,0 (-)
88	<i>S. epidermidis</i>	1,2 (R)	1,6 (S)	1,0 (R)	3,4 (S)	0,4 (R)	1,4 (R)	1,6 (I)	4,6 (S)	1,6 (R)	0,0 (-)
99	<i>S. epidermidis</i>	1,8 (S)	1,0 (R)	1,0 (R)	0,6 (R)	0,0 (R)	0,0 (R)	1,4 (I)	1,2 (R)	0,2 (R)	0,8 (-)
107	<i>S. epidermidis</i>	2,0 (S)	2,2 (S)	0,8 (R)	2,0 (I)	1,6 (I)	2,6 (S)	1,0 (R)	1,0 (R)	1,2 (R)	1,2 (-)
151	<i>S. epidermidis</i>	0,8 (R)	0,4 (R)	2,0 (S)	2,0 (I)	2,2 (S)	1,8 (I)	2,8 (S)	4,6 (S)	3,2 (S)	1,2 (-)
121	<i>S. lentus</i>	1,2 (R)	1,6 (S)	2,0 (S)	1,8 (I)	0,6 (R)	0,6 (R)	2,4 (S)	1,4 (I)	0,4 (R)	0,0 (-)
89	<i>S. saprophyticus</i>	0,8 (R)	0,6 (R)	0,0 (R)	1,6 (I)	1,8 (S)	1,2 (R)	0,0 (R)	4,0 (S)	0,0 (R)	1,2 (-)
23	<i>S. xylosus</i>	1,8 (S)	0,8 (R)	0,0 (R)	2,2 (S)	2,2 (S)	0,6 (R)	1,0 (R)	1,8 (S)	0,0 (R)	1,0 (-)

¹ Diâmetro dos halos de inibição em cm.

² Escala de suscetibilidade: (S) sensível, (I) intermediário e (R) resistente.

³ O perfil de sensibilidade à vancomicina dos isolados que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

AMI (amicacina), APS (ampicilina+sulbactam), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacina), CLA (claritromicina), CLI (clindamicina), CRO (ceftriaxona), IMP (imipenem), OXA (oxacilina) e VAN (vancomicina).

Tabela 10d – Suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de ambiente hospitalar aos principais agentes antimicrobianos utilizados no CTI

Número do Isolado	Bactérias Isoladas	Diâmetro dos Halos de Inibição (cm) ¹									
		AMI	APS	CAZ	CIP	CLA	CLI	CRO	IMP	OXA	VAN ³
25	<i>S. xylosus</i>	1,8 ¹ (S) ²	2,6 (S)	0,8 (R)	1,8 (I)	1,8 (S)	1,2 (R)	1,6 (I)	3,4 (S)	1,6 (R)	1,2 (-)
32	<i>S. xylosus</i>	0,8 (R)	1,4 (I)	1,4 (R)	1,8 (I)	0,2 (R)	1,6 (I)	2,2 (S)	1,4 (S)	1,6 (R)	1,6 (S)
35	<i>S. xylosus</i>	1,6 (I)	2,6 (S)	1,0 (R)	1,8 (I)	1,6 (I)	1,4 (R)	1,8 (I)	3,0 (S)	1,2 (R)	0,6 (-)
42	<i>S. xylosus</i>	1,6 (I)	2,2 (S)	1,0 (R)	1,2 (R)	1,8 (S)	1,4 (R)	1,8 (I)	3,6 (S)	1,2 (R)	1,0 (-)
52	<i>S. xylosus</i>	1,8 (S)	2,6 (S)	0,8 (R)	1,8 (I)	1,8 (S)	1,6 (I)	1,8 (I)	3,2 (S)	1,4 (R)	1,2 (-)
54	<i>S. xylosus</i>	2,0 (S)	1,4 (I)	1,0 (R)	2,2 (S)	0,6 (R)	0,6 (R)	2,0 (I)	1,4 (I)	0,4 (R)	1,0 (-)
55	<i>S. xylosus</i>	2,2 (S)	1,4 (I)	1,0 (R)	1,8 (I)	1,6 (I)	1,4 (R)	1,8 (I)	3,0 (S)	1,4 (R)	1,4 (-)
59	<i>S. xylosus</i>	0,8 (R)	1,2 (I)	0,0 (R)	2,0 (I)	2,8 (S)	2,4 (S)	0,8 (R)	2,2 (S)	0,6 (R)	1,2 (-)
60	<i>S. xylosus</i>	0,6 (R)	1,6 (S)	0,4 (R)	2,0 (I)	0,4 (R)	1,8 (I)	0,4 (R)	4,4 (S)	1,8 (S)	0,4 (-)

¹ Diâmetro dos halos de inibição em cm.

² Escala de suscetibilidade: (S) sensível, (I) intermediário e (R) resistente.

³ O perfil de sensibilidade à vancomicina dos isolados que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

AMI (amicacina), APS (ampicilina+sulbactam), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacina), CLA (claritromicina), CLI (clindamicina), CRO (ceftriaxona), IMP (imipenem), OXA (oxacilina) e VAN (vancomicina).

Tabela 10e – Suscetibilidade das estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de ambiente hospitalar aos principais agentes antimicrobianos utilizados no CTI

Número do Isolado	Bactérias Isoladas	Diâmetro dos Halos de Inibição (cm) ¹									
		AMI	APS	CAZ	CIP	CLA	CLI	CRO	IMP	OXA	VAN ³
67	<i>S. xylosus</i>	1,8 ¹ (S) ²	1,0 (R)	0,2 (R)	2,0 (I)	2,0 (S)	1,6 (I)	1,6 (I)	2,4 (S)	1,4 (R)	1,0 (-)
72	<i>S. xylosus</i>	1,8 (S)	2,0 (S)	1,0 (R)	0,4 (R)	0,0 (R)	0,4 (R)	1,6 (I)	2,2 (S)	0,8 (R)	1,0 (-)
103	<i>S. xylosus</i>	2,4 (S)	0,8 (R)	1,4 (R)	2,0 (I)	1,2 (R)	0,8 (R)	1,0 (R)	2,4 (S)	0,2 (R)	0,8 (-)
160	<i>S. xylosus</i>	3,2 (S)	4,2 (S)	1,2 (R)	3,8 (S)	2,2 (S)	1,8 (I)	2,8 (S)	5,2 (S)	1,8 (S)	1,0 (-)

¹ Diâmetro dos halos de inibição em cm.

² Escala de suscetibilidade: (S) sensível, (I) intermediário e (R) resistente.

³ O perfil de sensibilidade à vancomicina dos isolados que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

AMI (amicacina), APS (ampicilina+sulbactam), CAZ (ceftazidima), CIP (ciprofloxacina), CLA (claritromicina), CLI (clindamicina), CRO (ceftriaxona), IMP (imipenem), OXA (oxacilina) e VAN (vancomicina).

Tabela 11 – Porcentagem e frequência da suscetibilidade dos isolados de *Staphylococcus* spp. de hospital a cada agente antimicrobiano

Antimicrobiano	Perfil			
	Resistente	Intermediário	Sensível	Total
Número de microrganismo ¹ Porcentagem (%) ²				
Amicacina	29 ¹ 60,4 ²	3 6,3	16 33,3	48
Ceftazidima	42 87,5	1 2,1	5 10,4	48
Ceftriaxona	22 45,8	21 43,8	5 10,4	48
Ciprofloxacina	21 43,8	20 41,7	7 14,6	48
Claritromicina	33 68,8	5 10,4	10 20,8	48
Clindamicina	37 77,1	6 12,5	5 10,4	48
Imipinem	2 4,2	2 4,2	44 91,6	48
Oxacilina	36 75,0	2 4,2	10 20,8	48
Sultamicilina	20 41,7	13 27,1	15 31,3	48
Vancomicina	-	-	1 2,1	1 ⁵
Total	242 ³ 55,9 ⁴	73 16,9	118 27,2	433 ⁶ 100,00

¹ Número de microrganismo resistente, ou intermediário ou sensível.

² Porcentagem de microrganismo resistente, ou intermediário ou sensível em relação a 48 isolados.

³ Somatório de isolados resistentes, ou intermediários, ou sensíveis em relação a 480 testes.

⁴ Porcentagem de isolados resistentes, ou intermediários, ou sensíveis em 480 testes.

⁵ O perfil de resistência dos 47 isolados à vancomicina que apresentaram halo inferior a 15 mm deverá ser estabelecido pelo teste de dose inibitória mínima (CLSI, 2007).

⁶ Total de testes com resultados do perfil de sensibilidade dos isolados.

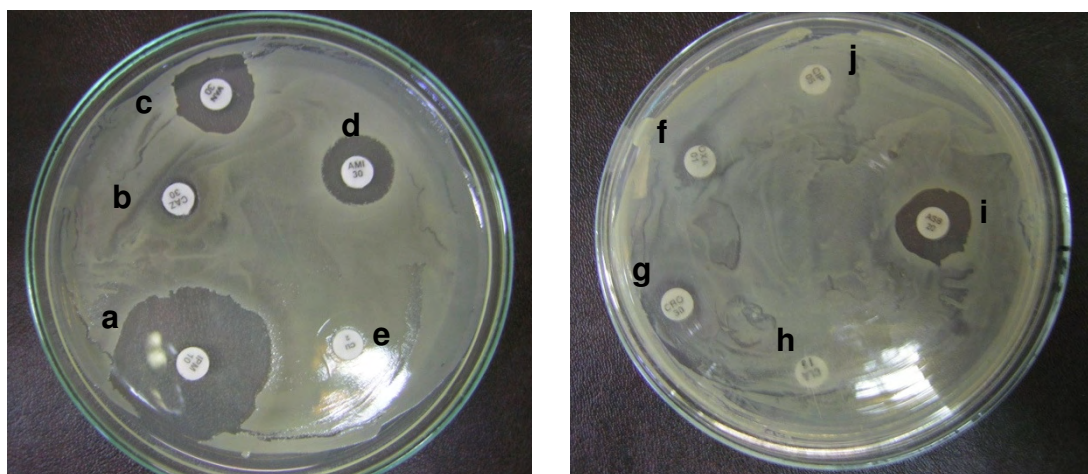


Figura 22 – Perfil de sensibilidade do isolado de código 125 (*S. aureus*) aos antimicrobianos: (a) imipenem, (b) ceftazidima, (c) vancomicina, (d) amicacina, (e) clindamicina, (f) oxacilina, (g) ceftriaxona, (h) claritromicina, (i) sultamicilina e (j) ciprofloxacina.

Observou-se baixa porcentagem de isolados resistentes (Tabela 11) ao carbapenêmico imipenem; as estirpes resistentes foram da espécie *S. epidermidis* (Tabela 10c). Segundo Reese et al. (2002), *S. aureus* MRSA e espécies coagulase negativa deste gênero são resistentes a esse antibiótico. Tal comportamento pode ocorrer por causa da síntese de um tipo específico de enzima que hidrolisa esses antimicrobianos, conhecidos como metalo-beta-lactamases, ou, então, pela modificação nas porinas da parede celular bacteriana que reduzem a permeabilidade para a entrada da droga no interior da bactéria. Em algumas espécies, os dois mecanismos podem estar presentes. A codificação do DNA para a produção de enzimas pode ser passada de bactéria para bactéria via plasmídios ou ocorrer pela mutação de uma beta β -lactamase preexistente. As modificações nas porinas, por sua vez, ocorrem por mutação (CDC, 1999).

Ao contrário do que aconteceu com o antibiótico imipenem, observou-se baixa porcentagem (2,1%) de isolados sensíveis ao glicopeptídico vancomicina (Tabela 11). A resistência a esse antimicrobiano é preocupante, uma vez que este é um dos poucos antibióticos eficazes no tratamento de infecções clínicas causadas por patógenos multirresistentes (NICAS et al., 1989). Este agente inibe a síntese da parede celular bacteriana, ligando-se à

porção D-Ala-D-Ala de um pentapeptídeo, e interfere na transpeptização. Assim, a resistência dos isolados à vancomicina pode ser explicada pelo mecanismo conhecido como “reprogramação e modificação da estrutura-alvo”. Nesse mecanismo, alvos macromoleculares do antibiótico, como ribossomos, proteínas e constituintes da parede celular, são estruturalmente modificados a partir de genes que os expressam, afetando o reconhecimento do fármaco pelo alvo e diminuindo sua potência. Mais especificamente, bactérias vancomicina resistentes passam a sintetizar o pentapeptídeo com a terminação D-Ala-D-Lac, que não é reconhecido pelo antibiótico (SILVEIRA et al., 2006). Os resultados encontrados não corroboram com os observados por Bernardes et al. (2004). Esses pesquisadores analisaram a suscetibilidade antimicrobiana à vancomicina de isolados coagulase positiva de *Staphylococcus* de pacientes em três hospitais de São José dos Campos, SP, verificando que todas as estirpes foram sensíveis.

A baixa sensibilidade entre os 48 isolados também foi observada nos antibióticos pertencentes à classe das cefalosporinas (cefens), ceftazidima (10,4%) e ceftriaxona (10,4%). A resistência desses isolados pode ser explicada por três mecanismos mais comuns: (i) produção de enzimas que inativam a droga, a exemplo da beta-lactamases; (ii) alteração dos sítios-alvo da droga; ou, ainda, (iii) alterações da membrana externa, o que limita a capacidade da droga em alcançar o seu alvo (REESE et al., 2002).

O perfil de sensibilidade à sultamicilina, ou seja, a associação entre a ampicilina e o subactam, mostrou-se variável, apesar de haver maior prevalência de isolados resistentes (41,7%). Essa distribuição do perfil de sensibilidade pode ser atribuída ao fato de que esse antibiótico é uma associação de dois compostos: um betalactâmico, a ampicilina, e um inibidor de beta-lactamases, o sulbactam. A destruição do núcleo β -lactâmico das penicilinas e das cefalosporinas pelas β -lactamases de proveniência bacteriana constitui o mecanismo clinicamente mais importante da resistência bacteriana a esse antibiótico, constituindo um dos mais sérios problemas da prática clínica. As β -lactamases podem ser produzidas por bactérias Gram-positivas e por bactérias Gram-negativas. Estas hidrolisam a ligação amida do anel β -lactâmico, o que resulta na produção de derivados

ácidos que não possuem propriedades antibacterianas (MOOSDEEN et al., 1986).

