

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e**  
**Alimentos**



**Dissertação**

**Quantificação e Perfil de Sensibilidade e Resistência a  
Antimicrobianos de Patógenos Isolados em Linhas de Produção de  
Alimentos de um Hospital**

**Eliza Marques di Primio**

Pelotas, 2012

**ELIZA MARQUES DI PRIMIO**

**QUANTIFICAÇÃO E PERFIL DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA A  
ANTIMICROBIANOS DE PATÓGENOS ISOLADOS EM LINHAS DE  
PRODUÇÃO DE ALIMENTOS DE UM HOSPITAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof. Dra. Elizabete Helbig

Co-Orientadores: Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra  
Prof. Dra. Dulcinéa Blum Menezes

Pelotas, 2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D596q Di Primio, Eliza Marques

Quantificação e perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de patógenos isolados em linhas de produção de alimentos de um hospital / Eliza Marques Di Primio; orientadora Elizabete Helbig; co-orientadores Eliezer Ávila Gandra e Dulcinéa Blum Menezes . Pelotas, 2012.

97 f.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2012.

1. Nutrição. 2. Micro-organismos hospitalares. 3. Unidade de alimentação e nutrição hospitalar. 4. Resistência a antibióticos. I. Helbig, Elizabete, orient. II. Gandra, Eliezer Ávila, co-orient. III. Menezes, Dulcinéa Blum, co-orient. IV. Título.

CDD: 641.1

**Banca examinadora:**

Prof. Dra. Elizabete Helbig  
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)  
(Presidente)

Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra  
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)  
(Titular)

Prof. Dra. Ângela Nunes Moreira  
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)  
(Titular)

Prof. Dra. Susana Juliano Kalil  
(Universidade Federal do Rio Grande - FURG)  
(Titular)

Prof. Dra. Dulcinéa Blum Menezes  
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)  
(Suplente)

Dedico esta dissertação aos meus pais e minha irmã, pelo apoio que sempre me foi dado ao longo de toda minha vida acadêmica, e ao meu namorado, pelo incentivo e ajuda para que fosse possível a concretização deste trabalho.

À eles por tantas vezes me mostrarem ser possível.

## **Agradecimentos**

A realização deste trabalho se deve à Deus, e em muito à colaboração e apoio de diversas pessoas, as quais transmito os mais sinceros agradecimentos...

Aos meus orientadores, Prof. Dra. Elizabete Helbig e Prof. Dr. Eliezer Gandra, pela orientação com muita seriedade e competência, além da compreensão nas minhas dificuldades e indisponibilidades de tempo;

À nutricionista Angela Santiago, pelo incentivo inicial de ingressar no mestrado, e por isso hoje estou aqui;

Ao Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Júnior, pelo consentimento da realização desta pesquisa, assim como às nutricionistas do local que não mediram esforços para que este estudo ocorresse;

À Faculdade de Nutrição, por disponibilizar o Laboratório de Análises de Alimentos - LEAN (UFPel) para a realização das análises microbiológicas;

À equipe do LEAN (UFPel), Joana e Rosimere pelo apoio técnico;

À Prof. Dra. Dulcinéa Menezes, por ter aceitado me co-orientar, disponibilizando o Laboratório Genética de Micro-organismos do Instituto de Biologia (UFPel) para que este estudo obtivesse resultados mais amplos;

Ao PPGNA, ao Prof. Dr. Eliezer Gandra e a Prof. Dra. Dulcinéa Menezes, pelo apoio financeiro;

Aos graduandos em nutrição, Bianca, Edcarlos e Simone, pelo apoio na realização das análises microbiológicas;

À secretaria do PPGNA, Eliane, pelo carinho e disponibilidade;

Às colegas de trabalho, nutricionistas do Hospital São Francisco de Paula, como amigas, conselheiras e que sempre foram disponíveis em facilitar meus horários, para que eu pudesse ter tempo para o mestrado;

Aos meus pais e minha irmã, pelo amor e que sempre estiveram na torcida com apoio e pensamento positivo;

À querida amiga Carolina Vargas, que me acompanhou nesta jornada como colega, sempre me incentivando nas noites de estudos;

À Wildon Panziera, pelo carinho e compreensão de tantas ausências, além do auxílio durante o andamento deste trabalho;

À todos os meus queridos amigos, que indiretamente, me acompanharam nesta jornada;

Aos amigos da 1<sup>a</sup> turma de Mestrado em Nutrição e Alimentos do PPGNA – UFPel, pelas agradáveis lembranças que serão eternamente guardadas no coração;

À todos, meu muito obrigada!

“Toda pesquisa é um permanente início-reinício  
em ciclos convergentes que representam a  
expressão pessoal cada vez mais livre, produtiva e  
construtiva em prol do benefício de todos”

Cerato SMM.

## Resumo

DI PPRIMIO, Eliza Marques. **Quantificação e Perfil de Sensibilidade e Resistência a Antimicrobianos de Patógenos Isolados em Linhas de Produção de Alimentos de um Hospital.** 2012. 97f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

Este estudo teve como objetivo avaliar a presença de estafilococos coagulase positiva, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Pseudomonas* spp em duas linhas de produção de alimentos de um hospital da cidade de Rio Grande – RS e determinar o perfil de resistência e sensibilidade das cepas isoladas a antibióticos de uso comum. A pesquisa foi realizada mediante autorização da direção do referido hospital e aprovação pelo comitê de ética. Foram analisados 23 pontos de amostragem, em 4 repetições, totalizando 92 amostras: 16 de ambientes, 20 de utensílios, 12 de equipamentos, 16 de mãos de manipuladores, 4 de dietas via oral padrão, 8 de fórmulas infantis, 8 de dietas enterais, 4 de mamadeiras e 4 de superfícies de sondas dos pacientes internados. Para as determinações microbiológicas foram adotadas as recomendações propostas por Downes & Ito (2001), e estas realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da Faculdade de Nutrição e no Laboratório Genética de Micro-organismos do Instituto de Biologia, ambos pertencentes à Universidade Federal de Pelotas - RS. Os testes de resistência/sensibilidade aos antibióticos foram realizados de acordo com protocolo proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) e *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011). Entre as 92 amostras analisadas, estafilococos coagulase positiva (ECP) foram enumerados em 44 (47,8%) e bacilos gram negativos em ágar MacConkey em 60 (65,2%) amostras. Em 45 (48,9%) amostras foi possível isolar *Klebsiella* spp e em 6 (11,5%) *Escherichia coli*. Não foram isoladas *Listeria monocytogenes* e enumeradas *Pseudomonas* spp nas amostras analisadas. Os antimicrobianos de menor eficiência para ECP foram oxacilina e penicilina-G e para *Klebsiella* spp ampicilina e cefalotina. Cabe ressaltar que foram encontradas cepas multirresistentes de ECP, *Klebsiella* spp e *E.coli*, as quais variaram a resistência de 2 até 8 antibióticos de uso comum. Do total de cepas isoladas, 37,4% apresentaram multirresistência, 32,1% mostraram-se resistentes a 1 dos antibióticos avaliados e 30,5% foram sensíveis a todos os antimicrobianos avaliados.

**Palavras-Chave:** Micro-organismos hospitalares. Unidade de alimentação e nutrição hospitalar. Resistência a antibióticos.

## **Abstract**

**DI PPRIMIO, Eliza Marques. Quantification and profile of Sensitivity and Resistance to Antimicrobials of Pathogens Isolated in Food Production Lines from a Hospital.** 2012. 97f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

This study aimed to evaluate the presence of coagulase positive staphylococci, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp and *Pseudomonas* spp in two lines of food production in a hospital in Rio Grande - RS and the profile of resistance and sensitivity of the strains to antibiotics in common use. The study was conducted under the direction of the authorization and approval by the hospital ethics committee. We analyzed 23 sampling points in four repetitions, totaling 92 samples: 16 rooms, 20 utensils, 12 equipment, 16 handed handlers, 4 standard oral diets, infant formulas 8, 8 enteral feedings, 4 bottles and 4 surface probes of hospitalized patients. For microbiological determinations were adopted recommendations proposed by Downes & Ito (2001), and they performed at the Laboratory of Food Analysis, Faculty of Nutrition and the Genetics Laboratory of Microorganisms of the Institute of Biology, both from the Federal University of Pelotas - RS. Tests for resistance / sensitivity to antibiotics were performed according to the protocol proposed by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003) and end Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011). Among the 92 samples analyzed, coagulase positive staphylococci (ECP) were listed in 44 (47.8%) and gram negative bacilli on MacConkey agar in 60 (65.2%) samples. In 45 (48.9%) samples was isolated *Klebsiella* spp and 6 (11.5%) *Escherichia coli*. There were isolated *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas* spp listed in the analyzed samples. The antimicrobial efficiency to lower ECP were oxacillin and penicillin G and ampicillin and cephalothin *Klebsiella* spp. It is noteworthy that multidrug-resistant strains were found ECP, *Klebsiella* spp and *Escherichia coli*, which varied the resistance of 2 to 8 antibiotics in common use. Of the total strains isolated, 37.4% showed multidrug resistance, 32.1% were resistant to one of the antibiotics tested and 30.5% were susceptible to all antimicrobials tested.