Observou-se elevada porcentagem de microrganismos resistentes ao aminoglicosídeo amicacina (60,4%), ao macrolídeo claritromicina (68,8%), à lincosamida clindamicina (77,1%) e ao betalactâmico oxacilina (56,2%). A resistência dos microrganismos à oxacilina pode ser explicada pela síntese de penicilinase. Tal resultado corrobora os resultados constatados por Farias et al. (1997), que avaliaram o padrão de sensibilidade *in vitro* de amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* sensíveis (OSSA) e resistentes à oxacilina (ORSA) e a outros antimicrobianos que podem ser utilizados no tratamento de infecções estafilocócicas.

A avaliação do perfil de sensibilidade de amostras clínicas possui grande importância, pois estes dados são úteis na orientação do uso de antibióticos e na avaliação de novos antimicrobianos. A maneira como os antimicrobianos é utilizada em determinada região geográfica possui influência no perfil de sensibilidade de amostras clínicas (FARIAS et al., 1997).

4.4. Caracterização física, físico-química e microscópica das superfícies de sondas nasoentéricas

4.4.1. Determinação da tensão de ruptura e estiramento dos polímeros

Apenas os corpos-de-prova da sonda de silicone romperam-se durante os testes de tensão de ruptura e estiramento dos polímeros. A deformação relativa na carga máxima não alterou com o aumento da temperatura de 25 °C para 36 °C em nenhuma das duas superfícies ($p > 0,05$). Entretanto, a carga máxima somente para a sonda de poliuretano foi diferente nas duas temperaturas de teste ($p < 0,05$) (Tabela 12).

Tabela 12 – Carga máxima (N) e deformação relativa na carga máxima (%) de sondas nasoentéricas de poliuretano e silicone, em diferentes temperaturas

Material ¹	Temperatura (°C)	Médias
		Deformação (%)
Poliuretano	36	231,58 a
Poliuretano	25	212,31 a
Silicone	25	59,73 a
Silicone	36	55,82 a
		Carga máxima (N) ¹
Poliuretano	25	172,61 a
Poliuretano	36	76,61 b
		Carga máxima de ruptura (N)
Silicone	25	26,32 a
Silicone	36	25,85 a

¹ Os corpos-de-prova de poliuretano não se romperam, por isso não foi possível analisar estatisticamente a influência do material na deformação e na carga máxima. Médias seguidas das mesmas letras não diferiram a 5% de probabilidade, pelo teste t-Student.

A diferença da carga máxima das sondas de poliuretano pode ser explicada por suas propriedades mecânicas e moleculares. A mobilidade das cadeias macromoleculares depende, grandemente, da natureza química e do tamanho dos segmentos flexíveis. Estes segmentos, obtidos pela reação de polióis lineares e difuncionais com a quantidade estequiométrica de diisocianatos, controlam as propriedades de flexibilidade a baixas temperaturas, bem como o comportamento químico do poliuretano, como a resistência a solventes, água, ácidos, bases e intempéries. Para a obtenção de boas propriedades elastoméricas, especialmente resistência ao impacto, o segmento flexível deve ser amorfo e possuir temperatura de transição vítrea suficientemente baixa. Com a aplicação de forças mecânicas, podem ocorrer mudanças na orientação e mobilidade das estruturas dentro dos domínios dos segmentos rígidos, formados em especial por ligações de

hidrogênio entre os grupos uretânicos adjacentes, de acordo com a temperatura. Nesse processo, as ligações de hidrogênio iniciais são rompidas e outras, energeticamente mais favoráveis, são formadas. Ocorre, então, mudança na estrutura desse polímero na direção da tensão aplicada. Como consequência, a tensão é mais bem distribuída, e, como resultado, a resistência do material é aumentada. Esse efeito contribui para o aumento da tensão de ruptura, alongamento, resistência ao rasgo e deformações permanentes (VILAR, 2004).

Assim, observou-se que a sonda de poliuretano foi a mais resistente, nas temperaturas de 25 °C e 36 °C, temperatura essa próxima daquela do corpo humano. Portanto, é a recomendada, principalmente, em situações que podem levar ao seu rompimento, por exemplo quando pacientes que fazem uso desse sistema de alimentação ficam agressivos e tentam arrancar o dispositivo.

4.4.2. Hidrofobicidade

A hidrofobicidade das superfícies é uma das propriedades superficiais que desempenham papel fundamental no fenômeno de adesão, existindo várias formas e métodos para avaliá-la. O critério primário de avaliação qualitativa da hidrofobicidade permite avaliar o caráter hidrofóbico ou hidrofílico de uma superfície, por meio do valor do ângulo de contato da superfície formado com a água (AZEREDO, 1998).

As sondas nasotéricas apresentaram diferentes ângulos de contato com a água (Θ_w) à temperatura ambiente e, portanto, distintas hidrofobicidades (Tabela 13). A sonda de poliuretano mostrou-se hidrofílica, enquanto a de silicone, hidrofóbica (ADAMSON, 1982).

A diferença no ângulo de contato das sondas pode ser atribuída à estrutura molecular de cada constituinte. O silicone apresenta uma cadeia ramificada constituída principalmente por carbono, oxigênio, silício e hidrogênio, que conferem a apolaridade do polímero (Figura 23). Contudo, a estrutura química do poliuretano é constituída por anéis benzênicos e por grupos NHCO_2 que conferem polaridade e, conseqüentemente, maior ligação com a água (Figura 24).

Tabela 13 – Média dos ângulos de contato, utilizando-se água, formados com as superfícies de sondas nasoentéricas de silicone e de poliuretano

Material	Ângulo de Contato (°) ¹ Θ _w
Poliuretano	50,2 ± 0,61
Silicone	74,6 ± 1,30

¹ O ângulo de contato foi a média de 25 medidas que foram realizadas na temperatura ambiente de 25 °C.

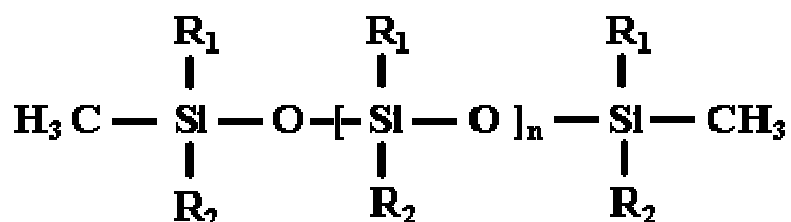


Figura 23 – Estrutura química do silicone.
Fonte: <www.silaex.com.br>.

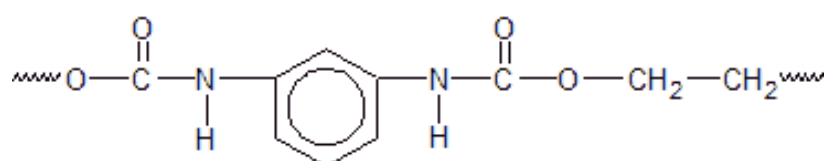
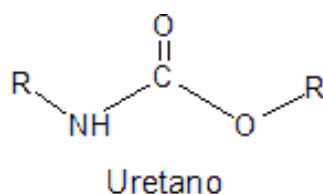


Figura 24 – Estrutura química do poliuretano.
Fonte: <www.textoscientificos.com>.

Quanto mais hidrofóbicas ou menos hidrofílicas forem as superfícies interatuantes, por exemplo a sonda e *S. aureus*, mais favorável é a adesão, pois maior é a facilidade de remoção do filme de água entre essas duas superfícies (BUSSCHER et al., 1990). Chaves (2004) também confirmou essa observação ao estudar a hidrofobicidade de microrganismos e superfícies de tubulações de aço inoxidável e polivinilcloro (PVC). Portanto, nesse caso, a sonda de poliuretano é a mais indicada ao uso pelo fato de ser mais hidrofílica que a sonda de silicone.

4.4.3. Microscopia de força atômica

Observando a microtopografia da sonda de silicone, verificou-se que a rugosidade média encontrada foi de 0,60 nm, o que pode ser considerada uma superfície mais lisa quando comparada com a sonda de poliuretano com rugosidade média de 2,87 nm. A altura máxima entre um pico e um vale ($R_t = 53,90$ nm) encontrada na sonda também confirmam a maior rugosidade da sonda de poliuretano. Contudo, esse dado não poderia ser analisado separadamente dos demais, uma vez que pode causar falsa interpretação da microtopografia das superfícies (Tabela 14).

Tabela 14 – Parâmetros físicos das sondas nasoenterais, medidos por microscopia de força atômica (MFA)

Parâmetros	Sonda de Silicone	Sonda de Poliuretano
Altura máxima entre um vale e um pico (R_t)	5,63 nm	53,90 nm
Rugosidade média (R_a)	0,60 nm	2,87 nm
Rugosidade quadrática média (R_q)	0,75 nm	3,95 nm

Nas Figuras 25 e 26 estão apresentadas as microtopografias das superfícies das sondas de silicone e poliuretano, observadas pela microscopia de força atômica (MFA). Por meio dessas microtopografias, pôde-se comprovar a existência de irregularidades na superfície para a sonda de poliuretano. Verificou-se a presença de pequena elevação na sonda de silicone, o que pode ser inerente ou não à superfície, a exemplo de representar uma sujidade. As microtopografias corroboram as características avaliadas (Tabela 15).

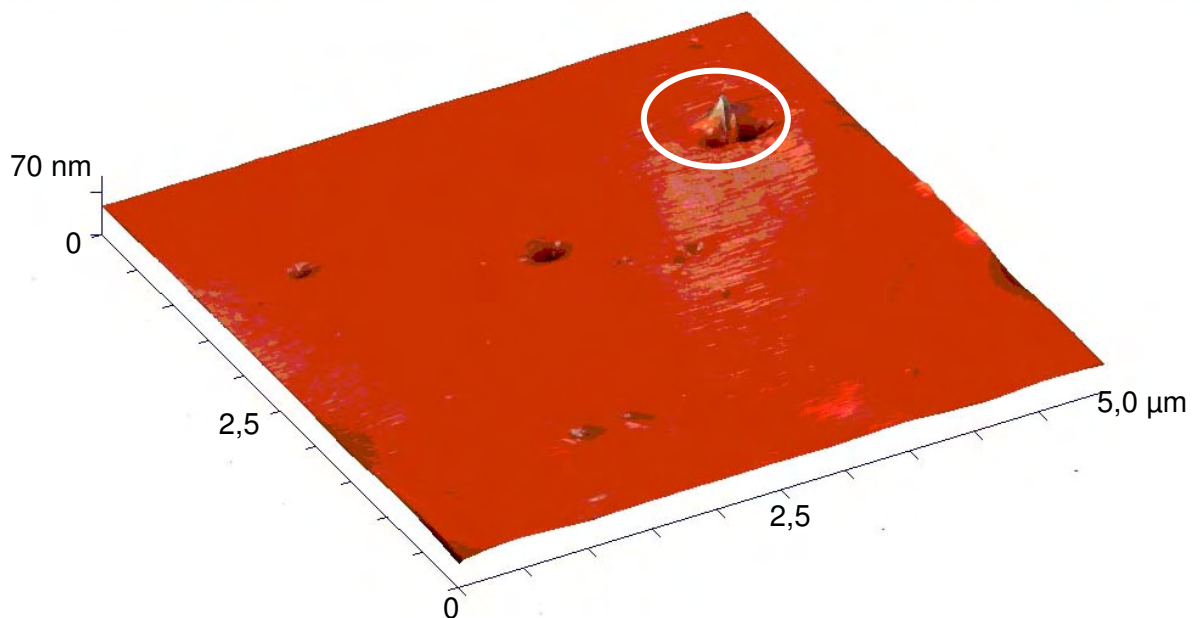


Figura 25 – Microtopografia da superfície da sonda de silicone obtida pela microscopia de força atômica, mostrando fendas. Halo branco destaca a presença de um pico que pode ser inerente ou não à superfície, por exemplo uma sujidade.

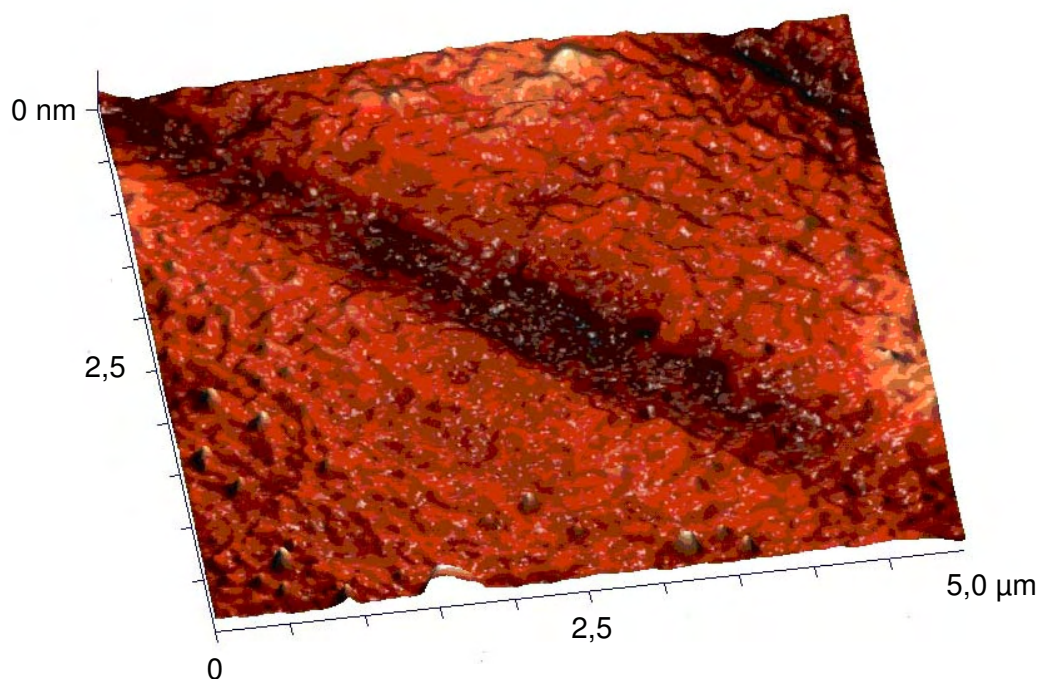


Figura 26 – Microtopografia da superfície da sonda de poliuretano obtida pela microscopia de força atômica, mostrando irregularidades.

4.5. Adesão de *Staphylococcus aureus* em superfícies de silicone e de poliuretano usadas para construção de sondas nasoentéricas

4.5.1. Determinação do número de células aderidas

Entre os isolados submetidos à identificação da espécie, uma estirpe foi escolhida para realização da adesão por teste em uso simulado. O critério utilizado na escolha baseou-se na espécie mais freqüente entre os isolados presentes nas sondas e com perfil de multirresistência aos antibióticos utilizados. Portanto, selecionou-se a espécie *S. aureus*, isolada de sondas de silicone, codificada como 125.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no número de células aderidas ($\log \text{UFC} \cdot \text{cm}^{-2}$) do isolado de *S. aureus*, após três dias de teste de simulação em uso, para os materiais constituintes das sondas (Tabela 15).

Tabela 15 – Adesão de *Staphylococcus aureus* estirpe 125 em sondas nasoentéricas de silicone e de poliuretano

Materiais	Médias [†] (log UFC.cm ⁻²)
Poliuretano	1,11 a
Silicone	0,99 a

[†] Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *t-Student* a 5% de probabilidade.

Analisando a adesão inicial e o crescimento superficial de *S. epidermidis* em polímeros biomédicos, pesquisadores concluíram que a superfície de crescimento de bactérias que aderem inicialmente é influenciada pelas propriedades da grande maioria dos biomateriais (EGINTON et al., 1995). A idéia de que materiais com superfície hidrofílica possuiriam menor capacidade de atrair as bactérias (JANSE et al., 1988) não é a explicação mais adequada para justificar os resultados observados neste trabalho.

É importante também considerar que, muitas vezes, a capacidade de aderência verificada *in vitro* não reflete o que ocorre no processo de adesão bacteriana quando a sonda nasoenteral é utilizada por um ser humano. A aderência bacteriana envolve interações complexas entre a estirpe bacteriana e a superfície do biomaterial (SCHIMIDT et al., 1998). Para a adesão não específica inicial de células bacterianas ter sucesso na colonização, outros tipos específicos de adesão são provavelmente requeridos. A adesão de *S. epidermidis* às superfícies de cateteres é facilitada por um antígeno produtor de cápsula, o qual é rico em galactose, e mais de um tipo de adesina pode estar envolvido com a aderência de *S. epidermidis* aos biomateriais (KLOOS, 1998).

4.5.2. Avaliação da adesão por microscopia eletrônica de varredura

Na observação das fotomicrografias, constataram-se irregularidades (Figuras 27 a 30), como protuberâncias, fissuras, fendas e orifícios, nas superfícies das sondas nasoenterais. A microscopia eletrônica de varredura

permitiu observar a amostra em duas dimensões, o que auxiliou a interpretação dos resultados dos processos de adesão bacteriana. Verificou-se, na sonda de silicone, a presença de células de *S. aureus* aderidas isoladamente, mas próximas aos resíduos da dieta, ao contrário do que ocorreu na sonda de poliuretano, pois as bactérias aderiram de maneira mais próxima uma das outras. Portanto, observou-se que a administração somente de água após a passagem da dieta não foi suficiente para a remoção de resíduos e de microrganismos se presentes na dieta, o que favoreceu a adesão de *S. aureus* após três dias de teste (Figuras 24 e 25).

Zur et al. (2004) também observaram, por meio de microscopia eletrônica, que em oito tubos endotraqueais retirados de neonatos, na parte interna, havia a presença de *Staphylococcus* e de outras bactérias aderidas e a formação de biofilme. Em todos os dispositivos, na parte externa havia biofilme formado.

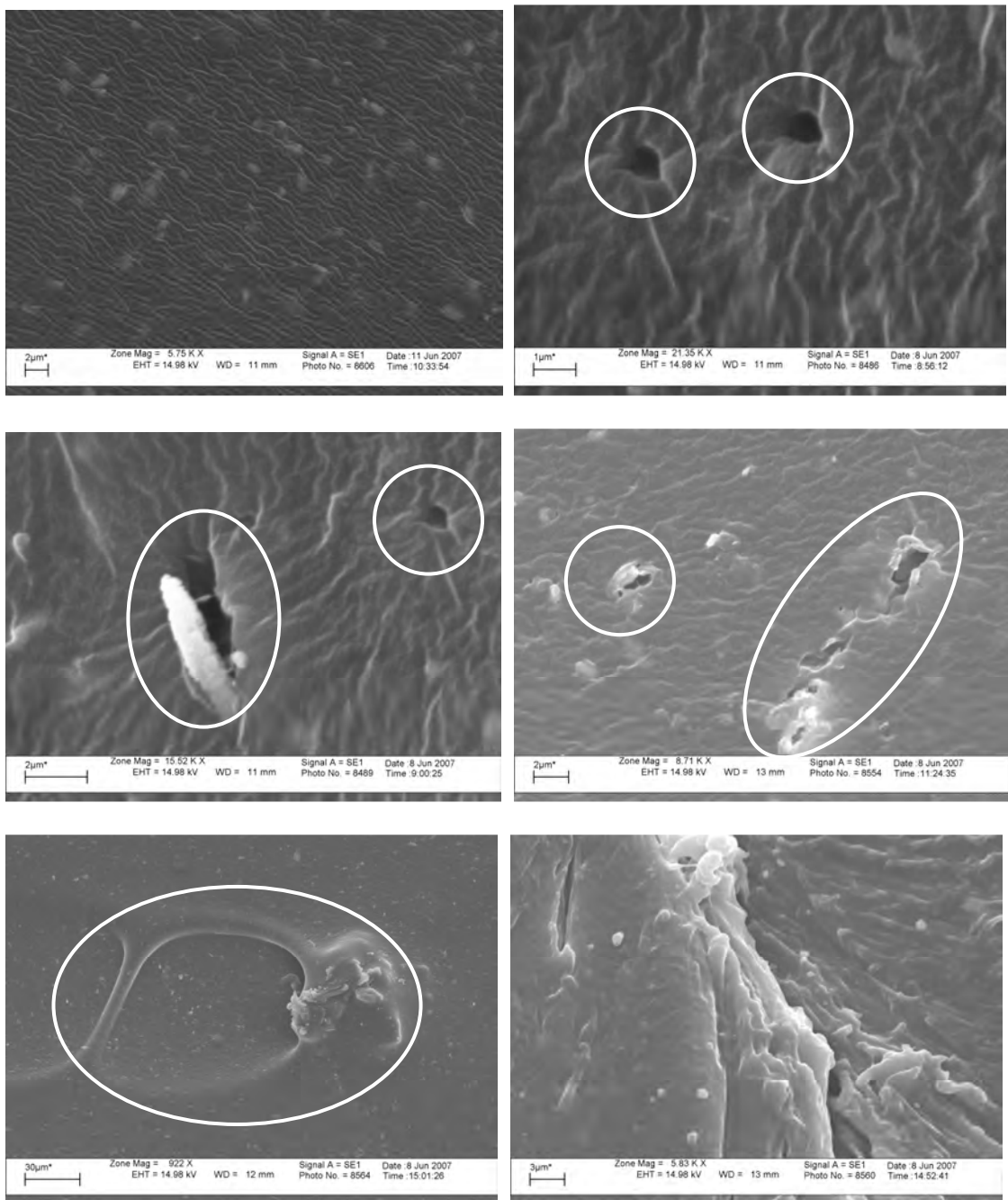


Figura 28 – Fotomicrografias da superfície da sonda de poliuretano sem adesão de *S. aureus* obtidas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura. Destaca-se a presença de fendas preenchidas por resíduos da dieta, locais propícios para a formação de biofilme bacteriano.

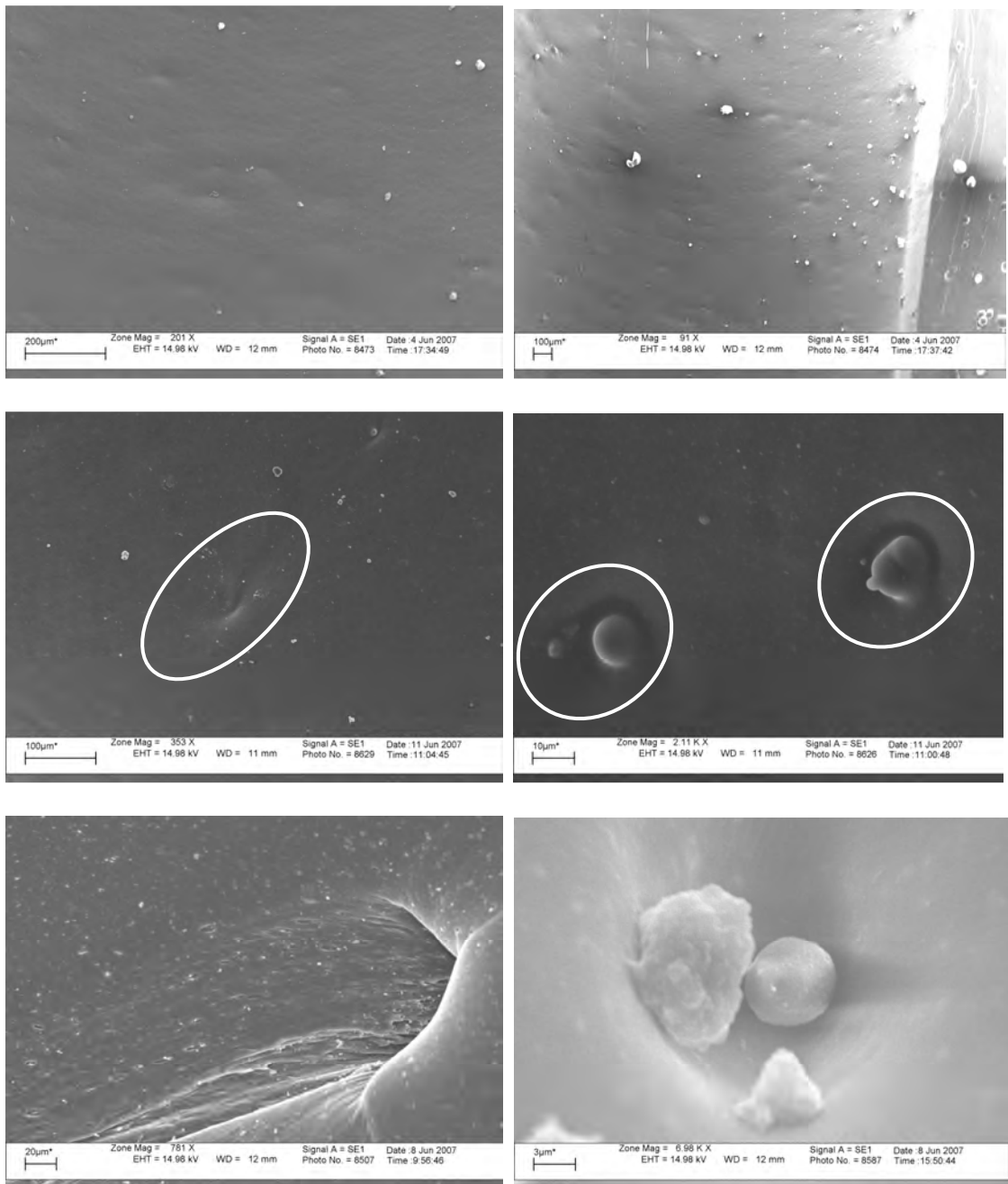


Figura 28 – Fotomicrografias da superfície da sonda de silicone sem adesão de *S.aureus* obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Ao contrário da sonda de poliuretano, aquela se destaca por ser mais plana.

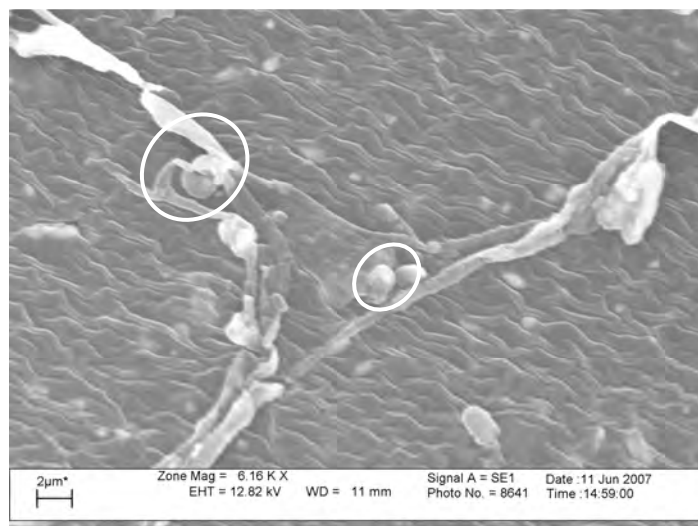
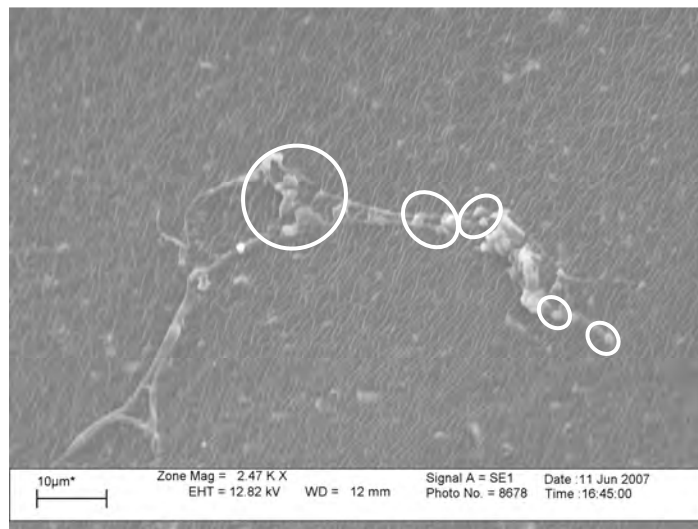


Figura 29 – Células de *S. aureus* aderidas a sondas de poliuretano após três dias de teste em uso simulado. Os círculos brancos representam algumas células microbianas aderidas.