**Keywords:** Microorganisms hospital. Unit of hospital food and nutrition. Resistance to antibiotics.

## **Lista de Figuras**

### **ARTIGO 1**

Figura 1. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de estafilococos coagulase positiva, em 4 coletas, por ponto amostral em uma linha de produção de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS.....45

Figura 2. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de bacilos gram negativos em ágar MacConkey, em 4 coletas, por ponto amostral em uma linha de produção de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS. 46

### **ARTIGO 2**

Figura 1. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de estafilococos coagulase positiva, em 4 coletas, por pontos de amostragem de lactário e superfície de sonda em ambiente hospitalar, Rio Grande – RS.....63

Figura 2. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de bacilos gram negativos em ágar MacConkey, em 4 coletas, por pontos de amostragem de lactário e superfície de sonda em ambiente hospitalar, Rio Grande – RS.....65

## **Lista de Tabelas**

### **Metodologia Geral**

Tabela 1 - Delineamento experimental para isolamento de micro-organismos e teste de resistência a antibióticos nas linhas de produção de refeições, dietas enterais e fórmulas infantis em um hospital da cidade de Rio Grande-RS. ....34

### **ARTIGO 1**

Tabela 1. Perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana de cepas isoladas em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS. ....49

Tabela 2. Perfil de multirresistência de cepas isoladas em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS.....53

### **ARTIGO 2**

Tabela 1. Perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana de cepas isoladas em um lactário hospitalar, Rio Grande – RS. ....67

Tabela 2. Perfil de multirresistência de cepas isoladas em um lactário hospitalar, Rio Grande – RS. ....69

## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

Ágar Baird Parker - BP

Ágar MacConkey - MC

Ágar Muller-Hinton - MH

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA

Amicacina - AMI

Amoxicilina + Clavulanato - AMC

Ampicilina - AMP

Análise de variância - ANOVA

Boas Práticas - BP

Caldo de enriquecimento para *Listeria* spp - LEB

Caldo de enriquecimento secundário para *Listeria* spp - UVM II

Caldo e ágar semi-sólido Infusão Cérebro e Coração - BHI

Cefalotina - CFL

Cefepime - COM

Cefoxitina - CFO

Ceftazidima - CAZ

Cefuroxima - CRX

Ciprofloxacina - CIP

Clindamicina - CLI

Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI

Cloranfenicol - CLO

Cloreto de sódio - NaCl

Doenças Transmitidas por Alimentos - DTA

*E. coli* de aderência difusa - DAEC

*E. coli* enteroagregativa - EAEC ou EAEC

*E. coli* enteroinvasiva - EIEC

*E. coli* enteropatogênica - EPEC

*E. coli* enterotoxigenica - ETEC

*E. coli* Shiga Toxigênica - STEC

Eritromicina - ERI

Estados Unidos - EUA

Estafilococos coagulase positiva - ECP

Estimado - est

Gentamicina - GEN

Manual de Boas Práticas - MBP

Meropenem - MER

Método de concentração inibitória mínima - MIC

National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS

Oxacilina - OXA

Paraná - PR

Penicilina G - PEN

Procedimentos Operacionais Padronizados - POP

Produção de Citrato - C

Produção de indol - I

Produção de indol, Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e Produção de citrato - IMViC

Púrpura Trombocitopênica Trombótica - PTT

Resolução de Diretoria Colegiada - RDC

Rifampicina - RIF

Rio Grande do Sul - RS

Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - AIDS

Síndrome Hemolítico-Urêmica - HUS

Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC

Sulfazotrim - SUT

Tetraciclina - TET

Trypticase Soy Agar - TSA

Unidade Formadora de Colônia - UFC

Unidades de Alimentação e Nutrição - UAN

Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Vancomicina - VAN

Vermelho de Metila - VM

Vírus da Imunodeficiência Humana - HIV

Voges-Proskauer - VP

## Sumário

1 Introdução Geral.....	16
2 Revisão Literatura .....	19
2.1 Segurança Alimentar e Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) .....	19
2.2 Micro-organismos patogênicos.....	21
2.2.1 Estafilococos coagulase positiva.....	21
2.2.2 <i>Klebsiella</i> spp .....	22
2.2.3 <i>Pseudomonas</i> spp.....	23
2.2.4 <i>Escherichia coli</i> .....	24
2.2.5 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	25
2.3 Registros epidemiológicos de surtos de doenças de origem alimentar .....	26
2.4 Ferramentas para o controle higiênico-sanitário em unidade de alimentação e nutrição (UAN).....	27
2.5 Infecções hospitalares.....	28
2.6 Resistência de patógenos a antibióticos .....	30
3 Metodologia Geral .....	31
3.1 Materiais.....	31
3.1.1 Amostras .....	31
3.1.1.1 Produção / Unidade de alimentação e nutrição hospitalar (UAN).....	31
3.1.1.2 Lactário.....	31
3.1.2 Meios de cultura e soluções .....	31
3.1.3 Antibióticos .....	32
3.2 Métodos.....	33
3.2.1 Procedimentos de coletas .....	33
3.2.2 Determinações microbiológicas.....	34
3.2.2.1 Preparo das amostras .....	35
3.2.2.1.1 Estafilococos coagulase positiva (ECP) .....	35
3.2.2.1.2 Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey e isolamento de <i>E.coli</i> e <i>Klebsiella</i> spp.....	35
3.2.2.1.3 <i>Pseudomonas</i> spp.....	36
3.2.2.1.4 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	36
3.2.2.2 Avaliação do perfil de resistência/sensibilidade a antibióticos.....	36
4 Título 1 .....	38
Resumo .....	38
1 Introdução .....	39
2 Materiais e Métodos .....	40
2.1 Análises microbiológicas .....	41
2.1.1 Estafilococos coagulase positiva .....	41
2.1.2 Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey e isolamento de <i>E.coli</i> e <i>Klebsiella</i> spp.....	42
2.1.3 <i>Pseudomonas</i> spp.....	42
2.1.4 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	42
2.2 Perfil de resistência e sensibilidade a antibióticos .....	43
2.3 Tratamento estatístico .....	44

3 Resultados e Discussão .....	44
3.1 Enumeração e isolamento de patógenos em uma UAN hospitalar .....	44
3.2 Perfil de sensibilidade e resistência a antibióticos.....	48
4 Referências .....	54
5 Título 2 .....	57
Resumo .....	57
1 Introdução .....	58
2 Materiais e Métodos .....	59
2.1 Análises microbiológicas .....	60
2.1.1 Estafilococos coagulase positiva.....	60
2.1.2 Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey e isolamento de <i>E.coli</i> e <i>Klebsiella</i> spp.....	61
2.1.3 <i>Pseudomonas</i> spp.....	61
2.1.4 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	61
2.2 Perfil de resistência e sensibilidade a antibióticos.....	62
2.3 Tratamento estatístico .....	63
3 Resultados e Discussão .....	63
3.1 Enumeração e isolamento de patógenos em um lactário hospitalar .....	63
3.2 Perfil de sensibilidade e resistência a antibióticos.....	66
4 Referências .....	70
6 Conclusões Gerais .....	73
Referências Bibliográficas .....	74
Apêndices.....	79
Anexos .....	94

## 1 Introdução Geral

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são fatores de grande contribuição para o aumento da morbidade em países em desenvolvimento, sendo destacadas como um dos principais problemas de saúde pública (AKUTSU et al., 2005). Entre 1999 e 2008 foram registrados 6.062 surtos de DTA no Brasil, segundo registros do Ministério da Saúde, sendo que muitos casos não são notificados, uma vez que seus sintomas são, muitas vezes, confundidos com os da gripes ou se apresentam como discretas diarréias e vômitos (BRASIL, 2008).

As DTA são causadas por micro-organismos ou suas toxinas, após a ingestão de água e/ou alimentos contaminados. Além de serem um dos principais problemas de saúde pública, acarretam importantes gastos monetários (AMSON et al., 2006).

Segundo Badaró et al. (2007), as doenças veiculadas por alimentos, sobretudo as de causa microbiana, tem aumentado em todo o mundo, independente do grau de desenvolvimento, condição socioeconômica e cultural do país. Nota-se que esses dados vêm acompanhados do aumento do número de serviços de alimentação, impulsionado pelo desenvolvimento urbano e industrial.

Dentre os serviços de alimentação destacam-se aqueles prestados em unidades hospitalares, que tem por finalidade restaurar a saúde dos pacientes, sendo importante adjuvante ao tratamento médico. Diferente de outros serviços de alimentação, estes atendem pessoas enfermas e debilitadas, cujo sistema imunológico pode encontrar-se comprometido e mais suscetível às infecções, o que enfatiza a importância de boas práticas para obtenção de refeições inócuas a saúde do paciente (SOUZA & CAMPOS, 2003).

Embora todos os esforços sejam feitos para eliminar ou retardar o crescimento microbiano, o ambiente hospitalar é um importante reservatório para uma variedade de patógenos, como por exemplo: *Listeria monocytogenes*, estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Pseudomonas* spp. Esses patógenos são oportunistas em ambiente hospitalar e podem também estar presentes como contaminantes em alimentos (TORTORA, 2005).

Nas décadas de 40 e 50, a maioria das infecções hospitalares era atribuída a bactérias gram positivas, sendo estafilococos coagulase positiva a principal causa dessas infecções. Após duas décadas, bastonetes gram negativos, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas* spp eram apontados como os principais

responsáveis pelas infecções hospitalares. Entre os anos 80 e 90, verificou-se a emergência de patógenos gram positivos resistentes a antibióticos. Neste contexto, *S.aureus* foi responsável por 34% das infecções hospitalares, apresentando porcentagem de resistência a antibióticos entre 25 e 87% do total de patógenos isolados, enquanto que patógenos gram negativos como *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas spp* respondiam por 32% das infecções e 3 a 34% apresentavam perfil de resistência (TORTORA, 2005).

Alimentos podem constituir uma fonte potencial para os micro-organismos patogênicos sendo mais agravante, particularmente, em ambiente hospitalar, devido ao impacto que pode gerar em pacientes hospitalizados. No entanto, os efeitos de surtos alimentares em hospitais estão muito além do impacto na saúde e prognóstico de pacientes. Do ponto de vista econômico, eles acarretam grandes gastos hospitalares e medicamentosos (NETO, 2006).

Além de serem oportunistas, alguns micro-organismos, em hospitais, tornam-se resistentes a fármacos antimicrobianos que são comumente usados (TORTORA, 2005). Devido à importância clínica e em alimentos como veículo de bactérias, surge à necessidade de detectar e testar a resistência aos antibióticos de cepas isoladas da cadeia produtiva de refeições para pacientes em ambiente hospitalar.

A presença de micro-organismos resistentes a antibióticos está diretamente relacionada ao uso indiscriminado desses agentes antimicrobianos no tratamento de doenças, bem como na pecuária, onde são muito utilizados para aumento da eficiência alimentar e das taxas de crescimento em animais de diferentes espécies. Atualmente, cepas de bactérias multirresistentes são responsáveis por diversos surtos em todo o mundo e o arsenal terapêutico tem se tornado cada vez mais escasso (SANTOS et al., 2008). Em humanos, geralmente as infecções causadas por essas cepas são mais graves, aumentando os custos e o tempo do tratamento (SANTOS et al., 2006).

Com isso, a hipótese do estudo é que há pontos chave no ambiente hospitalar que possibilitam a contaminação de superfícies e de refeições com *Listeria monocytogenes*, estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* e *Pseudomonas spp* e que estes micro-organismos isolados em ambiente hospitalar são resistentes aos antibióticos de uso comum.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença e o perfil de resistência ou sensibilidade a antibióticos de uso terapêutico em humanos, de cepas de *Listeria monocytogenes*, estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Pseudomonas* spp provenientes das linhas de produção de alimentos de um hospital da cidade de Rio Grande, RS.