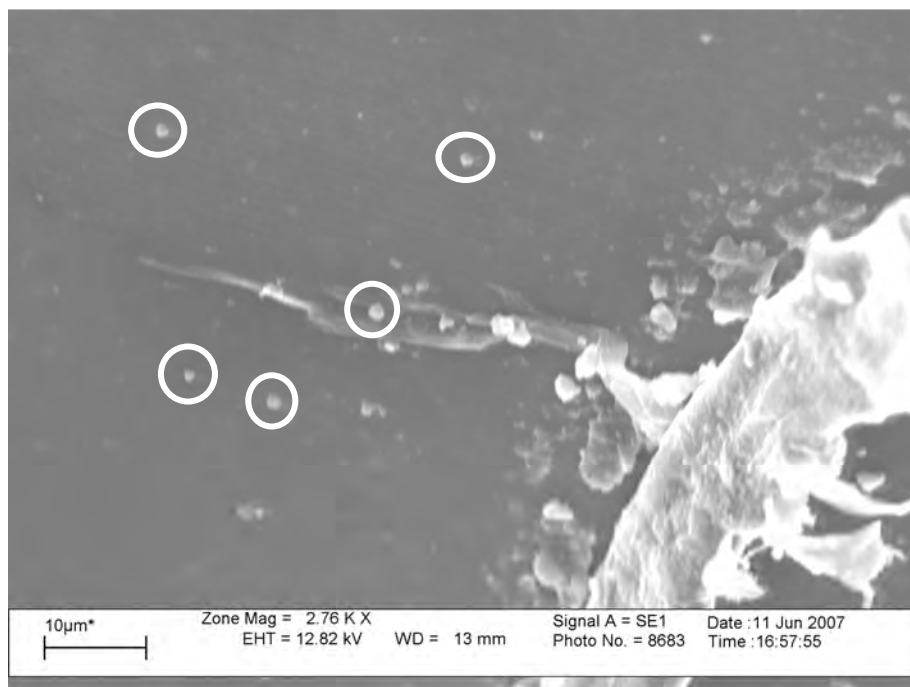
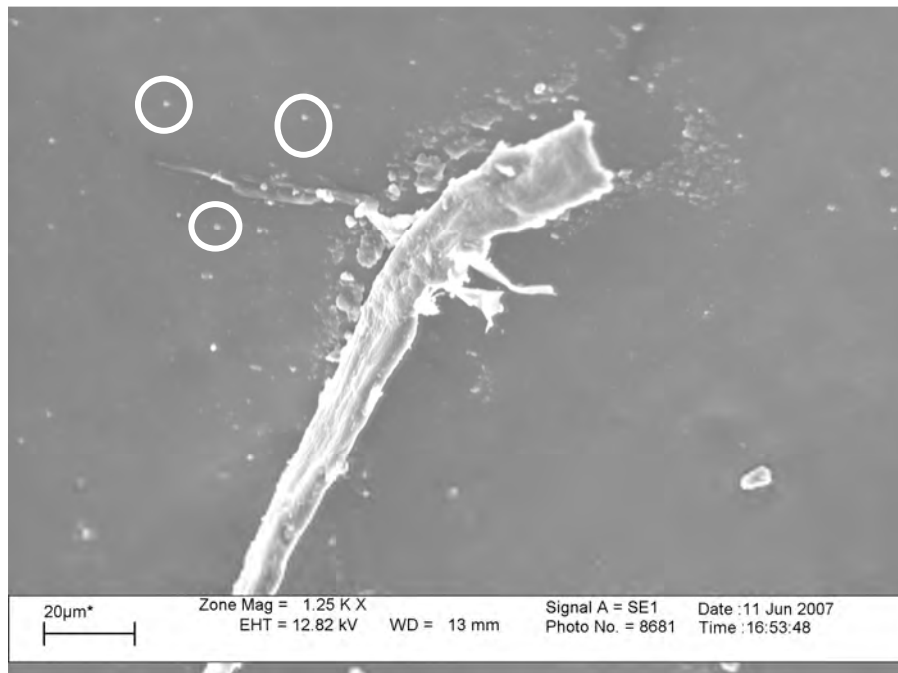


Figura 30 – Células de *S. aureus* aderidas à superfície da sonda de silicone após três dias de teste em uso simulado. Os círculos brancos representam algumas células microbianas aderidas.

5. CONCLUSÕES

As contagens de *Staphylococcus* sp. apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre o ar do CTI ($2,15 \pm 0,36 \log \text{ UFC.m}^{-3}$) e a sala de preparo da dieta ($1,64 \pm 0,17 \log \text{ UFC.m}^{-3}$). Há necessidade de um programa bem-estabelecido para o controle da qualidade microbiológica nesses ambientes, pois foram isoladas espécies patogênicas, como *Staphylococcus aureus*.

As condições higiênico-sanitárias das superfícies para preparo da dieta do sistema aberto ($< 1,0 \times 10^0 \text{ UFC.cm}^{-2}$) e das mãos do manipulador da sonda ($1,0 \times 10^2 \text{ UFC/mão}$) foram satisfatórias, indicando que o procedimento de higienização estão adequados.

Duas amostras (12,5%) da dieta de sistema aberto em 16 analisadas apresentaram contaminação com *Staphylococcus* sp. Nenhuma amostra de dieta fechada de oito avaliadas apresentou contaminação com microrganismo. Sugere-se que o sistema fechado de administração de dieta seja o escolhido, em caso de necessidade.

Os logaritmos das médias das contagens de *Staphylococcus* sp. nas sondas retiradas dos pacientes após o uso variou entre $6,875 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$ e $7,380 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$. *S. aureus* foi a espécie mais freqüente dentre as estirpes isoladas (52,44%), estando presente em maior porcentagem em sondas nasoenterais (28,05%). Os logaritmos das médias das contagens de *Staphylococcus* sp. nas mucosas nasais dos pacientes antes do uso das sondas variou entre $4,095 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$ e $8,365 \log \text{ UFC.cm}^{-2}$. Tanto as

sondas quanto a fossas nasais de pacientes são fontes potenciais de *Staphylococcus* sp.

Isolados de *Staphylococcus* spp. resistentes aos antimicrobianos testados foram encontrados nos vários ambientes analisados, indicando a necessidade do controle desses microrganismos no hospital. Quarenta e quatro isolados entre 48 analisados foram sensíveis ao antibiótico imipenem, correspondendo a 92%. Um isolado (2,1%) foi sensível à vancomicina. A baixa sensibilidade entre os 48 isolados também foi observada nos antibióticos pertencentes à classe das cefalosporinas (cefens), ceftazidima (10,4%) e ceftriaxona (10,4%).

Em relação às propriedades mecânicas dos polímeros usados na fabricação das sondas, constatou-se que corpos-de-prova da sonda de poliuretano foram mais resistentes, não se rompendo durante os testes de tensão de ruptura e estiramento, o que não ocorreu com o silicone. A deformação não alterou com o aumento de temperatura de 25 °C para 36 °C em nenhuma das duas superfícies ($p > 0,05$). Entretanto, a carga máxima somente da sonda de poliuretano foi diferente nas duas temperaturas de teste ($p < 0,05$).

As sondas nasoentéricas apresentaram diferentes hidrofobicidades, uma característica físico-química de superfície importante na adesão bacteriana. A sonda de poliuretano mostrou-se hidrofílica ($\Theta_w = 50,2 \pm 0,61$), enquanto a de silicone, hidrofóbica ($\Theta_w = 74,6 \pm 1,3$).

A superfície da sonda de silicone apresentou-se menos rugosa que a de poliuretano, quando observada pela microscopia de força atômica. A rugosidade média (R_q) da sonda de poliuretano foi de 2,87 nm e a de silicone, 0,589 nm, conforme avaliação realizada pela microscopia de força atômica. A diferença máxima entre o ponto mais alto e mais baixo (R_t) foi de 5,62 nm na sonda silicone e de 53,9 na de poliuretano.

No teste de simulação em uso, após três dias constatou-se que um isolado de *S. aureus* aderiu aos polímeros, no entanto não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no número de células aderidas ($\log \text{UFC.cm}^{-2}$). As médias das contagens foram de 1,11 $\log \text{UFC.cm}^{-2}$ na sonda de poliuretano e 0,99 $\log \text{UFC.cm}^{-2}$ na de silicone. As fotomicrografias obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura mostraram a ocorrência de

irregularidades como protuberâncias, fissuras, fendas e orifícios nas superfícies das sondas nasoenterais. Mostraram também que o isolado de *S. aureus* foi capaz de aderir a ambas as superfícies.

A importância dos diversos fatores envolvidos na aderência dos microrganismos às superfícies ainda deve ser melhor e mais claramente estabelecida. A utilização de modelos que simulem a contaminação bacteriana dos polímeros é muito importante para o aperfeiçoamento desses modelos. Novos polímeros devem ser pesquisados e testados na fabricação de sondas nasoenterais, com o intuito de reduzir ou impedir a adesão bacteriana, por meio da modificação das características físico-químicas da superfície.

REFERÊNCIAS

ABIQUIM a – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA.
Atividades Setoriais: silicones. Disponível em:
<<http://www.abiquim.org.br/setorial/silicones/asp>>. Acesso em: 20 jun. 2007.

ABIQUIM b – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA.
Poliuretanos. Disponível em:
<<http://www.abiquim.org.br/canais.asp?id=13>>. Acesso em: 20 jun. 2007.

ABSOLOM, D.R.; LAMBERTI, F.V.; POLICOVA, Z.; ZING, W.; VAN OSS, C.J.; NEUMAN, A.W. Surface thermodynamics of bacterial adhesion. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, p. 90-97, 1983.

ADAMSON, A.W. **Physical chemistry of surfaces**. New York: Wiley-Interscience, 1982.

ALVAREZ, A.; GUIDA, R. Condiciones para evitar la contaminación en la alimentación enteral. In: GUASTAVINO, P.; GUIDA, R. **Fundamentos V estrategias en soporte nutricional**. Argentina: Abbott Laboratories ed., 2000. p. 153-168.

ANDERSEN, B.M.; LINDEMANNY, R.; BERGHZ, K.; NESHEIMX, B.I.; SYVERSEN, G.; SOLHEIM, N.; LAUGERUD, F. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive unit associated with understaffing, overcrowding and mixing of patients. **Journal of Hospital Infection**, v. 50, p. 18-24, 2002.

ANDRADE, D.; ANGERAMI, L.S.E.; PANDOVANI, C.R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. **Revista saúde pública**, v. 34, p. 163-169, 2000.

AOKI, E.E.; PIZZOLITTO, A.C.; GARCIA, L.B.; PIZZOLITTO, E. L. *Staphylococcus aureus* biofilms on central venous haemodialysis catheters. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 342-346, 2005.

ARCIOLA, C.R.; BALDASSARRI, L.; MONTANARO, L. In catheter infections by *Staphylococcus epidermidis* the intercellular adhesion (ica) locus is a molecular marker of the virulent slime-producing strains. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 59, p. 557-562, 2002.

ASSOCIATION OF STANDARD TEST METHOD (ASTM). Test methods for vulcanized rubber and thermoplastic elastomers D412. **Annual Book of ASTM Standards**, v. 09.01, 2003.

AYLIFFE, G.A.J.; BABB, J.R.; TAYLOR, L.J. **Hospital-acquired infection**. Principles and prevention. 3. ed. London: Arnold, 2001.

AZEREDO, J.C.V.R. **Mechanism of microbial adhesion**. In: _____. **International Pratical biofilm course**. Braga, Portugal: Department of Biological Engineering University of Minho, 2006.

AZEREDO, J.C.V.R. **Adesão de microrganismos e composição da matriz de bioagregados-desenvolvimento de técnicas e estudo da influência de exopolímeros**. Minho, Braga: Universidade de Minho, 1998. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Universidade do Minho, Minho.

BAIRD, R.M.; LEE, W.H. Media used in the detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 26, p. 15- 24, 1995.

BAIRD-PARKER, A.C. The staphylococci: an introduction. **The Journal of Applied Bacteriololy**, v. 19, p. 15-85, 1990.

BAIRD-PARKER, A.C. Methods for classifying staphylococci and micrococci. In: GIBBS, B.M.; SKINNER, F.A. (Eds.). **Identification methods for microbiologists**. London: Academic Press, 1966. p. 59-64.

BAKKER, D.P.; BUSSCHER, H.J.; VAN ZANTEN, J.; VRIES, J.; KLIJNSTRA, J.W.; VAN DER MEI, H.C. Multiple linear regression analysis of bacterial deposition to polyurethane coatings after conditioning film formation in the marine environment. **Journal of Microbiology**, v. 150, p. 1779-1784, 2004.

BAKKER, D.P.; BUSSCHER, H.J.; VAN DER MEI, H.C. Bacterial deposition in a parallel plate and a stagnation point flow chamber: microbial adhesion mechanisms depend on the mass transport conditions. **Microbiology**, v. 148, p. 597-603, 2002.

BALABAN, N.; GOV, Y.; BITTLER, A.; BOELAERT, R. Prevention of *Staphylococcus aureus* biofilm on dialysis catheters and adherence to human cells. **Kidney International**, v. 63, p. 340-345, 2003.

BALLOW, C.H.; BIEDENBACH, D.J.; ROSSI, F.; JONES, R.N. Multicenter assessment of the linezolid spectrum and activity using the disk diffusion and Etest methods: report of the Zyvox (R) antimicrobial potency study in Latin America (LA-ZAPS). **Brazilian Journal of Infectious Disease**, v. 6, n. 3, p.100-109, 2002.

BANWART, G. T. **Basic food microbiology**. 2. ed. New York: van Nostrand Reinhold, 1989. 771 p.

BARBOSA, A.P.; DELGADO, A.F.; DAVID, C.M.N.; RIBEIRO, D.O.; KORTEGA, E.; SOUZA, E.; MONTE, J.C.M.; SPIEGEL, M.P.; JÚNIOR, M.T.; RIBEIRO, P.C. **Terapia nutricional no paciente grave**. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter LTDA., 2001. cap. 8, p. 75-101.

BASSOI, O.N. In: LACAZ, C.S. **Antibióticos**. São Paulo: EDGARD Blücher, Editora da Universidade de São Paulo, 1975. cap. 6, 509 p.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-6, 1966.

BEECH, I. B. Corrosion of technical materials in the presence of biofilms – current understanding and state of the art methods of study. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 53, p. 177-183, 2004.

BECKER, K.; KELLER, B.; VON EIFF, C.; BRUCK, M.; LUBRITZ, G.; ETIENNE, J.; PETERS, G. Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 12, p. 5551-5557, 2001.

BERGAMI, A. **Esterilização em óxido de etileno**: um novo conceito no controle microbiológico de dietas enterais e fórmulas lácteas. 2002. Disponível em: <<http://www.nutricaoclinica.com.br>>. Acesso em: 7 jul. 2007.

BERNARDES, R.C.; CARDOSO, A.O.; LEÃO, J.M.V.P. Sensibilidade à oxacilina, vancomicina e teicoplanina de *Staphylococcus coagulase* – Positivos isolados de pacientes hospitalizados em São José dos Campos. **Revista de Biociência**, v. 10, n. 1-2, p. 73-78, 2004.

BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. London: Lea & Febier. Philadelphia, 1991. 1162 p.

BOHACH, G.A.; DINGES, M.M.; MITCHELL, D.T.; OHLENDORF, D.H.; SCHLIEVERT, P.M. Exotoxins. In: CROSSLEY, K.B.; ARCHER, L.G. (Eds.). **The Staphylococci in human disease**. New York: Churchill Livingstone, 1997. p. 83-111.

BOTT, T. R. Aspects of biofilm formation and destruction. **Corrosion Reviews**, v. 11, p. 1-24, 1993.

BOUCHER, N. M. A tool to improve the biocidal efficacy of sterilants of disinfectants in hospital or dental practice. **Canada Journal Pharmaceutical Science**, v. 14, p. 1-12, 1979.

BOULANGE-PETERMANN, L.; RAULT, J.; BELLON-FONTAINE, M.N. Adhesion of *Streptococcus thermophilus* to stainless steel with different surface topography and roughness. **Biofouling**, v. 11, p. 201-216, 1998.

BOWER, C.K.; Mc GUIRE, J.; DAESCHEL, M.A. The adhesion and detachment of bacteria and spores on food-contact surfaces. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, p. 152-157, 1996.

BOWLING, T.E. Colonic responses to enteral tube feeding. **Gut.**, London, v. 42, p.147-151, 1998.

BOYCE, J.M. New insights for improving hand hygiene practices. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 25, n. 3, p. 187-188, 2004.

BRABES, K.C.S. **Identificação e capacidade de adesão de *Staphylococcus* spp. isolados de manipuladores e ar de ambientes de uma indústria de laticínios.** Viçosa, MG: UFV, 2005. 83 f. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2.616, de 12 de maio de 1998. **Programa de Controle de Infecção Hospitalar.** Disponível em: <<http://www.ccih.med.br/portaria2616.html>>. Acesso em: 21 maio 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 272, 8 de abril de 1998. **Boas práticas de preparação de nutrição parenteral – BPPNP.** Disponível em: <http://sbnpe.com.br/legal/portaria_272_ii.htm>. Acesso em: 15 maio 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Regulamento técnico para fixar os requisitos mínimos exigidos para a terapia de nutrição enteral.** Resolução RDC nº. 63, de 06 de julho de 2000. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2000/63_00rdc.htm>. Acesso em: 21 maio 2007.

BROOKS, G.F.; BUTEL, J.S.; MORSE, S.A. **Microbiologia médica.** 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 158.

BRYAN, L.E. General mechanisms of resistance to antibiotics. **Journal of Antimicrobiology Chemotherapy**, v. 22, p. 1-15, 1988.

BURFOOT, D. Aerosols as a contamination risk. In: LELIVIELD, H. L. M.; MOSTERD, M.A.; HOLAH, J. **Handbook of hygiene control in the food industry.** 1. ed. [S.l.:s.n.], 2005b. cap. 5, p. 93-101.

BUSSCHER, H.J.; SJOLLEMA, J.; VAN DER MEI, H. Relative Importance of Surface Free Energy as a Measure of Hydrophobicity in Bacterial Adhesion to Surfaces. In: DOYLE, R.J.; ROSENBERG, M. (Eds.). **Microbial cell surface hydrophobicity**. Washington, D. C.: American Society of Microbiology, 1990.

CAMMAROTA, M.C.; SANT'ANNA, G.L. Metabolic blocking of exopolysaccharides synthesis: effects on microbial adhesion and biofilm accumulation. **Biotechnology Letters**, v. 20, p. 1-4, 1998.

CAMPBELL, S. M. Preventing microbial contamination of enteral formulas and delivery systems. **Colombus, OhioRoss Laboratories**, v. 1, p.1-18, 1995.

CARELI, R.T. **Adesão de *Pseudomonas fluorescens* em superfícies utilizadas no processamento de alimentos**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARMO, L.S.; DIAS, R.S.; LINARDI, V.R. An outbreak of staphylococcal food poisoning in the Municipality of Passos, MG, Brazil. **Brazilian Archives Biological Technology**, v. 46, n. 4, p. 581-586, 2003.

CARMO, L.S. **Manual para elucidação de surto de intoxicação alimentar por enterotoxina estafilocócica**. Correspondência via correio. 2007. No prelo.

CARMO, L.S. **Produção e purificação das enterotoxinas estafilocócicas A, B, C e D**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1997. 177 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CARMO, L.S.; DIAS, R.S.; LINARDI, V.R. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas Cheese and raw milk in Brasil. **Food Microbiology**, v. 19, p. 9-14, 2002.

CARVALHO, K.S. **Contaminação de superfícies em enfermarias de pacientes com infecções por *Staphylococcus aureus* no hospital de clínicas da universidade federal de Uberlândia, Uberlândia-MG**. Uberlândia, MG: UFU, 2005. 47 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

CARVALHO, M.L.R.; MORAIS, T.B.; SIGULEM, D.M. Pontos críticos no controle da manipulação de dietas enterais no Município de São Paulo. **Revista Brasileira Nutrição Clínica**, v. 14, p. 145-155, 1999.

CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). Center for preparedness, detection, and control of infectious diseases laboratory. **Detection of Imipenem or Meropenem Resistance in Gram-negative Organisms**. Content source: Division of Healthcare Quality Promotion (DHQP) National, 1999. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_lab_imipenem.html>. Acesso em: 22 maio 2007.

CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). **Report Morbity and Mortality Weekly Report**, v. 53, p. 322, 2004.

CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). **Report Morbity and Mortality Weekly Report**, v. 51, p. 565, 2002a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL (CDC). **Report Morbity and Mortality Weekly Report**, v. 51, p. 902, 2002b.

CERCA, N.; MARTINS, S.; PÍER, G.B.; OLIVEIRA, R.; AZEREDO, J. The relationship between inhibition of bacterial adhesion to a solid surface by sub MICs of antibiotics and subsequent development of a biofilm. **Research in Microbiology**, v. 156, p. 650-655, 2005.

CHARACKLIS, W.G. Fouling biofilm development: a process analysis. **Biotechnology Bioengineering**, v. 23, p. 1923-1960, 1981.

CHARACKLIS, W.G. Laboratory biofilm reactors. In: CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. (Eds.). **Biofilms**. New York: John Wiley and Sons, 1990. p. 55-89.

CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. In: CHARACKLIS, W.G.; MARSHALL, K.C. (Eds.). **Biofilms**. New York: John Wiley & Sons, 1990. p. 3-15.

CHAVES, L.C.D. **Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contacto com água potável**. Minho, Braga: Universidade de Minho, 2004. 186 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente) – Universidade do Minho, Minho.

CHEN, G.; ZHU, H. Bacterial adhesion to silica sand as related to Gibbs energy variations. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 44, p. 41-48, 2005.

CHESNEY, P.J. Clinical aspects and spectrum of illness of toxic shock syndrome: overview. **Infectious Disease Review**, v. 11, p. 51-57, 1989.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing**, Tables M100 – S17, 2007.

COLLIGNON, P.; NIMMO, G.R.; GOTTLIEB, T.; GOSBELL, I.B. *Staphylococcus aureus* bacteremia, Australia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 4, 2005.

COSTA, G.P.; SILVA, M.L.T.; FERRINI, M.T.; BOTTONI, A.; MOREIRA JR. J.C.; COPPINI, L.Z.; AANHOLT, D.V.; BORGES, V.C.; CIOSEK, S.; WAITZBERG, D.L. Estudo comparativo da contaminação microbiana das dietas enterais em sistema aberto e fechado. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 13, p. 180-188, 1998.

COSTA, S.F.; MICELI, M.H.; ANAISSIE, E.J. Review Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 5, p. 278-286, 2004.

COUTINHO, F.M.B.; DELPECH, M.C.; ALVES, L.S. Síntese e caracterização de poliuretanos aniônicos em dispersão aquosa à base de polibutadieno líquido hidroxilado, poli (glicol propilênico) e diisocianato de isoforona polímeros. **Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 49-55, 2000.

CRISTHENSEN, G.D.; SIMPSON, W.A.; BISNO, A.L.; BEACHEY, E.H. Experimental foreign body infections in mice challenged with slime-producing *Staphylococcus epidermidis*. **Infection and Immunity**, v. 40, p. 407-410, 1983.

CUNHA, L.R. **Parâmetros de segurança e funcionalidade de bactérias bífidas isoladas de recém-nascidos, com indicação de uso como probiótico em bancos de leite humano**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CUNHA, M.L.R.S.; LOPES, C.A.M.; RUGOLO, L.M.S.S.; CHALITA, L.V.A.S. Clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from neonates. **Jornal de Pediatria**, n. 4, v. 78, p. 279-288, 2002.

D'ANGIO, C.T.; MCGOWAN, K.L.; BAUMGART, S.; ST. GEME, J.; HARRIS, M.C. Surface colonization with coagulase-negative staphylococci in premature neonates. **Journal Pediatrics**, v. 114, n. 6, p. 1029-1035, 1989.

DAMM, M.; QUANTE, G.; JURK, T.; SAUER, J.A. Nasal colonization with *Staphylococcus aureus* is not associated with the severity of symptoms or the extent of the disease in chronic rhinosinusitis. **Otolaryngology - Head and Neck Surgery**, v. 131, n. 3, p. 200-206, 2004.

DAUTLE, M.P.; WILKINSON, T.R.; GAUDERER, M.W.L. Isolation and identification of biofilm microorganisms from silicone gastrostomy devices. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 38, n. 2, p. 216-220, 2003.

DAVEY, M.E.; O'TOOLE, G.O. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 847-867, 2000.

DENNISTON, S.; ANDREW, F.; RIORDAN, I. Riordan Staphylococcus aureus bacteraemia in children and neonates: A 10 year retrospective review. **Journal of Infection**, v. 53, p. 387-393, 2006.

DESPOIT, J.C.; MOUNIER, M.; PREUX, P.M.; MAKABAKAYELE, K.; CAMUS, A.; GAYAUD, J.P.; FORT, M.; DORIGNY, B.; VAN DAELE, P. Evaluation of the microbial safety of a new 1.5 L enteral feeding diet reservoir system. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 983-988, 2004.

DÍAZ, E.; BARBA, C.; FERRADA, B. Contaminación bacteriana de fórmulas usadas en alimentación enteral. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 13, p. 35-41, 1985.

DINGES, M.M.; ORWIN, P.M.; SCHLEIVERT, P.M. Exotoxins of Staphylococcus aureus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 1, p. 16-34, 2000.

DISARIO, J.A. Endoscopic approaches to enteral nutritional support. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 20, n. 3, p. 605-630, 2006.

Disponível em: <http://www.novartis.com.br/products/pt/mn/pd_isosource_hn.gif>. Acesso em: 13 set. 2007.

Disponível em: <www.textoscientificos.com>. Acesso em: 06 ago. 2007.

Disponível em: <www.silaex.com.br>. Acesso em: 06 ago. 2007.

DONLAN, R.M. Biofilms and device-associated infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 2, p. 277-281, 2001.

DONLAN, R.M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

DOYLE, R. Contribution of the hydrophobic effect to microbial infection. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 391-400, 2000.

DREYER, E.; BRITO, S.; SANTOS, M. R.; SUNDFELD, L. C. R.; MORELLI, H.; HUARACHI, R.F.G.; PIVETTI, E.; OENTERAL, M.F. Universidade Estadual de Campinas, 2004. Disponível em: <http://www.hc.unicamp.br/servicos/emtn/Manual_paciente.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2006.