## 2 Revisão Literatura

### 2.1 Segurança Alimentar e Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA)

O conceito de qualidade de alimentos, na visão do consumidor, nada mais é do que a satisfação com relação às características como sabor, aroma, aparência da embalagem, preço e disponibilidade. Muitas vezes é desconhecida a condição intrínseca de “segurança alimentar”, quando se refere aos aspectos relacionados à influência deste alimento sobre a saúde do consumidor (SILVA et al., 2006).

Segundo Cavalli & Salay (2004), a segurança alimentar está diretamente relacionada aos tipos de sistemas de controle de qualidade empregados nas empresas, como as Boas Práticas (BP), e também à qualificação dos recursos humanos que atuam no setor.

O manipulador é o principal ponto crítico de controle em todas as etapas do processo de produção de alimentos, pois por meio dele pode ocorrer disseminação de micro-organismos deteriorantes e/ou patogênicos, principalmente se ele estiver com alguma injúria ou não possuir hábitos adequados de higiene pessoal. Entre estes se destaca a correta anti-sepsia das mãos, antes de qualquer procedimento, aliada à higienização e/ou desinfecção adequadas de seus instrumentos de trabalho, como os utensílios e equipamentos (MIRANDA et al., 2002; ALCÂNTARA et al., 2003).

A manipulação inadequada e a ausência de procedimentos adequados, como a não sanitização dos equipamentos utilizados na produção, levam a um incremento do crescimento microbiano, podendo comprometer a qualidade e segurança dos alimentos (MAISTRO, 2001).

O direito inalienável de todos os cidadãos terem acesso permanente aos alimentos necessários à vida, em quantidade e qualidade, tornando-a digna e saudável, é definido por Góes et al. (2001) como segurança alimentar. Para Spers & Kassof (1996), entende-se por segurança alimentar a aquisição, pelo consumidor, de alimentos de boa qualidade, livres de contaminantes de natureza química (pesticidas), biológica (micro-organismos patogênicos), física (vidros, pedras ou outros materiais estranhos ao produto), ou quaisquer outras substâncias que acarretem dano à saúde.

Segundo Souza & Silva (2004), a ocorrência de DTA associadas às Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) está intimamente ligada às condições higiênicas e, principalmente, ao baixo índice de conhecimento das BP. A qualidade higiênico-sanitária, como fator de segurança alimentar, tem sido amplamente estudada e discutida, uma vez que as doenças veiculadas por alimentos são um dos principais problemas de saúde pública, estando mais comumente relacionadas à contaminação microbiológica. Os seus efeitos podem ser diretos, por infecção ou pela invasão de tecidos do organismo humano pelo próprio microrganismo, ou indiretos, causado por toxinas presentes no alimento produzidas pelo microrganismo antes de ser ingerido (CHAVES, 2004).

Bean & Griffin (1990) consideram como surto de toxinfecção alimentar o fato de dois ou mais indivíduos serem afetados por doença similar, decorrente da ingestão do mesmo alimento. Geralmente, a toxose alimentar pode ocasionar distúrbios gastrointestinais agudos, como diarréia, vômitos e dores abdominais.

A qualidade microbiológica de alimentos está diretamente relacionada com a presença tanto de micro-organismos deterioradores, que irão contribuir com as alterações indesejáveis das características sensoriais do produto, tais como cor, odor, textura e aparência como, de micro-organismos patogênicos em concentrações prejudiciais à saúde. Assim, a segurança microbiológica diz respeito à ausência de toxinas microbianas e de micro-organismos patogênicos causadores de infecção alimentar (SILVA et al., 2006).

Vários são os fatores que contribuem para a emergência de DTA, os quais se destacam: crescente aumento da população, processo de urbanização desordenado, necessidade de produção de alimentos em grande escala e a existência de grupos populacionais vulneráveis (CENEPI, 2001).

Esses grupos populacionais vulneráveis destacam-se dentro dos serviços de alimentação prestados em unidades hospitalares, os quais atendem uma população imunodeprimida em consequência da infecção pelo HIV, idade avançada e maior sobrevida às doenças crônicas, sendo estes mais susceptíveis às infecções e desenvolvimento de quadros mais graves (ALTEKRUSE et al., 1997; SOUZA & CAMPOS, 2003).

A prevenção e o controle de DTA dependem dos esforços da indústria e do comércio de alimentos, bem como da ação educadora em vigilância dentro dos serviços de alimentação e saúde (ALTEKRUSE et al., 1997).

## **2.2 Micro-organismos patogênicos**

Micro-organismos que presentes nos alimentos podem representar risco à saúde são genericamente denominados “patogênicos”, podendo afetar tanto o homem como animais. Eles podem contaminar o alimento por inúmeras vias, sempre refletindo condições inadequadas de higiene durante a produção, armazenamento, distribuição e/ou manuseio. As características das doenças que esses micro-organismos causam dependem de uma série de fatores inerentes ao alimento, ao microrganismo patogênico em questão e ao indivíduo a ser afetado (FRANCO, 2005).

### **2.2.1 Estafilococos coagulase positiva**

O gênero Estafilococos é classificado como cocos gram positivos, imóveis, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos e produtores de catalase. Apresentam-se aos pares, tétrades, cadeias curtas ou em aglomerados irregulares em cachos. Algumas espécies produzem enzimas e toxinas tais como: coagulase, hialuronidase, enterotoxinas, toxinas, hemolisinas e leucocidinas (BANNERMAN, 2003).

Em relação a alimentos, os estafilococos são importantes porque sua presença pode indicar deficiência de processamento ou condições higiênicas inadequadas do processo, e porque suas enterotoxinas, uma vez presentes no alimento, poderão causar intoxicação alimentar. Estafilococos são reconhecidos como patógenos capazes de sobreviverem em alimentos refrigerados e podem ser evitados por meio de medidas que visem educar o manipulador (FREITAS et al., 2004; SOUZA et al., 2008).

São responsáveis por uma diversidade de patologias em humanos, sendo a incidência deste microrganismo elevada em casos de infecção hospitalar. A infecção estafilocócica pode ser causada por bactérias do próprio indivíduo, de outros doentes ou de portadores sadios e a transmissão ocorre por contato direto ou indireto (FARIA et al., 2005; BURKE, 2003).

Os Estafilococos são destaque na etiologia das infecções hospitalares e sua alta versatilidade em adquirir resistência aos antimicrobianos tornou-se uma preocupação universal. No Brasil estudos têm demonstrado prevalência de infecções hospitalares por *S.aureus* variando entre 17% a 26 % e, aproximadamente, 70% a 100% são causadas por amostras multirresistentes (RIBEIRO FILHO, 2000; TAVARES, 2000).

### **2.2.2 *Klebsiella* spp**

*Klebsiella* é um gênero de bactérias bacilares gram negativas, não móveis, capsuladas, da família Enterobacteriaceae. *Klebsiella* spp está presente na natureza e pode ser encontrada no ambiente natural (água e solo) e na superfície da mucosa dos mamíferos. Os sítios comuns de colonização nos humanos são os tratos gastrintestinal, respiratório e genitourinário (GUPTA et al., 2003).

*Klebsiella pneumoniae* é o mais importante microrganismo do gênero *Klebsiella* e, tem sido causa importante de infecções nosocomiais, especialmente no período neonatal e a taxa de mortalidade pode ser tão alta quanto 70% (TORTORA, 2005).

As infecções causadas por *Klebsiella* spp tendem a ocorrer em pessoas com sistema imunológico debilitado sendo responsável por alta taxa de mortalidade. Dentre as síndromes clínicas mais freqüentes citam-se: pneumonia, infecções do trato urinário e de feridas, bacteremia, rinite crônica atrófica, artrites, enterites, meningites em crianças e sepse (SCARPATE & COSSATIS, 2009).

A colonização do trato gastrintestinal por *Klebsiella* ocorre em todas as pessoas e constituem importantes fontes de transmissão. Estudos têm demonstrado que pelo menos 80% dos pacientes com infecção por *K. pneumoniae* produtoras de β-lactamase de espectro ampliado (ESBL) tiveram infecções precedidas pela colonização do trato gastrintestinal. Desta forma, deve-se considerar a tomada de precauções de contato para evitar que pacientes colonizados transmitam este mecanismo de resistência a outros pacientes (PATERSON & BONOMO, 2005).

Nas últimas duas décadas, a incidência de infecção causada por cepas multirresistentes tem aumentado. Segundo Gupta et al. (2003), *K. pneumoniae* foi isolada pela primeira vez em 1983 na Europa e, posteriormente, em 1989, nos Estados Unidos (EUA). A partir de dados nos EUA, a proporção de cepas de *K.*

*pneumoniae* resistentes a antibióticos aumentou de 1,5% em 1987 para 3,6% em 1991 e, em 1993, 20% destas cepas eram resistentes. Em 1999, de 82% de cepas de *K. pneumoniae* isoladas de 15 hospitais em Nova York, 34% apresentaram-se resistentes.

### **2.2.3 *Pseudomonas* spp**

*Pseudomonas* spp são bastonetes gram negativos aeróbicos que se locomovem por um único flagelo polar ou por meio de tufos, comuns em solo e em outros ambientes naturais. Sob certas condições, particularmente em hospedeiros enfraquecidos, este micro-organismo pode infectar o trato urinário, queimaduras, feridas, causar infecções sanguíneas (septicemia), abscessos e meningites (TORTORA, 2005).

Devido à frequência com que está envolvido em infecções no homem, representa um sério problema, particularmente, em pacientes hospitalizados, sendo, na atualidade, uns dos patógenos mais frequentes em infecções hospitalares. O quadro clínico é extremamente grave, especialmente em pacientes que apresentam deficiências do sistema imune ou infecções crônicas e em portadores de síndrome de imunodeficiência adquirida, com queimaduras graves, câncer, podendo os índices de mortalidade alcançar 50% (PETERSON, 2006).

Sua participação como patógeno oportunista é resultante de suas mínimas necessidades nutricionais. Além disso, apresenta resistência a uma ampla variedade de condições físicas, incluindo capacidade de se multiplicar mesmo sob refrigeração, com elevadas concentrações de corantes e sais, propriedades que contribuem para sua presença em diversos ambientes (PIRNAY et al., 2005).

Possui intensa atividade metabólica, degradando proteínas, gorduras, carboidratos e outros substratos, além de produzir pigmentos, causando alterações nas características químicas e sensoriais, representando o grupo de micro-organismos mais frequente em alimentos frescos, tanto de origem animal quanto vegetal (GUAHYBA, 2003).

Sua resistência a diferentes antimicrobianos pode ser intrínseca, devido à baixa permeabilidade de sua membrana e a capacidade de formar biofilme, ou adquirida pela associação, no solo, com micro-organismos naturalmente produtores de antibióticos. Devido à sua presença em uma multiplicidade de ambientes, pode

carrear plasmídios e genes que lhe conferem multirresistência. Por tal razão, se constitui em um dos paradigmas da resistência bacteriana, pois é uma bactéria para a qual facilmente podem confluir todos os mecanismos de resistência (CRESPO, 2002).

#### **2.2.4 *Escherichia coli***

A *Escherichia coli* é um micro-organismo pertencente à família Enterobacteriaceae, constituindo parte da microbiota normal do trato intestinal de humanos e de uma variedade de animais. Dentre suas principais características, destacam-se: bacilos gram-negativos, não esporulados, capazes de fermentar açúcares com produção de ácido e gás (FRANCO, 2005).

Estudos desenvolvidos nas décadas de 1920 e 1930 sugeriam o envolvimento de cepas de *E.coli* com diarréias infantis, mas foi apenas na década de 1940 que o conceito de *E. coli* como agente etiológico de diarréia em humanos foi efetivamente aceito (DOYLE & PADHYE, 1989).

A espécie bacteriana *E. coli* é um dos habitantes mais comuns do trato intestinal e provavelmente o organismo mais conhecido da microbiologia, sendo considerada uma ferramenta importante em pesquisas de laboratório. Sua presença na água e nos alimentos é um indicador de contaminação fecal, e esta espécie não é normalmente patogênica. Entretanto, pode ser uma causa de infecções do trato urinário, e certas linhagens produzem enterotoxinas que ocasionalmente causam várias doenças graves de origem alimentar (TORTORA, 2005).

Os seis principais grupos de *E. coli* patogênicas reconhecidos são: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigenica (ETEC), *E. coli* enteroinvadiva (EIEC), *E. coli* enteroaggregativa (EAggEC ou EAEC), *E. coli* de aderência difusa (DAEC) e *E. coli* Shiga Toxigênica (STEC).

Há atualmente cerca de 200 sorotipos de *E. coli* produtoras de verotoxinas, responsáveis por um amplo espectro de doenças, que vão de diarréias brandas à colite hemorrágica e doenças mais graves como a síndrome hemolítico-urêmica (HUS) e a púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) (EDUARDO et al., 2002).

## 2.2.5 *Listeria monocytogenes*

*Listeria* spp. é uma bactéria gram positiva, não esporulada, aeróbia e anaeróbia facultativa. Apresenta ampla distribuição ambiental, tendo sido isolada em águas de esgoto doméstico, águas resíduárias de indústrias de laticínios e de abatedouros, solos, insetos, adubo orgânico, e em fezes de animais e inclusive de humanos. Pode também ser isolada em diversos produtos alimentícios, principalmente produtos lácteos, sejam crus ou após tratamentos térmicos ou químicos (CATÃO & CEBALLOS, 2001; TORTORA, 2005).

A denominação listeriose é dada a um grupo de desordens causadas pela *L. monocytogenes* que incluem septicemia, meningite, meningoencefalite, encefalite e infecção cervical ou intra-uterina em gestantes, as quais podem provocar aborto (no segundo ou terceiro trimestre) ou nascimento prematuro. Outros danos podem ocorrer como endocardite, lesões granulomatosas no fígado e outros órgãos, abscessos internos ou externos e lesão cutânea papular ou pustular (FDA, 2003; DDTHA, 2003).

No Brasil é subdiagnosticada e subnotificada. Os principais grupos suscetíveis à listeriose são: mulheres grávidas e fetos, com infecção neonatal e perinatal, sendo o microrganismo transmitido da mãe para o feto no útero ou no canal do parto ao nascimento; pessoas imunossuprimidas, devido à utilização de medicamentos como corticosteróides; pacientes com leucemia, câncer e AIDS; diabéticos, cirróticos, asmáticos e os com colite ulcerativa; idosos e pessoas normais fazendo uso de antiácidos ou cimetidina. Infecções assintomáticas provavelmente ocorrem em todas as idades, embora, de maior importância, na gravidez, existe evidência de que a doença confira imunidade (FDA, 2003; DDTHA, 2003).

Surtos registrados mostraram estarem associados à ingestão de leite contaminado, queijos, sorvetes, água, vegetais crus, patês de carnes, molhos de carne crua fermentada, aves cruas ou cozidas, peixes (inclusive defumados) e frutos do mar. Uma importante parcela de casos esporádicos é devida à transmissão alimentar (DDTHA, 2003).

## 2.3 Registros epidemiológicos de surtos de doenças de origem alimentar

As enfermidades causadas pela ingestão de alimentos contaminados ou substâncias tóxicas, constituem um importante problema se saúde pública, em muitos países, casos de toxinfecções alimentares são muito frequentes, no entanto seu registro oficial é deficiente, impossibilitando a obtenção de dados estatísticos reais (RÊGO, 2006).

A epidemiologia das DTA tem sofrido muitas alterações nos últimos anos, com o reconhecimento de novos patógenos e aumento da prevalência de outros, associado a novos alimentos como veículos de contaminação (FDA, 2003).

De 1999 até 2008, 6.062 surtos de DTA foram registrados pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), com acometimento de 117.330 pessoas e 64 óbitos neste período. As regiões Sul e Sudeste notificaram 82,7% dos surtos de DTA. O Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Santa Catarina foram os que apresentaram o maior registro de surtos, o que pode estar relacionado com a melhor implantação do sistema de informação nos municípios (DATASUS, 2010).

Muitos surtos alimentares resultam da associação entre o consumo de alimentos contaminados através da manipulação inadequada e conservação ou distribuição em condições impróprias (GREIG & RAVEL, 2009).

Nas unidades hospitalares, o Serviço de Nutrição e Dietoterapia (SND) desenvolve atenção dietoterápica à clientela assistida, saudável ou enferma, e é responsável pela produção de refeições quantitativa e qualitativamente equilibradas (RÊGO, 2006; GREIG & RAVEL, 2009).

Os alimentos para se tornarem fonte de saúde ao ser humano, devem ser produzidos segundo procedimentos em que os possíveis perigos de natureza biológica, além de físicos e químicos, possam ser monitorados (RÊGO, 2006).

Muitos esforços têm sido empregados pelos SND com o objetivo de evitar a ocorrência de DTA, entretanto os altos índices de ocorrência de surtos de toxinfecção alimentar indicam a ausência de controles sistemáticos que garantam permanentemente a segurança sanitária desejável (RIEDEL, 2005).

Apesar da necessidade de maior rigor na aplicação das ferramentas de segurança alimentar nos SND, vários autores já relataram surtos de toxinfecções ocorridas em hospitais, cujas fontes foram os utensílios mal higienizados e os

funcionários (RÊGO, 2006; GREIG & RAVEL, 2009). Assim torna-se necessário a conscientização dos responsáveis por esses locais e dos manipuladores de alimentos, sobre a necessidade de um controle rigoroso na produção dos alimentos, a qual garanta a integridade do produto e a saúde dos pacientes internados.

## **2.4 Ferramentas para o Controle Higiênico-Sanitário em Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN)**

De acordo com Neto (2003), o alimento seguro para o consumo é aquele que não oferece perigos significativos que possam causar alterações deletérias nos mecanismos fisiológicos do consumidor. A crescente preocupação com a melhoria da qualidade de produtos e serviços tem levado estabelecimentos responsáveis pela produção e distribuição dos alimentos ao desenvolvimento e utilização de diversos sistemas e programas de qualidade, como as Boas Práticas (BP), Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Esses objetivam elaborar alimentos com técnicas adequadas, higiene apropriada, temperatura e tempo, dentro das normas de controle de proliferação de micro-organismos, a fim de atingir a segurança no alimento, desde a matéria prima até que chegue ao comensal em condições higiênico-sanitária satisfatórias, além da garantia de sua qualidade nutricional (SILVA JUNIOR, 1995).

O histórico da aplicação de sistemas de segurança alimentar iniciou na década de 50, onde as indústrias de alimentos, adaptando-se as BP da indústria farmacêutica, melhoraram e dinamizaram a produção de alimentos seguros e de qualidade. Através das BP em cozinhas, começaram a ser controlados parâmetros como água, contaminações cruzadas, pragas, higiene do manipulador, higienização das superfícies e ambientes, fluxo do processo entre outros (SILVA et al., 2006).

Os alimentos, nas diferentes etapas de sua produção até o consumo, necessitam de avaliação completa de seus riscos, que é estabelecida por normas aceitáveis de BP. Esse é o sistema mais aceito e de melhor resposta para a obtenção de produtos inócuos, pois apresenta recomendações que devem ser adotadas em uma UAN, um sistema eficaz, relativamente de baixo custo e de fácil execução (KUAYE, 1995; LUCHESE et al., 2003).

As BPs se constituem em um conjunto de normas de procedimentos, que tem por base o controle das condições operacionais destinadas a garantir a elaboração de produtos seguros. Sua eficácia e eficiência devem ser avaliadas por meio de inspeção e investigação (RÊGO et al., 2001).

Em virtude da necessidade de qualidade e segurança alimentar, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 216, de 15 de setembro de 2004, que está em vigor desde 15 de março de 2005, na qual aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. A implantação desse programa passou a ser uma exigência e, após o prazo estabelecido, os infratores estão sujeitos às sanções legais previstas na Lei Federal nº 6.437 (BRASIL, 1977; BRASIL, 2004).

Os serviços de alimentação devem dispor do Manual de Boas Práticas (MBP) e dos POP e esses documentos devem estar acessíveis aos funcionários envolvidos e disponíveis à autoridade sanitária, quando requeridos (BRASIL, 2004).

O POP é um procedimento escrito de forma objetiva que estabelece instruções seqüenciais para a realização de operações rotineiras e específicas na produção, armazenamento e transporte dos alimentos, sendo esse um complemento detalhado das informações do MBP. Devem ser aprovados, datados e assinados pelo responsável do estabelecimento e os registros devem ser mantidos por período mínimo de trinta dias, contados a partir da data de preparação dos alimentos (BRASIL, 2002; BRASIL, 2004).