DUCKRO, A.N.; BLOM, D.W.; LYLE, E.A.; WEINSTEIN, R.A.; HAYDEN, M.K. Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands. **Archives of Internal Medicine**, v. 165, p. 302-307, 2005.

EGINTON, P.A.; GIBSON, H.; HOLAH, J.; HANDLEY, P.S.; GILBERT, P. The influence of substratum properties on the attachment of bacterial cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 5B, p.153-159,1995.

ELIOPOULOS, G.M. Current and new antimicrobial agents. **American Heart Journal**, v. 147, n. 4, p. 587-92, 2004.

ELIMELECH, M.; GREGORY, J.; JIA, X.; WILLIAMS, R. **Particle Deposition and Aggregation-Measurements, Modelling and Simulation**. Oxford. Colloid and Surface Engineering Series, Butterworth-Heinemann Ltd., 1995.

ENTIS, P.; FUNG, D.Y.C.; GRIFFITHS, M.W.; MCLNTYRE, L.; RUSSELL, S.; SHARPE, A.N.; TORTORELLO, M.L. Rapid methods for detection, identification, and enumeration. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. [S.l.:s.n.], 2001. Cap. 10, p. 89-126.

ESTRELA, C.R.A. **Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares**. Goiânia, GO: UFG, 2000. 95 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

EVANCHO, G.M.; SVEUM, W.H.; MOBERG, L.J.; FRANK, J.F. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds.). **Compendium methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. [S.l.]: APHA, 2001. cap. 3, p. 25-35.

FARIAS, W.V.L.; SADER, H.S.; LEME, I.L.; PIGNATARI, A.C. Padrão de sensibilidade de 117 amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* isoladas em 12 hospitais. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 3, p. 199-204, 1997.

FERGUSON, M.A.; TODD, J.K. Toxic shock syndrome with *Staphylococcus aureus* sinusitis in children. **Journal of Infectious Disease**, v. 163, n. 3, p. 678, 1991.

FERREIRA, F.M. **Antibioticoterapia em pequenos animais**. São Paulo-SP: Editora Ícone, 1997. 214 p.

FERREIRA, J.B.; RAPOPORT, P.B.; SAKANO, E.; KÓS, A.O.A.; PILTCHER, O.B.; PIGNATARI, S.S.N.; PINHEIRO, S.D.; MOCELLIN, M. Eficácia e segurança de Sultamicilina (Ampicilina/Sulbactam) e Amoxicilina/Clavulanato no tratamento das infecções de via aéreas superiores em adultos – um estudo multicêntrico, aberto e randomizado. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 1, p. 104-111, 2006.

FILE, T.M. Visão geral sobre resistência bacteriana nos anos 90. In: PLE CHEST **The Cardiopulmonary and Critical Care Journal**, v. 2, n. 1, p. 3-8, 2000.

FITZPATRICK, F.; HUMPHREYS, H.; SMYTHY, E.; KENNEDY, C.A.; O'GARA, J.P. Environmental regulation of biofilm formation in intensive care unit isolates of *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of Hospital Infection**, v. 42, p. 212-218, 2002.

FRANCO, B.D.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FRANCOIS, P.; VAUDAUX, P.; FOSTER, T.J.; LEW, D.P. Host-bacteria interactions in foreign body infections. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.17, p. 514-520, 1996.

FREEDLAND, C.P.; ROLLER, R.D.; WOLFE, B.M. Microbial contamination of enteral nutrition systems during prolonged intermittent use. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 13, p. 23-25, 1989.

FRÈRE, J.M.; DUBUS, A.; FONZÉ, E. Pathogens old, new, and revived. **Nature biotechnology**, v. 17, p.18-17, 1999.

GARRITY, G.M.; WINTERS, M.; SEARLES, D.B. Taxonomic outline of the procaryotic genera. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2. ed. Baltimore: Willians & Wilson. Release 1.0, Apr. 2001. Disponível em: <<http://www.cme.msu.edu/bergeys>>. Acesso em: 3 abr. 2007.

GARZON, E.A.O. **Avaliação das soluções artesanais e comerciais de nutrição enteral como fonte de infecções hospitalares em pacientes internados na unidade de terapia intensiva do hospital universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 1993. 79 f. Dissertação (Mestrado do Instituto de Microbiologia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GHANNOUM, M.A.; FILLER, S.C.; IBRAHIM, A.S.; FU, Y.; EDWARDS J.J.E. Modulation of Interations of *Candida albicans* and Endothelial Cells by Fluconazole and Amphotericin B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 36, p. 2239-2244, 1992.

GILBERT, P.; McBAIN, A.J. Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 2, p. 189-208, 2003.

GOLDMANN, D.A.; PIER, G.B. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 6, p. 176-192, 1993.

GÓMEZ-SUÁREZ, C.; PASMA, J.; VAN DER BORDEN, A.J.; WINGENDER, J.; FLEMMING, H.C.; BUSSCHER, H.J.; VAN DER MEI, H.C. Influence of extracellular polymeric substances on deposition and redeposition of *Pseudomonas aeruginosa* to surfaces. **Microbiology**, v. 148, p. 1161-1169, 2002.

GOULD, I.M.; MACKENZIE, F.M.; MACLENNAN, G.; PACITTI, D.; WATSON, E.J.; NOBLE, D.W. Topical antimicrobials in combination with admission screening and barrier precautions to control endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an Intensive Care Unit. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 29, n. 5, p. 536-543, 2007.

HAEGHEBAERT, S.; LE QUERREC, F.; BOUVET, P.; GALLAY, A.; ESPIÉ, E.; VAILLANT, V. Les toxi-infections alimentaires collectives en France. **Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire**, v. 50, p. 249-253, 2002.

HARRIES, A.D.; MAHER, D.; NUNN, P. Practical and affordable measures for the protection of the health care workers and patients from tuberculosis in low income countries. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 75, p. 477-489, 1997.

HARRIS, L.G.; RICHARDS, R.G. Staphylococci and implant surfaces: a review. **International Journal of the Care of the Injured**, v. 37, p. 3-14, 2006.

HEALTH PROTECTION AGENCY. **The second year of the Department of Health's Mandatory MRSA bacteraemia surveillance scheme in acute trusts in England: April 2002–March 2003**. Disponível em: <<http://www.hpa.org.uk/cdr/archives/2003/cdr2503.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2006.

HELDMAN, D. R. Factors influencing air-borne contamination of foods. **Journal of Food Science**, v. 39, p. 962-969, 1974.

HOLAH, J.T.; HALL, K.E.; HOLDER, J.; ROGERS, S.J.; TAYLOR, J.; BROWN, K.L. Airborne microorganism levels in food processing environment. Campden R&D Report. **Campden e Chorleywood Food Research Association**, n. 12, p. 1-22, 1995.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Willians e Wilkins, 1994. 754 p.

HUEBNER, J.; GOLDMANN, D.A. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. **Annual Review of Medicine**, v. 50, p. 223-236, 1999.

HUME, E.B.H.; BAVEJA, J.; MUIR, B.; SCHUBERT, T.L.; KUMAR, N.; KJELLEBERG, S.; GRIESSER, H.J.; THISSEN, H.; READ, R.; POOLE-WARREN, L.A.; SCHINDHELM, K.; WILLCOX, M.D.P. The control of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and in vivo infection rates by covalently bound furanones. **Biomaterials**, v. 25, n. 20, p. 5.023-5.030, 2004.

- HUYS, G.; D'HAENE, K.; ELDERE, J. V.; HOLY, A. V.; SWINGS, J. Molecular Diversity and characterization of *Staphylococcus aureus* tetracycline –resistant isolates from a poultry processing plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 1, p. 574-579, 2005.
- IGARASHI, H.; FUJIKAWA, H.; SHIGAKI, M.; BERGDOLL, M.S. Latex agglutination test for staphylococcal toxic shock syndrome. **Journal Clinical Microbiology**, v. 23, n. 3, p. 509-512, 1986.
- IWATSUKI, K.; YAMASAKI, O.; MORIZANE, S.; OONO T. Staphylococcal cutaneous infections: Invasion, evasion and aggression. **Journal of Dermatological Science**, v. 42, p. 203-214, 2006.
- JANSEN, B.; PETERS G.; PULVERER, G. Mechanisms and clinical relevance of bacterial adhesion to polymers. **Journal of Biomaterial Applications**, v. 2, p. 520-543, 1988.
- JAY, J.M. **Microbiologia dos alimentos**. Trad. por TONDO, E.C.; RECH, R.; GEIMBA, M.P.; FLÔRES, S.H.; FRAZZON, J.; CARVALHO, A.L.O.; FRAZZON, A.P.G.; OLIVEIRA, F.A.; OLIVEIRA, F.C.; BIANCHINI, A.; SILVA, A.C.A. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 471-490.
- KANG, Y.J.; FRANK, F.J. Biological Aerosols: a review of airborne contamination and its measurement in dairy processing plants. **Journal of Food Protection**, v. 52, n. 7, p. 512-524, 1980.
- KEEVIL, C.W. Chemostat models of human and aquatic corrosive biofilms. In: HATTORI, T.; ISHIDA, Y.; MARUYAMA, Y.; MORITA, R.Y.; UCHIDA, A. (Eds.). **Recent Advances in Microbial Ecology**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1989. p. 151-156.
- KEHR, S.J.; CASTILLO, D.L.; MORALES, V.B.; RIDERMANN, S.K.; CAMPANO, B.M.; ARANDA, C.W. Contaminación microbiana de fórmulas enterales de uso. **Revista Chilena Pediatría**, v. 73, p. 248-256, 2002.
- KEIM, L.S. **Mapeamento dos estafilococos coagulase negativo no hospital universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense, no período de 1998 a 2002**. Niterói, RJ: UFF, 2005.132 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- KESSLER, F.P.; CARDOSO, V.A.; SANTOS, A.B.; WADY, M.T.P.; FARAGE, S.; TORTORA, J.C.O. Avaliação microbiológica de dietas enterais artesanais utilizadas no Hospital Universitário Antônio Pedro. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 15, n. 4, p. 426-435, 2000.

KLAASSEN, L.J.; GARCÍA, C.P.; MAÍZ, G.A.; CAMPANO, B.M. Mecanismos de contaminación de las fórmulas para nutrición enteral. **Revista Chilena de Infectología**, v.19, p. 69-73, 2002.

KLOOS, W.E.; MUSSELWHITE, M.S. Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. **Applied of Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 381–385, 1975.

KLOOS, W.E. *Staphylococcus*. In: COLLIER, L.; BALOWS, A.; SUSSMAN, M. (Eds.). **Microbiology and microbial infections**. 9. ed. London: Arnold: Topley & Winson's, 1998. v. 2. [CD-ROM Windows 3.1].

KLUITMANS, J.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 3, p. 505-520, 1997.

KNOBLOCH, J.K.; HORSTKOTTE, M.A.; ROHDE, H.; KAULFERS, P.M.; MACK, D. Alcoholic ingredients in skin disinfectants increase biofilm expression of *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, p. 683-687, 2002.

LANCETT, G.A.; BENNETT, R.W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds.). **Compendium methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. [S.l.]: APHA, 2001. cap. 39, p. 387-404.

LEIBOVITZ, A.; DAN, M.; ZINGER, J.; CARMELI, Y.; HABOT, B.; SEGAL, R. *Pseudomonas aeruginosa* and the oropharyngeal ecosystem of tube-fed patients. **Emerging Infectious Disease**, v. 9, p. 956-959, 2003b.

LEIBOVITZ, A.; PLOTNIKOV, G.; HABOT, B.; ROSENBERG, M.; SEGAL, R. Pathogenic colonization of oral flora in frail elderly patients fed by nasogastric tube or percutaneous enterogastric tube. **Journal Gerontology Series A Biological and Medical Science**, v. 58, p. 52- 55, 2003a.

LEJEUNE, P. Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. **Trends in Microbiology**, v. 11, p. 179-184, 2003.

LIMA, A.R.C.; BARROS, L.M.; ROSA, M.S.; CARDONHA, A.M.S.; DANTAS, M.A.M. Microbiologic evaluation of enteral diets done in hospital. **SciELO**, v. 20, 2005.

LINDSAY, J.A.; FOSTER, S.J. Interactive regulatory pathways control virulence determinant production and stability to environmental conditions in *Staphylococcus aureus*. **Molecular and General Genetics**, v. 262, p. 323-331, 1999.

LYTSKY, B.Y. Sterility assurance in hospital. Who's responsibility? **Association of Operating Room Nurses Journal**, v. 27, p. 200-201, 1978.

MACHADO, G.P.M. Aspectos epidemiológicos das infecções hospitalares. In: MARTINS, M.A. **Manual de infecção hospitalar**. 2. ed. Rio de Janeiro, 2001. p. 27-31.

MAKI, D.G. Infections caused by intravascular devices used for infusion therapy: pathogenesis, prevention, and management. In: BISNO, A.L.; WALDOVOGEL, F.A. (Ed.). **Infections Associated with Indwelling Medical Devices**. 2. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1994. p. 155-212.

MANGRAM, A.J.; HORAN, T.C.; PEARSON, M.L.; SILVER, L.C.; JARVIS, W.R.; THE HOSPITAL INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <<http://www.apic.org/AM/Template.cfm?Section=Home&CONTENTID=1148&TEMPLATE=/CM/ContentDisplay.cfm>>. Acesso em: 18 set. 2007.

MARSHALL, K.C. **Interfaces in microbial ecology**. Cambridge, Massachussets: Harvard University Press, 1976.

MARSHALL, K.C.; STOUT, R.; MITCHELL, R. Mechanism of initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. **Journal of General Microbiology**, v. 68, p. 337-348, 1971.

MARSHALL, V. Inoculated ecosystems in a milk environment. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, p. 127-135, 1992.