A adoção das BPs resulta em muitos benefícios às empresas, como a redução de perdas, conquista de clientes, ampliação do mercado, maior competitividade, estratégia de marketing, responsabilidade pela produção, atendimento às leis vigentes e principalmente maior segurança e qualidade do alimento a ser oferecido. A implantação das BP, além de reduzir riscos, também possibilita um ambiente de trabalho mais eficiente e satisfatório, otimizando todo o processo produtivo e um dos principais efeitos dessa adoção é a redução de custos de um processo em sua concepção mais ampla (NETO, 2003).

## **2.5 Infecções hospitalares**

A infecção hospitalar representa um grande ônus sócio-econômico às instituições, em decorrência dos custos hospitalares, e ao paciente, pelo

prolongamento do período de afastamento de suas atividades profissionais e familiares (RABHAE et al., 2000). Constatou-se que o paciente que evolui para uma infecção pode levar a um gasto de até três vezes o valor comparado ao paciente que não teve infecção (MAGRAM et al., 1999).

Estudos de Rabhae et al. (2000) mostram que problemas de natureza infecciosa podem estar relacionados a fatores inerentes às condições apresentadas pelo paciente. Estas infecções podem ser de origem endógena e/ou exógena. Associado a este fato há o agravante de que os pacientes podem adquirir infecções através de práticas iatrogênicas decorrentes de mitos e rituais que também podem favorecer o aumento do índice de infecção.

Hospitais que trabalham com equipe envolvida no controle de infecção hospitalar, devem ressaltar questões relevantes que, segundo Redfern (1998), compreendem quatro aspectos: relacionados ao paciente (preparo de pele, procedimentos de tricotomia, roupa privativa, retirada de adornos), relacionados à equipe cirúrgica (unhas, adornos, roupa privativa e as paramentações cirúrgicas), em consonância com o ambiente (limpeza de sala operatória, piso, padrões de circulação) e atrelado aos procedimentos como assepsia, escovação cirúrgica, colocação de campos esterilizados, validade da esterilização e manuseio do material esterilizado.

Os avanços tecnológicos relacionados aos procedimentos invasivos, diagnósticos e terapêuticos, e o aparecimento de micro-organismos multirresistentes aos antimicrobianos usados rotineiramente na prática hospitalar tornaram as infecções hospitalares um problema de saúde pública. As maiores taxas de infecção hospitalar são observadas em pacientes nos extremos da idade e nos serviços de oncologia, cirurgia e terapia intensiva (TURRINI & SANTO, 2002).

No Brasil, os dados sobre infecção hospitalar são pouco divulgados e, além disso, esses dados não são consolidados por muitos hospitais, o que dificulta o conhecimento da dimensão do problema no país (TURRINI & SANTO, 2002).

Apesar das normas traçadas pelo Ministério da Saúde, tanto no que se refere àquelas destinadas à prevenção e o controle das infecções hospitalares como as que descrevem as normas técnicas para projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde, observamos que ainda está bastante longe da realidade o cumprimento integral das mesmas (PEREIRA & BELLATO, 2004).

## 2.6 Resistência de patógenos a antibióticos

As infecções humanas de origem microbiana, em particular aquelas que envolvem bactérias, causam danos graves em inúmeros países do mundo (AHMED et al., 1998). Segundo WHO (2001), as infecções causam 25% das mortes em todo o mundo e 45% nos países menos desenvolvidos.

A prevalência das infecções e o consequente consumo dos medicamentos para tratá-las acarretam muitos erros de prescrição, relacionados a incerteza diagnóstica e desconhecimento farmacológico. É comum o não reconhecimento de que antimicrobianos são medicamentos específicos e, portanto, são eficazes para determinados agentes infecciosos (WANNMACHER, 2004). Nos últimos anos, a resistência de micro-organismos patogênicos às drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos comerciais, comumente utilizados no tratamento doenças infecciosas (AHMED et al., 1998).

Nos Estados Unidos, calcula-se que 50% dos usos sejam inadequados. Cerca de 50 a 66% de todas prescrições de antibióticos para crianças e adultos direcionam-se ao tratamento de infecções do trato respiratório superior, condição quase sempre de etiologia viral. Além disso, calcula-se que entre 10 e 50% das prescrições ambulatoriais de antibióticos sejam desnecessárias (WANNMACHER, 2004; WENZEL & EDMOND, 2000).

A grande disponibilidade de antimicrobianos acentua o uso abusivo desses medicamentos e acarreta em resistência microbiana, a qual refere-se a cepas de micro-organismos que são capazes de multiplicar-se em presença de concentrações de antimicrobianos mais altas do que doses terapêuticas dadas a humanos. O desenvolvimento de resistência é um fenômeno biológico natural que se seguiu à introdução de agentes antimicrobianos na prática clínica (WANNMACHER, 2004).

É necessário definir claramente o impacto global do problema de resistência sobre mortalidade, morbidade e custos com a saúde. A resistência microbiana é um problema mundial, sendo necessárias medidas nacionais, em uma maioria de países, para que se tenha um efeito total positivo (MCGOWAN, 2001).

Ao longo dos últimos séculos, tem-se observado esforços intensivos por parte de pesquisadores visando o controle e a redução da disseminação dos micro-organismos patogênicos.

### **3 Metodologia Geral**

O projeto foi enviado e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas-RS (Anexo 01). A pesquisa foi realizada em um hospital na cidade de Rio Grande-RS mediante autorização da direção do referido hospital (Anexo 02). As análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da Faculdade de Nutrição e no Laboratório Genética de Micro-organismos do Instituto de Biologia, ambos pertencentes à Universidade Federal de Pelotas-RS.

#### **3.1 Materiais**

##### **3.1.1 Amostras**

###### **3.1.1.1 Produção / Unidade de Alimentação e Nutrição Hospitalar (UAN)**

- a) Ambiente: torneira, bancadas;
- b) Utensílios: cuba, tábua, faca de legumes, faca de corte e marmitex;
- c) Equipamentos: liquidificador e carro de transporte de refeições;
- d) Manipulador: mãos de manipuladores;
- e) Refeição padrão.

###### **3.1.1.2 Lactário**

- a) Ambiente: bancada;
- b) Equipamento: liquidificador;
- c) Utensílios: mamadeira;
- d) Fórmulas: duas fórmulas de dietas enterais e duas fórmulas infantis;
- e) Manipulador: mãos (funcionário do lactário e funcionário responsável pela distribuição das dietas – copeiro);
- f) Quarto: superfície da sonda do paciente.

###### **3.1.2 Meios de cultura e soluções**

- a) Solução salina (NaCl 0,85%)
- b) Água peptonada tamponada 0,1%
- c) Caldo de enriquecimento para *Listeria* spp (LEB – UVM II)

- d) Ágar seletivo para *Listeria* spp (PALCAM, Oxford, ALOA e Hicrome)
- e) Ágar Baird Parker (BP)
- f) Caldo e ágar semi-sólido Infusão Cérebro e Coração (BHI)
- g) Ágar MacConkey (MC)
- h) Pseudomonas Ágar
- i) Trypticase Soy Agar (TSA)
- j) Ágar Muller-Hinton (MH)
- k) Swab em meio de transporte Cary Blair

### **3.1.3 Antibióticos**

- a) Amicacina (AMI, 30 µg)
- b) Amoxicilina + clavulanato (AMC, 20+10 µg)
- c) Ampicilina (AMP, 10 µg)
- d) Cefalotina (CFL, 30 µg)
- e) Cefepime (COM, 30 µg)
- f) Cefoxitina (CFO, 30 µg)
- g) Ceftazidima (CAZ, 30 µg)
- h) Cefuroxima (CRX, 30 µg)
- i) Ciprofloxacina (CIP, 5 µg)
- j) Clindamicina (CLI, 2 µg)
- k) Cloranfenicol (CLO, 30 µg)
- l) Eritromicina (ERI, 15 µg)
- m) Gentamicina (GEN, 10 µg)
- n) Meropenem (MER, 10 µg)
- o) Oxacilina (OXA, 1 µg)
- p) Penicilina G (PEN, 10 un)
- q) Rifampicina (RIF, 5 µg)
- r) Sulfazotrim (SUT, 23,75+1,25 µg)
- s) Tetraciclina (TET 30 µg)
- t) Vancomicina (VAN, 30 µg)

### **3.2 Métodos**

#### **3.2.1 Procedimentos de Coletas**

Foram obtidas amostras de ambientes, superfícies, utensílios, equipamentos e de mãos de manipuladores mediante assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 03), de uma UAN e um lactário hospitalar, além de amostras de alimentos de uma refeição padrão, duas dietas enterais e duas fórmulas infantis de marcas distintas, as quais seriam servidas aos pacientes hospitalizados (Tabela 1). As coletas das amostras foram realizadas para todos os pontos amostrais em duplicata, em 4 tempos diferentes.

A técnica de esfregaço em superfície (técnica do *swab*) foi empregada para a coleta de amostras de ambientes, superfícies, utensílios e equipamentos, as quais foram amostradas em área mínima de 21 cm<sup>2</sup> e máxima de 69 cm<sup>2</sup>. Para mãos de manipuladores e superfície de sonda dos pacientes, a área amostrada foi a superfície total da mão e da sonda, utilizando a mesma técnica do *swab*. Nas coletas das amostras de alimentos, dietas enterais e fórmulas infantis foram usados sacos plásticos estéreis para coletar entre 50 e 100 g ou mL de cada amostra.

Tabela 1. Delineamento experimental para isolamento de micro-organismos e teste de resistência a antibióticos nas linhas de produção de refeições, dietas enterais e fórmulas infantis em um hospital da cidade de Rio Grande-RS.

Estudos	Variáveis	
	Independentes	Dependentes
<b>1– Produção (UAN)</b>  <b>(13 pontos de amostragem)</b>	<p><b>Amostras</b></p> <p>a) Ambiente: torneira, bancadas; b) Utensílios: cuba, tábua, faca de legumes, faca de corte e marmitex; c) Equipamentos: liquidificador e carro de transporte de refeições; d) Manipulador: mãos de manipuladores; e) Refeição padrão.</p>	<p><b>Isolamento e/ou quantificação de micro-organismos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Listeria monocytogenes</i></li> <li>- Estafilococos coagulase positiva</li> <li>- <i>Escherichia coli</i></li> <li>- <i>Klebsiella spp</i></li> <li>- <i>Pseudomonas spp</i></li> </ul> <p><b>Resistência e Sensibilidade a Antibióticos</b></p> <p>a) Amicacina (AMI, 30 µg) b) Amoxicilina + clavulanato (AMC, 20+10 µg) c) Ampicilina (AMP, 10 µg) d) Cefalotina (CFL, 30 µg) e) Cefepime (COM, 30 µg) f) Cefoxitina (CFO, 30 µg) g) Ceftazidima (CAZ, 30 µg) h) Cefuroxima (CRX, 30 µg) i) Ciprofloxacina (CIP, 5 µg) j) Clindamicina (CLI, 2 µg) k) Cloranfenicol (CLO, 30 µg) l) Eritromicina (ERI, 15 µg) m) Gentamicina (GEN, 10 µg) n) Meropenem (MER, 10 µg) o) Oxacilina (OXA, 1 µg) p) Penicilina G (PEN, 10 un) q) Rifampicina (RIF, 5 µg) r) Sulfazotrim (SUT, 23,75+1,25 µg) s) Tetraciclina (TET 30 µg) t) Vancomicina (VAN, 30 µg)</p>
<b>2– Lactário</b>  <b>(10 pontos de amostragem)</b>	<p><b>Amostras</b></p> <p>a) Ambiente: bancada; b) Equipamento: liquidificador; c) Utensílios: mamadeira; d) Fórmulas: duas fórmulas de dietas enterais e duas fórmulas infantis; e) Manipulador: mãos (funcionário do lactário e funcionário responsável pela distribuição das dietas – copeiro); f) Quarto: superfície da sonda do paciente.</p>	

### 3.2.2 Determinações microbiológicas

As determinações microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações de Downes & Ito (2001).

### **3.2.2.1 Preparo das amostras**

As amostras coletadas pela técnica do *swab* foram armazenadas em meio de transporte Cary Blair, e no laboratório foram realizadas diluições seriadas em água peptonada tamponada a 0,1% até a diluição  $10^{-3}$ .

Foram medidas 25 g ou mL das amostras de refeição padrão, dietas enterais e fórmulas infantis, adicionadas a 225 mL de água peptonada 0,1%. A partir deste foram retiradas alíquotas de 1 mL para realização das diluições seriadas. Para analisar *Listeria* spp, as amostras (*swab*, sólidas e líquidas) não sofreram diluições e sim enriquecimento direto em meio de enriquecimento para *Listeria* spp (UVM-II).

#### **3.2.2.1.1 Estafilococos coagulase positiva (ECP)**

Foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em ágar Baird Parker, em duplicita e em seguida as placas eram incubadas a  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. As colônias eram enumeradas e no mínimo cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípicas eram selecionadas para realização de teste de produção de coagulase livre. As cepas que apresentavam reação positiva eram armazenadas em ágar semi sólido infusão cérebro e coração (BHI) para serem avaliadas quanto a sensibilidade e resistência a antibióticos.

#### **3.2.2.1.2 Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey e isolamento de *E. coli* e *Klebsiella* spp**

Inoculou-se 1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de plaqueamento em profundidade, em Agar MacConkey, em duplicita. As placas foram incubadas a  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. Após a incubação enumerou-se as colônias presentes nas placas e as que apresentavam morfologia característica de *E.coli* e *Klebsiella* spp (três a cinco colônias por placa) foram utilizadas para a realização das provas do IMViC: produção de indol (I), teste do Vermelho de Metila (VM), teste de Voges-Proskauer (VP) e teste do aproveitamento de citrato (C). Para estas provas seguiu-se o método descrito por Mac FADDIN (1976). Após a discriminação da colônia como *E.coli* ou *Klebsiella* spp assim como no caso de ECP, estas eram armazenas em BHI semi-sólido para posterior teste com antibióticos.

### **3.2.2.1.3 *Pseudomonas* spp**

A quantificação de *Pseudomonas* spp foi efetuada em Ágar *Pseudomonas*, pela técnica de semeadura em superfície, inoculando 0,1 mL de cada diluição seriada, em duplicata, e incubando-se as placas a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas. Após a incubação as colônias foram submetidas a testes de confirmação do gênero utilizando o KIT NF (PROBAC DO BRASIL), o qual é constituído pelos testes de oxidase, utilização de glicose em meio base OF, descarboxilação de lisina e arginina (base Moeller), liquefação da gelatina, hidrólise da uréia, DNAse, e sensibilidade a polimixina.

### **3.2.2.1.4 *Listeria monocytogenes***

A partir dos swabs transportados no meio Cary Blair e das amostras de refeição padrão, dietas enterais e fórmulas infantis, foi realizado enriquecimento em Caldo de Enriquecimento para *Listeria* spp (LEB UVM-II) e incubadas a  $30^{\circ}\text{C}$  por até 7 dias. As amostras foram observadas diariamente durante o período de enriquecimento, e a medida que fossem apresentando turvação semeadas em ágars seletivos, Moxalactam, Oxford, Aloa e Hicrome. As placas com meios seletivos foram incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por até 7 dias. Estas placas também foram observadas diariamente durante os 7 dias de incubação, de modo a obter colônias isoladas. A partir do isolamento de colônias suspeitas, com morfologia característica do gênero *Listeria* spp, foram realizados testes de coloração de gram, de produção de catalase (peróxido de hidrogênio a 3%), motilidade a  $25^{\circ}\text{C}$ , e fermentação de dextrose, ramnose, xilose e manitol, para a confirmação do gênero e da espécie.

### **3.2.2.2 Avaliação do Perfil de Resistência/Sensibilidade a Antibióticos**

Os testes de resistência/sensibilidade a antibióticos foram realizados de acordo com protocolo proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) e *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011), utilizando a técnica de discodifusão.

As cepas isoladas foram mantidas a temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  em BHI semi sólido. A recuperação das cepas foi realizada em caldo BHI com incubação por 24 horas a  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI

foi separadamente semeada em Trypticase Soy Agar (TSA) e incubada por 24 horas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Foram transferidas duas alçadas da cultura em TSA para solução salina estéril (NaCl 0,85%), até a turvação compatível com o grau 0,5 da escala de Mac Farland. Em seguida, com auxílio de swab estéril, as culturas foram inoculadas de forma homogênea em placas Ágar Muller-Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados na superfície das placas multidiscos de antibióticos (Multidisco®, Laborclin, PR, Brasil) nos quais estão aderidos discos de papel com diâmetro de 6 mm impregnados com 12 antibióticos de uso comum, para uso em antibiograma por difusão em Agar. As placas foram incubadas por 18 horas a  $37^\circ\text{C}$  e, passado esse período, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco.

## 4 TÍTULO 1

### **Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de patógenos isolados em uma linha de produção de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar**

Di Primio, Eliza Marques<sup>1</sup>; Schumacher, Bianca de Oliveira<sup>2</sup>; Preuss, Edcarlos<sup>2</sup>;  
Blum-Menezes, Dulcinéa<sup>3</sup>; Gandra, Eliezer Ávila<sup>1</sup>; Helbig, Elizabete<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Pelotas (RS).

<sup>2</sup> Graduandos da Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Pelotas (RS).

<sup>3</sup> Laboratório Genética de Micro-organismos, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (RS).

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a presença de bactérias patogênicas em uma linha de produção de alimentos de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar da cidade de Rio Grande-RS, e determinar o perfil de resistência e sensibilidade das cepas isoladas a antibióticos de uso comum através da técnica de antibiograma por difusão em ágar. Foram analisados 13 pontos de amostragem, em 4 repetições, totalizando 52 amostras, sendo 12 de ambientes, 20 de utensílios, 8 de equipamentos, 8 de mãos de manipuladores e 4 de dieta normal a qual seria servida a pacientes hospitalizados. Entre as 52 amostras analisadas, ECP foram enumerados em 31 (59,6%) e bacilos gram negativos em ágar MacConkey 47 amostras (90,4%). Em 40 (76,9%) amostras e em 7 (13,5%) foi possível isolar *Klebsiella* spp e *Escherichia coli*, respectivamente. Não foram isoladas *Listeria monocytogenes* e enumeradas *Pseudomonas* spp nas amostras analisadas. Os antimicrobianos de menor eficiência para ECP foram oxacilina e penicilina-G e para *Klebsiella* spp ampicilina e cefalotina. Cabe ressaltar que foram encontradas cepas multirresistentes de ECP, *Klebsiella* spp e *E.coli*, as quais variaram a resistência de 2 até 8 antibióticos de uso comum, em 12 pontos amostrais, apenas o ponto mão de manipulador II não evidenciou cepas com multirresistência. Do total de cepas isoladas, 39,1% apresentaram multirresistência, 31,4% mostraram-se resistentes a 1 dos antibióticos avaliados e 29,5% foram sensíveis a todos os antimicrobianos avaliados.

**Palavras Chave:** Estafilococos coagulase positiva. *Klebsiella* spp. *Escherichia coli*. Bactérias Multirresistentes.

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção hospitalar é definida pelo Ministério da Saúde, na Portaria nº 2616 de 12/05/1998 (BRASIL, 1998), como “aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifesta durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares”. Segundo Oliveira & Maruyama (2008), as infecções hospitalares representam complicações relacionadas com assistência à saúde e constituem a principal causa de morbidade e mortalidade hospitalar, aumentando o tempo de internação dos pacientes, reduzindo a rotatividade de leitos e, com isso, elevando os custos dos hospitais.

Os procedimentos cada vez mais invasivos, o uso indiscriminado de medicamentos e a resistência aos antimicrobianos são fatores que apontam as infecções hospitalares como um grave problema de saúde pública. Tais infecções têm crescido na proporção direta do desenvolvimento de tecnologias invasivas (sondas, cateteres, dentre outras), do maior contingente de pessoas imunodeficientes, da adaptação evolutiva de novos micro-organismos aos seres humanos e da diminuição da sensibilidade microbiana às drogas (STARLING *et al.*, 2004). Sua ocorrência é dependente das condições sanitárias dos serviços de saúde e da presença de vetores de micro-organismos patogênicos (ALVES *et al.*, 2011).

Uma vez que há diferentes mecanismos de patogenicidade, uma infecção pode ser tratada por diversos antimicrobianos, devendo ser escolhido aquele ao qual a bactéria apresentar sensibilidade. Entretanto, apesar da grande diversidade de estruturas químicas e diferentes mecanismos de ação dos antibióticos, o tratamento de infecções tem sido cada vez mais difícil devido ao surgimento de cepas bacterianas multirresistentes e a ocorrência de resistência entre as diferentes espécies de bactérias (ALVES *et al.*, 2011).