MARTIN, E.M.; MYERS, E.R.; IANDOLO, J.J. *Staphylococcus aureus*. In: HUI, Y. H.; PIERSON, M.D.; GORHAM, J.R. (Eds.). **Foodborne disease handbook**. 2. ed. [S.l. : s.n.], 2001. v. 1. cap. 15, p. 345-381.

MATHUS-VLIEGEN, L.M.H.; BINNEKADE, J.M.; DE HAAN, R.J. Bacterial contamination of ready-to-use 1-L feeding bottles and administration sets in severely compromised intensive care patients. **Critical Care Medicine**, v. 28, p. 67-73, 2000.

MATLOW, A.; JACOBSON, M.; WRAY, R.; GOLDMAN, C.; STREITENBERGER, L.; FREEMAN, R.; KOVACH, D. Enteral tube hub as a reservoir for transmissible enteric bacteria. **American Journal of Infection Control**, v. 34, p. 131-133, 2006.

MAURÍCIO, A.A.; GENTA, T.M.S.; MATIOLI, G. Verificação das Boas Práticas de preparação e análise microbiológica de dieta enteral em serviço de nutrição e dietética de hospital privado. **Acta Scientiarum – Health Science**, Maringá, PR, v. 27, n. 2, p. 157-161, 2005.

MEDEIROS, E.A.S.; MACHADO, A.; FERRAZ, A.A.B.; FERRAZ, E.; ARRUDA, E.; NOBRE, J.; KONKEWICZ, L.R.; PIMENTEL, M.L.; LEÃO, M.T.C.; TRABASSO, P.; GRIMBAUM, R. **Projeto Diretrizes**: Prevenção da infecção hospitalar. Sociedade Brasileira de Infectologia, 2001. Disponível

em: <http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/065.pdf>. Acesso em: 8 dez. 2006.

MEHALL, J.R.; KITE, C.A.; GILLIAM, C.H.; JACKSON, R.J.; SMITH, S.D. Enteral Feeding Tubes Are a Reservoir for Nosocomial Antibiotic-Resistant Pathogens **Journal of Pediatric Surgery**, v. 37, n. 7, p 1011-1012, 2002.

MERCK. Microbial air monitoring - **MAS 100 air sampler**: technical information. Net. Taiwan, 2007. Disponível em: <<http://www.merck.com.tw>>. Acesso em: 21 jun. 2007.

MERMEL, L.A. New technologies to prevent intravascular catheter-related bloodstream infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 2, p. 197-199, 2001.

MIDELET, G.; CARPENTIER, B. Impact of cleaning and disinfection agents on biofilm structure and on microbial transfer to a solid model food. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, p. 262-270, 2004.

MIRONOV, V.L. Fundamentals of Scanning Probe Microscopy. **The russian academy of sciences**. Nizhniy Novgorod, Rússia: Institute for Physics of Microstructures, 2004.

MITNE, C.; SIMÕES, A.M.G.; WAKAMOTO, D.; DE LIORI, G.P.; SULLIVAN, M.; COMER, G.M. Análise de dietas enterais artesanais. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.16, n. 3, p. 100-109, 2001.

MIURA, E. Infecção pelo estafilococo coagulase-negativa em recém-nascidos: mito ou verdade? **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. 4, 2002.

MOE, G. Enteral feeding and infection in the immunocompromised patient. **Nutrition in. Clinical. Practice**, v. 6, p. 55-64, 1991.

MONTEMERLO, H.J.; MENÉNDEZ, A.M.; MARCENAC, F.; FLORIDIA, J.; ESTEBAN, L.; BARBARICCA, M. Nutrición Enteral: reducción del riesgo de contaminación. **Nutrición Hospitalaria**, v. 11, n. 2, p. 102-107, 1996.

MOOSDEEN, F.; KEEBLE, J.; WILLIAMS, J.D. Induction/inhibition of chromosomal β -lactamases by β -lactamase inhibitors. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 5, n. 8, p. 562-568, 1986.

MOREIRA, M.; MEDEIROS, E.A.S.; PIGNATARI, A.C.C.; WEY, S.B.; CARDO, D.M. Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 44, n. 4, p. 263-268, 1998.

MOSTELLER, T. M.; BISHOP, J. R. Sanitizer efficacy against attached bacteria in a milk biofilm. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 1, p. 34-41, 1993.

MOURA, K.K.V.; SILVA A.A. Infecção hospitalar: a solução em nossas mãos. **Ciência Hoje**, n. 29, 2001.

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

MUNIZ, C.K. **Análise de perigos e pontos críticos de controle em dietas enterais manipuladas em hospital universitário público do Brasil**. Uberlândia, MG: UFU, 2005. 71 f. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) – Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas, Uberlândia.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS) Report, data summary from october 1986-april 1996, issued may 1996: A report from the National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. **American Journal of Infection Control**, v. 24, n. 5, p. 380-388, 1996.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico**: norma aprovada. 6. ed. M7-A6, v. 23, n. 2, 2003.

NAVAJAS, M.F.C.; CHACON, D.J.; SOLVAS, J.F.G.; VARGAS, R.G. Bacterial contamination of enteral feeds as a possible risk of nosocomial infection. **Journal of Hospital Infection**, v. 21, p. 111-120, 2004.

NETO, F.T. **Nutrição clínica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. cap. 20, p. 234-242.

NICAS, T.I.; COLE, C.T.; PRESTON, D.; NAGARAJAN, R. Activity of glicopeptides against vancomycin-resistant Gram positive bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, n. 33, p. 1477-1481, 1989.

NORTHCUTT, J.K.; JONES, D.R.; INGRAM, K.D.; HINTON, A.; MUSGROVE, M.T. Airborne microorganisms in commercial shell egg processing facilities. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 3, p. 195-200, 2004.

O'TOOLE, G.A.; KAPLAN, H.B.; KOLTER, R. Biofilm formation as microbial development. **Annual Review Microbiology**, v. 56, p. 187-209, 2000.

O'GRADY, N.P.; ALEXANDER, M.; DELLINGER, E.P.; GERBERDING, J.L.; HEARD, S.O.; MAKI, D.G.; MASUR, H.; McCORMICK, R.D.; MERMEL, L.A.; PEARSON, M.L.; RAAD, I.I.; RANDOLPH, A.; WEINSTEIN, R.A. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. **The MMWR Recommendations and Reports**, v. 51, p.1-29, 2002.

OLIVEIRA, K.M.P. **Adesão de *Salmonella enteritidis* em diferentes superfícies de processamento de alimentos**. Londrina, PR: UEL, 2006. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

OLIVEIRA, M.H.; BONELLI, R.; AIDOO, K.E.; BATISTA, C.R.V. Microbiological quality of reconstituted enteral formulations used in hospitals. **Nutrition**, Burbank, v.16, n. 9, p. 729-733, 2000.

OLIVEIRA, R.; AZEREDO, J.; TEIXEIRA, P. The importance of physicochemical properties in biofilm formation and activity. **Biofilms in wastewater treatment**. [S.l. : s.n.], 2003.

OREFICE, R. **Engenharia de interfaces**. Disponível em: <<http://www.demet.ufmg.br/docentes/rodrigo/interfaces.htm>>. Acesso em: 19 maio 2007.

OTTO, M. Quorum-sensing control in Staphylococci: a target for antimicrobial drug therapy? **FEMS Microbiology Letters**, v. 241, p. 135-141, 2004.

PAIVA NETTO, J.V. **Antibióticos e quimioterápicos em medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Livraria Ateneu, 1989. 181 p.

PARIZZI, S.Q.F. **Adesão bacteriana em diferentes superfícies avaliada pela microscopia de epifluorescência e contagem em placas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PASCUAL, A.; ARELLANO, E.R.; MARTINEZ, L.; PEREA, E.J. Effect of polyurethane catheters and bacterial biofilms on the in-vitro activity of antimicrobials against *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of Hospital Infection**, v. 24, p. 211-218, 1993.

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

PATEL, K.R.; TANG, H.; GREVER, W.E.; SIMON N.G., K.Y.; XIANG, J.; KEEP, R.F.; CAO, T.; McALLISTER, J.P. Evaluation of polymer and self-assembled monolayer-coated silicone surfaces to reduce neural cell growth. **Biomaterials**, v. 27, p. 1519-1526, 2006.

PEACOCK, S.J.; MANDAL, S.; BOWLER, I.C.J.W. Preventing *Staphylococcus aureus* infection in the renal unit. **Oxford Journal of Medicine**, v. 95, p. 405-410, 2002.

PEÑA, C.; FERNÁNDEZ-SABE, N.; DOMINGUEZ, M.A.; PUJOL, M.; MARTINEZ-CASTELAO, A.; AYATS, J.; GUDIOL, F.; ARIZA, J.

Staphylococcus aureus nasal carriage in patients on haemodialysis: role of cutaneous colonization. **Journal of Hospital Infection**, v. 58, p. 20-27, 2004.

PEREIRA, M.A.; ALVES, A.A.; AZEREDO, J.; MOTA, M.; OLIVEIRA, R. Influence of Físico-chemical Properties of Porous Microcarriers on the Adhesion of a Anaerobic Consortium. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 24, p. 181-186, 2000.

PEREIRA, M.O. **Comparação da eficiência de dois biocidas (Carbamato e Glutaraldeído) em sistemas de biofilme**. Minho, Braga. Portugal: Universidade de Minho, 2001. 211 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) – Universidade do Minho, Minho.

PEREIRA, R.G.; REIS, D.; AMBRÓSIO J.R.; G.N.; RADDI, M.S.G.; PEDIGONE, M.A.M.; MARTINS, C.H.G. Bioaerossóis bacterianos em um hospital. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 26, n. 1, p. 77-81, 2005.

PETERS, G.; LOCCI, R.; PULVERER, G. Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. **Journal Infestans**, v. 146, p. 479-482, 1982.

PITTET, D.; TARARA, D.; WENZEL, R.P. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients, excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. **Journal of the American Medical Association**, n. 20, v. 271, p. 1598-1601, 1994.

PITTET, D.; WENZEL, R.P. Nosocomial bloodstream infections. **Archives Internal of Medicine**, v. 155, p. 1.177-1; 184, 1995.

PREVOST, G.; COUPPIE, P.; PREVOST, P.; GAYET, S.; PETIAU, P.; CRIBIER, B.; MONTEIL, H.; PIEMONT, Y. Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. **Journal of Medical Microbiology**, n. 4, v. 42, p. 237-245, 1995.

PRÜSS, A.; GIROULT, E.; RUSHBROOK, P. **Safe management of wastes from healthcare activities**. World Health Organization, Geneva, 1999. 226p. Disponível em: <www.who.int/entity/water_sanitation_health/medicalwaste/148to158.pdf>. Acesso em: 20 set. 2007.

QUETGLAS, E.G.; PEREA, J.R.A.; RADA, B.S.D.; ALDEÃ, I.G. Farmacologia de antimicrobianos utilizados em el tratamiento de las infecciones graves por bacterias Gram-positivas. **Revista Espanola Quimioterapia**, v. 16, n. 3, p. 277-288, 2003.

QUIRYNEN, M.; VAN DER MEI, H.C.; BOLLEN, C.M.L.; GEERTSEMA-DOORNBUSCH, G.I.; BUSSCHER, H.J.; VAN STEENBERGHE, D. Clinical Relevance of the Influence of Surface Free Energy and Roughness on the Supragingival and Subgingival Plaque Formation in Man. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 2, p. 25-31, 1994.

RAPINI, L.S.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S.; VERAS, J.F.; SOUZA, M.R. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 6, p. 825-829, 2005.

RAZATOS, A.; ONG, Y.L.; SHARMA, M.M.; GEORGIU, G. Molecular determinants of bacterial adhesion monitored by atomic force microscopy. **Applied Biological Science**, v. 95, p. 11059-11064, 1998.

REESE, R.E.; BETTS, R.F.; GUMUSTOP, B. **Manual de antibióticos**. 3. ed. Tradução por Penildon Silva. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2002. 720 p.

REISS, M.A. Toxic shock syndrome. **Primary Care Update Obstetricians/Gynecologists**, v. 7, n. 3, p. 85-90, 2000.

RESCH, A.; ROSENSTEIN, R.; NERZ, C.; GÖTZ, F. Differential gene expression profiling of *Staphylococcus aureus* cultivated under biofilm and planktonic conditions. **Applied Environmental Microbiology**, v. 5, p. 2663-2676, 2004.

RINKER, B.; GINSBURG, H.B.; GENIESER, N.B.; GITTES, G.K. Obstructive jaundice caused by placement of a nasoenteric feeding tube. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 35, n. 4, p. 619-620, 2000.

RODRIGUEZ, F. **Principles of polymer systems**. 3. ed. New York: Hemisphere Publishing Corporation, 1989. p. 602-603.

SALUSTIANO, V.C. **Avaliação da microbiota do ar de ambientes de processamento em uma indústria de laticínios e seu controle por agentes químicos**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SALUSTIANO, V.C.; ANDRADE, N.J.; BRANDÃO, S.C.C.; AZEREDO, R. M.; LIMA, S.A.K. Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 255-259, 2003.

SANTOS, B.H.C.; SOUZA, E.L.; SOUSA, C.P.; SERRÃO, L.H.C.; AMARAL, W.C. Manipuladores como causas potenciais de contaminação microbiana de alimento enteral. **Infarma**, v. 15, n. 11-12, 2004.

SANTOS, M.I.S.; TONDO, E.C. Determinação de perigos e pontos críticos de controle para implantação de sistema de análise de perigos e pontos

críticos de controle em lactário. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 3, p. 211-222, 2000.

SÃO PAULO, **Como interpretar os relatórios de infecção hospitalar- parte i** -2006. Secretaria de Estado da Saúde coordenadoria de controle de doenças- ccd centro de vigilância epidemiológica prof. Alexandre Vranjac – cve divisão de infecção hospitalar orientações para os profissionais de vigilância epidemiológica nas direções regionais de saúde e municípios Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/ih/ih_orient0203.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2007.