Para Pereira *et al.* (1999) é essencial que haja participação ativa dos vários setores de um hospital para que um programa de controle de infecção hospitalar tenha êxito. O serviço de nutrição atua como integrante da cadeia epidemiológica das infecções veiculadas por alimentos, uma vez que são várias as doenças causadas por contaminação alimentar que podem resultar em infecção cruzada ou intoxicação, decorrentes da estocagem e da manipulação inadequada dos alimentos.

Sendo a dieta hospitalar importante para garantir o aporte de nutrientes ao paciente internado e, assim, preservar e/ou recuperar seu estado nutricional. E pelo seu papel co-terapêutico em doenças crônicas e agudas, destaca-se que esta merece atenção especial (GARCIA, 2006).

Embora todos os esforços sejam feitos para eliminar ou retardar o crescimento microbiano, o ambiente hospitalar pode ser um reservatório para uma variedade de patógenos, como por exemplo: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Pseudomonas* spp. Segundo Tortora *et al.* (2005), esses patógenos são oportunistas em ambiente hospitalar e podem também estar presentes como contaminantes em alimentos.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de estafilococos coagulase positiva (ECP), de bacilos gram negativos em Ágar MacConkey e de *Pseudomonas* spp, e isolar *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella* spp e *Escherichia coli* em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar da cidade de Rio Grande-RS e determinar o perfil de sensibilidade e resistência das cepas isoladas a antibióticos de uso terapêutico comum.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em um hospital da cidade de Rio Grande-RS, mediante prévia autorização da direção do referido hospital e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (processo OF. 17/11). As coletas de mãos de manipuladores foram realizadas mediante assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido.

Analisou-se 13 pontos amostrais da linha de produção, tendo sido realizado no total 4 coletas, em diferentes tempos, totalizando 52 amostras.

Os pontos de amostragem foram escolhidos de acordo com o funcionamento local e foram subdivididos em: ambiente (amostras provenientes de torneira e de bancadas da cozinha), utensílios (cuba, tábua, faca de legumes, faca de corte e marmitex), equipamentos (liquidificador e carro de transporte de refeições), mãos de manipuladores (cozinheiro e copeiro) e a refeição padrão (dieta normal, refeição servida aos pacientes sem restrições alimentares).

As coletas das amostras de ambiente, utensílios e equipamentos foram realizadas pela técnica de esfregaço em superfície (técnica do *swab*), na qual foi amostrada em uma área mínima de 21 cm<sup>2</sup> e máxima de 69 cm<sup>2</sup>. Para mãos de manipuladores a área amostrada foi a superfície total da mão, utilizando a mesma técnica. O material coletado foi mantido em meio de transporte Cary Blair à temperatura ambiente, até o processamento laboratorial.

Na coleta da refeição padrão transferiu-se de 50 a 100 g das amostras para sacos plásticos estéreis, os quais foram acondicionados em caixa isotérmica contendo gelo reciclável. Para todos os pontos amostrais as coletas foram realizadas em duplicata a cada repetição.

As amostras foram imediatamente encaminhadas para o Laboratório Genética de Micro-organismos do Instituto de Biologia, para o isolamento de *Listeria monocytogenes*, e para o Laboratório de Análises de Alimentos da Faculdade de Nutrição, para as demais determinações microbiológicas, ambos na Universidade Federal de Pelotas (RS).

## **2.1 Análises Microbiológicas**

As determinações microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações de Downes & Ito (2001). Para as análises de ECP, *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp e *E.coli*, todas as amostras foram diluídas em série decimal em água peptonada tamponada 0,1% até a diluição 10<sup>-3</sup> e a partir dessas diluições, as análises foram realizadas em duplicata. Para *Listeria monocytogenes* as amostras sofreram enriquecimento direto em meio de enriquecimento para este microrganismo (UVM-II).

### **2.1.1 Estafilococos coagulase positiva**

Foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em ágar Baird Parker, em duplicata e em seguida as placas eram incubadas a 36 ± 1°C por 24 a 48 horas. As colônias eram enumeradas e no mínimo cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípicas eram selecionadas para realização de teste de produção de coagulase livre. As cepas que apresentavam reação positiva eram armazenadas em ágar semi sólido

infusão cérebro e coração (BHI) para serem avaliadas quanto a sensibilidade e resistência a antibióticos.

### **2.1.2 Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey e isolamento de *E. coli* e *Klebsiella* spp**

Inoculou-se 1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de plaqueamento em profundidade, em Agar MacConkey, em duplicata. As placas foram incubadas a  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. Após a incubação enumerou-se as colônias presentes nas placas e as que apresentavam morfologia característica de *E.coli* e *Klebsiella* spp (três a cinco colônias por placa) foram utilizadas para a realização das provas do IMViC: produção de indol (I), teste do Vermelho de Metila (VM), teste de Voges-Proskauer (VP) e teste do aproveitamento de citrato (C). Para estas provas seguiu-se o método descrito por Mac FADDIN (1976). Após a discriminação da colônia como *E.coli* ou *Klebsiella* spp assim como no caso de ECP, estas eram armazenadas em BHI semi-sólido para posterior teste com antibióticos.

### **2.1.3 *Pseudomonas* spp**

A quantificação de *Pseudomonas* spp foi efetuada em Ágar Pseudomonas, pela técnica de semeadura em superfície, inoculando 0,1 mL de cada diluição seriada, em duplicata, e incubando-se as placas a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas. Após a incubação, 3 a 5 colônias características foram submetidas a testes de confirmação do gênero utilizando o KIT NF (PROBAC DO BRASIL), o qual é constituído pelos testes de oxidase, utilização de glicose em meio base OF, descarboxilação de lisina e arginina (base Moeller), liquefação da gelatina, hidrólise da uréia, DNase, e sensibilidade a polimixina.

### **2.1.4 *Listeria monocytogenes***

A partir dos *swabs* transportados no meio Cary Blair e das amostras de refeição padrão, dietas enterais e fórmulas infantis, foi realizado enriquecimento em Caldo de Enriquecimento para *Listeria* spp (LEB UVM-II) e incubadas a  $30^{\circ}\text{C}$  por até 7 dias. As amostras foram observadas diariamente durante o período de enriquecimento, e a medida que fossem apresentando turvação semeadas em ágars seletivos, Moxalactam, Oxford, Aloo e Hicrome. As placas com meios seletivos foram

incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por até 7 dias. Estas placas também foram observadas diariamente durante os 7 dias de incubação, de modo a obter colônias isoladas. A partir do isolamento de colônias suspeitas, com morfologia característica do gênero *Listeria* spp, foram realizados testes de coloração de gram, de produção de catalase (peróxido de hidrogênio a 3%), motilidade a  $25^{\circ}\text{C}$ , e fermentação de dextrose, ramnose, xilose e manitol, para a confirmação do gênero e da espécie.

## 2.2 Perfil de Resistência e Sensibilidade a Antibióticos

Os testes de resistência/sensibilidade a antibióticos foram realizados de acordo com protocolo proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) e *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011), utilizando a técnica de discodifusão.

As cepas isoladas foram mantidas a temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  em BHI semi sólido. A recuperação das cepas foi realizada em caldo BHI com incubação por 24 horas a  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI foi separadamente semeada em Trypticase Soy Agar (TSA) e incubada por 24 horas a  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Foram transferidas duas alçadas da cultura em TSA para solução salina estéril (NaCl 0,85%), até a turvação compatível com o grau 0,5 da escala de Mac Farland. Em seguida, com auxílio de swab estéril, as culturas foram inoculadas de forma homogênea em placas Ágar Muller-Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados na superfície das placas multidiscos de antibióticos (Multidisco®, Laborclin, PR, Brasil) nos quais estão aderidos discos de papel com diâmetro de 6 mm impregnados com 12 antibióticos de uso comum, para uso em antibiograma por difusão em Agar. As placas foram incubadas por 18 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  e, passado esse período, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco.

Os valores de referência utilizados para as cepas de *Klebsiella* spp, *E.coli* e ECP foram os valores de halos inibitórios esperados para *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus* spp, valores estes definidos pela CLSI (2011). Com exceção do antibiótico vancomicina, que desde 2009, a CLSI não recomenda mais o uso para verificação de sensibilidade do *S.aureus*, por não apresentar resultados confiáveis

pelo método de difusão em disco, e orienta realizar o método de concentração inibitória mínima (MIC). A classificação dos halos inibitórios ao antibiótico vancomicina foi realizada pelos padrões descritos pela NCCLS (2003), já que o mesmo é um dos componentes do disco com 12 antibióticos de uso comum.

### **2.3 Tratamento Estatístico**

Os resultados das contagens microbiológicas foram logaritmizados e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido do teste Tukey a 5%.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Enumeração e isolamento de patógenos em uma UAN hospitalar**

*Staphylococcus aureus* é considerado o principal agente causador de infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar. Este microrganismo representa uma das causas mais frequentes de infecções associadas ao cuidado à saúde relatada pelo *National Nosocomial Infection Surveillance System* (EUA) (BOYCE, 2007). Além disso, *S. aureus* é a espécie mais relacionada com casos de intoxicação alimentar, porém as espécies *S. hyicus* e *S. intermedius* também estão comumente associadas às doenças humanas, ambas capazes de sintetizar enterotoxinas e coagulase. Sendo assim, a legislação brasileira passou a estabelecer a pesquisa e enumeração de estafilococos coagulase positiva, recomendando o uso de testes de coagulase (JAY, 2005).

Nas 52 amostras analisadas entre ambiente, utensílios, equipamentos, mãos de manipuladores e refeição padrão, enumerou-se ECP em 59,6% (31), com valores variando de 0,05 UFC a 980,4 UFC. Em contraste com estes resultados, Souza & Campos (2003), em um estudo similar onde analisaram as condições higiênico-sanitárias de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar não verificaram presença de *S. aureus* em equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores.

Os valores médios das contagens de ECP por ponto amostral nas 4 coletas estão representados em logaritmos na figura 1.