SAUER, K.; CAMPER, A.K.; EHRLICH, G.D.; COSTERTON, J.W.; DAVIES, D.G. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as biofilm. **Journal of Bacteriology**, v. 184, p. 1140-1154, 2002.

SCHMIDT, H.; SCHLÖRICKE, E.; FISLAGE, R.; SCHULZE, H.A.; GUTHOFF, R. Effect of surface modifications of intraocular lenses on the adherence of *Staphylococcus epidermidis*. **Zentralblatt Fuer Bakteriologie**, v. 287, p. 135-451, 1998.

SEGAL, R.; POGORELIUK, I.; DAN, M.; BAUMOEHL, Y.; LEIBOVITZ, A. Gastric microbiota in elderly patients fed via nasogastric tubes for prolonged periods. **Journal of Hospital Infection**, v. 63, p. 79 e 83, 2006.

SEHULSTER, L.M.; CHINN, R.Y.W.; ARDUINO, M.J.; CARPENTER, J.; DONLAN, R.; ASHFORD, D.; BESSER, R.; FIELDS, B.; MCNEIL, M.M.; WHITNEY, C.; WONG, S.; JURANEK, D.; CLEVELAND, J. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. **Recommendations from Centers for Disease Control and Prevention and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)**. Chicago IL; American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association. 2004. Disponível em: <<http://www.apic.org/AM/Template.cfm?Section=Home&CONTENTID=1174&TEMPLATE=/CM/ContentDisplay.cfm>>. Acesso em: 18 set. 2007.

SENA, M.J. **Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema de lactoperoxidase de *Staphylococcus spp.* isolados de queijos coalho comercializados em Recife**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 2000. 75 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SEXTON, T.; CLARKE, P.; O'NEILL, E.; DILLANE, T.; HUMPHREYS, H. Environmental reservoirs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. **Journal of Hospital Infection**, v. 62, p. 187-194, 2006.

SHARMA, P.K.; HANUMANTHA RAO, K. Adhesion of *Paenibacillus polymyxa* on chalcopyrite and pyrite: surface thermodynamics and extended DLVO theory. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 29, p. 21-38, 2003.

SHINEFIELD, H.R. Staphylococcal infections. In: REMINGTON, J.S.; KLEIN, J.O. (Eds.). **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**. 5. ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 2001. p.1217-1247.

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

SIBER, A. Disponível em: <<http://www.nanotech-now.com>>. Acesso em: 21 jun. 2007.

SIEGEL, J.D.; RHINEHART, E.; JACKSON, M.; CHIARELLO, L.; THE HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infections agents in healthcare settings 2007. **Centers for Disease Control and Prevention**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Isolation2007.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2007.

SILBERT, S.; ROSA, D.D.; MATTE, U.; GOLDIM, J.R.; BARCELLOS, S.H.; PROCIANOY, R.S. *Staphylococcus* sp. coagulase-negativa em hemoculturas de pacientes com menos de sessenta dias de idade: infecção versus contaminação. **Jornal de Pediatria**, v. 73, p. 161-165, 1997.

SILVA, C.A.S. **Avaliação da adesão bacteriana em polímeros empregados na indústria de alimentos irradiados com cobalto 60**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 73 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA, D.F. **Efeito de prebióticos adicionados em dietas enterais na translocação de *klebsiella* sp. em camundongos**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 58 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVA JÚNIOR, E.A. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2002. 479 p.

SILVA, N.B.; RAVANELLO, M.L.; CANTARELLI, M. Pneumonia nosocomial em pacientes críticos. Análise dos resultados obtidos na UTI de Adultos do Hospital Moinhos de Vento durante cinco anos de acompanhamento. **Bisturi**, v. 135, p. 26-28, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SILVA, R.M.M. **Especificações microbiológicas para ambientes, manipuladores e equipamentos em restaurantes industriais**. Viçosa, MG: UFV, 1996. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SILVEIRA, G.P.; NOME, F.; GESSER, J.C.; SÁ, M.M.; TERENZI, H. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SILVEIRA, M. Preparação de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. In: **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. São Paulo: USP, 1989. v. 1, p. 71-79.

SINGH, R.; PAUL, D.; JAINA, R.K. Biofilms: implications in bioremediation. **Trends in Microbiology**, v. 14, n. 9, 2006.

SMITH, G.C.; SOFOS, J.N.; BELK, K.E.; SCANGA, J.A.; TATUM J.D. Pathogen contamination of cattle and beef; Challenges and opportunities in process control. In: World Buiatrics Congress, 21., 2000, Punta del Este. **Anais...** Punta del Este, Uruguay, 2000. p. 1-34.

SNYDER, L.; CHAMPNESS, W. **Molecular genetics of bacteria**. 2. ed. Washington: ASM Press, 2003.

SOARES, M.J.S.; TOKUMARU-MIYAZAKI, N.H.; NOLETO, A.L.S.; FIGUEIREDO, A.M.S. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (III:B:A) among isolates from food handlers. **Journal of Medical Microbiology**, v. 46, p. 214-221, 1997.

SOUZA, R.T. **Infecção hospitalar do trato respiratório: bactérias envolvidas e profilaxia**. São João da Boa Vista, SP: Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos São João da Boa Vista, 2005. 48 f. Dissertação (Monografia do Curso de Ciências Biológicas) – Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos São João da Boa Vista, São João da Boa Vista.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS/STAT™ User's Guide**. Release 6.03 edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1988. p.1028.

STEVENS, M.P. **Polymer chemistry: an introduction**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 1990. p. 440-492.

STREIFEL, R.J. Design and maintenance of hospital ventilation systems and the prevention of airborne nosocomial infection. In: MAYHALL, C.G. (Ed.). **Hospital epidemiology and infection control**. 1. ed. Baltimore: William & Wilkins, 1996. p. 955-963.

SULLIVAN, J.J. Air microbiology and dairy processing. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 34, p. 133-138, 1979.

SVEUM, W.H. et al. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. APHA, 1992. cap. 3, p. 51.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds.). **Compendium methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. [S.l.]: APHA, 2001. cap. 6, p. 53-62.

SZEWCZYK, E.M.; PIOTROWSKI, A.; RÓZALSKA, M. Predominant staphylococci in the intensive care unit of a paediatric hospital. **Journal of Hospital Infection**, v. 45, p. 145-154, 2000.

TANG, J.W.; LI, Y.; EAMES, I.; CHAN, P.K.; RIDGWAY, G.L. Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. **Journal of Hospital Infection**, v. 64, p. 100-114, 2006.

TAVARES, W. Grupo da vancomicina. In: Tavares W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**, 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 627-664.

TAYLOR, J.H.; HOLAH, J.T. A comparative evaluation with respect to the bacterial cleanability of a range of wall and floor surface materials used in the food industry. **Journal Applied Bacteriology**, v. 81, p. 262-266, 1996.

TEIXEIRA, P.J.Z.; HERTZ, F.T.; CRUZ, D.B.; CARAVER, F.; HALLAL, R.C.; MOREIRA, J.S. Pneumonia associada à ventilação mecânica: impacto da multirresistência bacteriana na morbidade e mortalidade. **Journal Brasileiro de Pneumologia**, v. 30, n. 6, p. 540-548, 2004.

TOUFEN, C.J.; HOVNANIAN, A.L.D.; FRANCA, S.A.; CARVALHO, C.R.R. Prevalência de Infecção em Unidades de Terapia Intensiva de um hospital escola terciário. **Revista do Hospital das Clínicas**, v. 58, n. 5, p. 254-259, 2003.

TRICK, W.E. Computer algorithms to detect bloodstream infections. **Emerging Infectious Diseases**, n. 9, v. 10, 2004.

TROLLER, J.A. **Sanitation in food processing**. 2. ed. New York: Academic Press, 1993. p. 52-69.

VALCARCE, M.B.; BUSALMEN, S.R.; SÁNCHEZ, S.R. The influence of the surface condition on the adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to copper and aluminium brass. **International Biodeterioration e Biodegradation**, v. 50, p. 61-66, 2002.

VAN DER MEI, H.C.; BOS, R.; BUSSCHER, H.J. A referente guide to microbial cell surface hydrophobicity based on contact angles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 9, p. 81, 1997.

VAN DER MEI, H.C.; VAN DE BELT-GRITTER, B.; DOYLE, R.J.; BUSSCHER, H.J. Cell surface analysis and adhesion of chemically modified streptococci. **Journal of Colloid and Interface Science**, n. 2, v. 241, p. 327-332, 2001.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W.; SCHRAA, G.; ZEHNDER, A.J.B. The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 8, p. 1893-1897, 1987.

VAN OSS, C.J. The forces involved in bioadhesion to flat surfaces and particles-their determination and relatives roles. **Biofouling**, v. 4, p. 25-35, 1991.

VAN OSS, C.J.; GIESE, R.F. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. **Clays and Clay Minerals**, v. 43, p. 474-477, 1995.

VAN OSS, C.J.; GIESE, R.F.; COSTANZO, P.M. DLVO and non-DLVO interactions in hectorite. **Clays Clay Minerals**, v. 38, p. 151-159, 1990.

VAN OSS, C.J.; CHAUDHURY, M.K.; GOOD, R.J. Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems. **Chemical Reviews**, v. 88, p. 927-941, 1988.

VAN OSS, C.J.; CHAUDHURY, M.K.; GOOD, R.J. Monopolar surfaces. **Advances Colloid Interfaces Science**, v. 28, p. 35-64, 1987.

VICENT, J.L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. **Lancet**, London, v. 361, p. 2068-2075, 2003.

VIEIRA, M.J.; MELO, L.F.; PINHEIRO, M.M. Biofilm Formation: Hydrodynamic Effects on Internal Diffusion and Structure. **Biofouling**, v. 7, p. 67-80, 1993.

VILAR, W.D. **Química e tecnologia de poliuretanos**. 3. ed. Vilar Consultoria, Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <<http://www.poliuretano.com.br>>. Acesso em: 9 jul. 2007.

VOGLER, E.A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. **Advances in colloid and interface science**, v. 74, p. 69-117, 1998.

VON EIFF, C.; PETERS, G.; HEILMANN, C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, n. 11, p.677-685, 2002.

VON EIFF, C.; PROCTOR, R.A.; PETERS, G. Coagulase-negative staphylococci. **Postgraduate Medicine**, n. 4, v. 110, 2001. Disponível em: <http://www.postgradmed.com/issues/2001/10_01/eiff.htm>. Acesso em: 1 out. 2007.

VUONG, C.; SAENZ, H.L.; GOTZ, F.; OTTO, M. Impact of the agr quorum sensing system on adherence to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Infectious Diseases**, v.182, p.1688-1693, 2000.

WEBER, D.J.; RUTALA, W.A. The environment as a source of nosocomial infections. In: WENZEL, R. P. (Ed.). **Prevention and Control of Nosocomial Infections**. 4. ed. [S.I.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2003. p. 575-597.

WENZEL, R.P. The lowbury lecture. The economics of nosocomial infection. **Journal of Hospital Infection**, v. 31, p. 79-87, 1995.

WHITEKETTLE, W.K. Effects of surface-active chemicals on microbial adhesion. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 7, p.105-116, 1991.

WIDMER, A.F.; FREI, R. Decontamination, disinfection and sterilization. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; PFALLER, M.A.; YOLKEN, R.H. (Ed.). **Manual of Clinical Microbiology**. 8. ed. Washington: ASM Press, 2003. p. 77-108.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Practical guidelines for infection control in health care facilities**. World Health Organization, Regional Office for South-East Asia, New Delhi, Regional Office for Western Pacific, Manila, 2004. 110 p. Disponível em: <http://www.wpro.who.int/publications/PUB_9290222387.htm>. Acesso em: 23 set. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO guidelines on hand hygiene in health care (advanced draft): a summary**. Clean hands are in safer hands. World Health Organization, Geneva, 2005. 34 f. Disponível em: <http://www.who.int/patientsafety/events/05/HH_en.pdf>. Acesso em: 1 out. 2007.

WRIGHT, A.V. Regulation the safety of probiotics. The european approach. **Current Pharmaceutical Desing**, v.11, p. 17-23, 2005.

XAVIER, J.B.; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J.S.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. **Boletim de Biotecnologia**, 2005. Disponível em: <<http://www.dequim.ist.utl.pt/bbio/76/pdf/biofilmes.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2006.

YARIKTAS, M.; DEMIRCI, M.; DONER, F.; TUZ, M.; AYNALI, G. Microbiologic findings of sinusitis by a novel method for obtaining culture. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 58, p. 49-52, 2007.

ZANETTE, S.I. **O microscópio de força atômica**. Disponível em: <<http://www.cbpf.br/~nanos/Apostila/index.html>>. Acesso em: 19 maio 2007.

ZIEBUHR, W.; HEILMANN, C.; GÖTZ, F.; MEYER, P.; WILMS, K.; STRAUBE, E.; HACKER, J. Detection of the intercellular adhesion gene cluster (ica) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. **Infection Immunology**, v. 65, p. 890-896, 1997.

ZIEBUHR, W.; HENNIG, S.; ECKART, M.; KRÄNZLER, H.; BATZILLA, C.; KOZITSKAYA, S. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 28, p. 14-20, 2006.

ZOTTOLA, E.A. Special techniques for studying microbial biofilms in food system. In: TORTORELLO, M.L.; GENDEL, S.M. (Ed.). **Food microbial analysis** – New technologies. IFT basic symposium series. Marcell Dekker, INC., 1997. cap. 16, p. 315-3346.

ZOTTOLA, E.A.; SASAHARA, K.C. Microbial biofilms in the food processing industry – Should they be a concern? **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 125-148, 1994.

ZUR, K.B.; MANDELL, D.L.; GORDON, R.E.; HOLZMAN, I.; ROTHSCHILD, M.A. Electron microscopic analysis of biofilm on endotracheal tubes removed from intubated neonates. **Otolaryngology – Head and Neck Surgery**, v. 130, n. 4, p. 407-414, 2004.