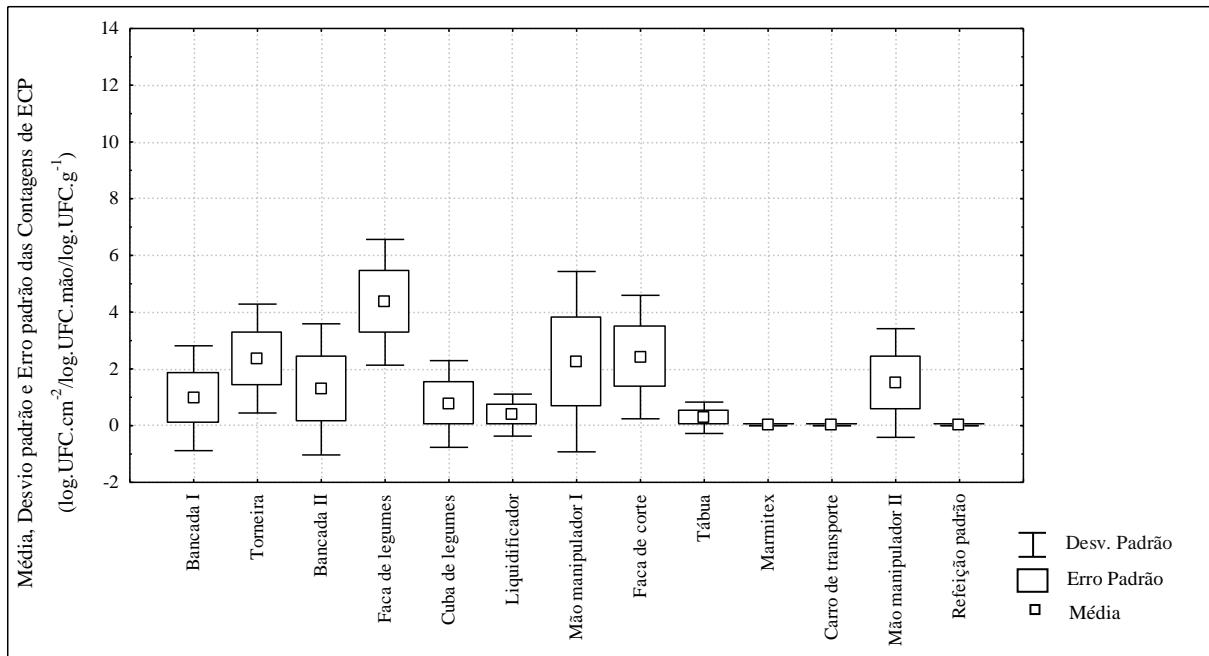


Figura 1. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de estafilococos coagulase positiva, em 4 coletas, por ponto amostral em uma linha de produção de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS.

Os pontos amostrais marmitex, carro de transporte e refeição padrão, os quais não obtiveram contagens de ECP, diferiram significativamente da faca de legumes ( $p<0,05$ ). A elevada contagem de ECP na faca de legumes pode ser explicada pela contaminação cruzada que esta pode ter recebido de superfícies contaminadas como mãos de manipuladores e bancadas, por falta de práticas de higienização periódica da faca ou por práticas de higienização inadequadas. Pode-se denotar a adequação higiênica do marmitex e do carro de transporte, não evidenciando contaminação na refeição padrão.

A faca de legumes obteve contagem média de  $4,35 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$ , valor acima do máximo permitível para este microrganismo segundo os critérios adotados por Silva Jr. (2002), o qual considera “satisfatório” contagens de até  $3,91 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$  para ECP em equipamentos e utensílios. Quando analisados os valores individuais para cada coleta, para este mesmo ponto amostral, 2 (50%) amostras apresentaram contagem acima do máximo permitível, nas coletas 2 e 4, foram verificados valores de  $6,89 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$  e de  $5,28 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$ , respectivamente.

As contagens médias dos demais pontos amostrais de utensílios, ambiente e equipamentos, ficaram abaixo de  $3,91 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$  podendo-se considerá-los como “adequados” ou “satisfatórios” quando utilizados os mesmos padrões adaptados por Silva Jr. (2002).

Apesar dos pontos amostrais mão manipulador I, bancada II, torneira e faca de corte (figura 1), apresentarem valores médios abaixo dos limites estipulados por Silva Jr. (2002), em uma das coletas enumerou-se valores superiores quando comparados com as outras coletas, estes valores foram os responsáveis pelo aumento do desvio padrão destes pontos amostrais.

A contaminação por ECP verificada nos utensílios facas de legumes e de corte e ambiente da bancada II e torneira, pode ser oriunda de práticas deficientes na higienização destes, como também podem ser provenientes de contaminação cruzada, pois os mesmos utensílios e ambiente eram utilizados pelos demais funcionários da unidade.

Segundo Castro & Iaria (1984), uma das principais fontes de contaminação de *S. aureus* em UAN são as fossas nasais dos manipuladores. Estes autores analisaram 78 manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares e observaram que 42,3% destes eram portadores nasais desta bactéria. Entretanto, em nosso estudo a contagem de ECP em mãos de manipuladores foi baixa, quando comparada aos valores encontrados por Castro & Iaria (1984).

Nos mesmos pontos amostrais estudados para ECP enumerou-se bacilos gram negativos em ágar MacConkey em 47 (90,4%) das amostras analisadas. Os valores médios, desvio padrão e erro padrão, por ponto amostral nas 4 coletas, estão representados em logaritmos na figura 2.

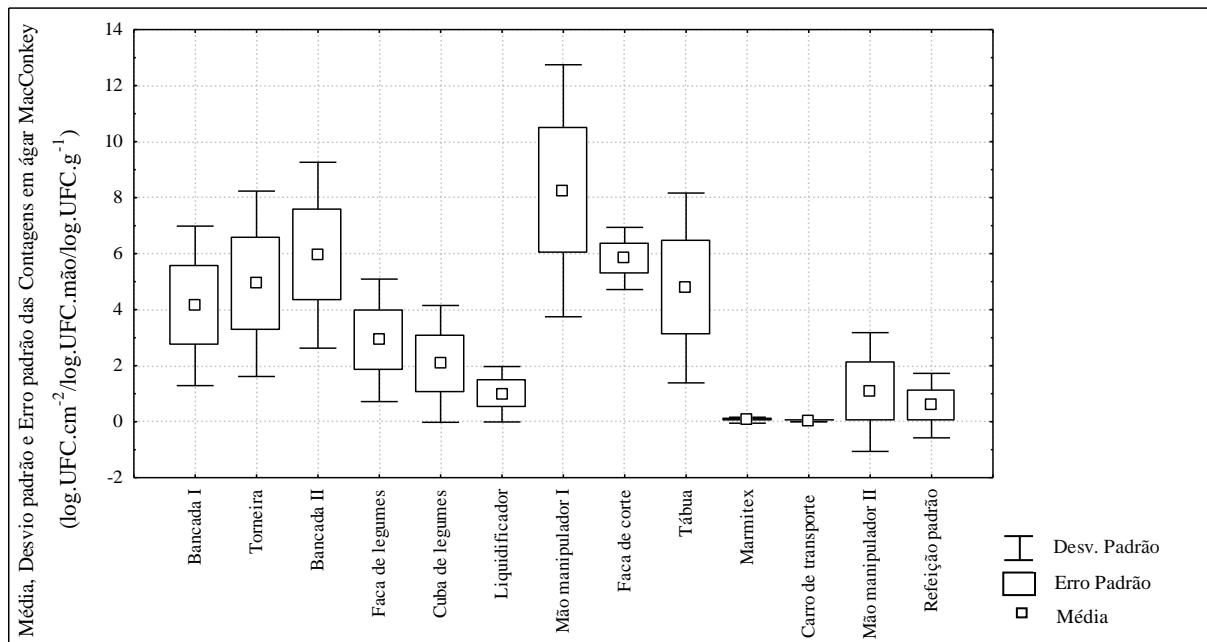


Figura 2. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de bacilos gram negativos em ágar MacConkey, em 4 coletas, por ponto amostral em uma linha de produção de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS.

De acordo com os dados apresentados na figura 2, as contagens obtidas no ponto amostral bancada II  $5,94 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$  diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) das obtidas no marmitex e no carro de transporte, os quais não apresentaram contagens em ágar MacConkey. A elevada contagem de bacilos gram negativos em ágar MacConkey na bancada II pode ser atribuída a possível inadequação nas técnicas de higienização, pode ser explicado também pela elevada disponibilidade de nutrientes e umidade encontrados em bancadas de unidades de produção durante o preparo de refeições, o que propicia o crescimento microbiano. E novamente foi possível verificar a adequação higiênica do marmitex e do carro de transporte.

As contagens no ponto amostral mão manipulador I diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) das obtidas nos pontos: cuba de legumes ( $2,06 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$ ), mão manipulador II ( $1,06 \text{ log.UFC.mão}^{-1}$ ), liquidificador ( $0,98 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$ ), refeição padrão ( $0,58 \text{ log.UFC.g}^{-1}$ ), e os pontos marmitex e carro de transporte que não obtiveram contagem. A elevada contagem encontrada no ponto amostral mão manipulador I pode ser atribuída a inadequada higienização das mãos.

Lisboa (1997), assim como verificado neste estudo, também, constatou uma grande variação na contaminação de manipuladores, utensílios e superfícies de processamento de alimentos por bactérias gram negativas em ambiente de cozinha hospitalar, onde cerca de 80% dos contaminantes pertenciam à família *Enterobacteriaceae*, incluindo *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Shigella* sp. e *Yersinia enterocolitica*.

A variação na contaminação também foi verificada em um estudo de isolamento de enterobactérias a partir de baratas (*Periplaneta americana*) capturadas em um hospital, foram isoladas 94 cepas de enterobactérias, categorizadas em 15 espécies, entre elas *K. pneumoniae* 17%, *K. oxytoca* 4%, *K. ozaenae* 3%, *E.coli* 2%, *K. rhinoscleromatis* 2%, entre outros micro-organismos (PRADO *et al.*, 2002).

Não existe um padrão estabelecido para a contagem de bacilos gram negativos em ambiente, utensílios, equipamentos, mãos de manipuladores e alimentos, mas, considerando a relação direta entre a quantidade desses micro-

organismos e o isolamento de *Klebsiella* spp e *E.coli*, pode-se ressaltar inadequação.

Detectou-se a presença de *Klebsiella* spp e *E.coli* em 76,9% (40) e 13,5% (7) das amostras, respectivamente. No âmbito hospitalar deve-se dar importância a bactérias como a *Klebsiella pneumoniae*, este microrganismo tem sido causa importante de infecções nosocomiais, especialmente no período neonatal e a taxa de mortalidade pode ser tão alta quanto 70% (TORTORA *et al.*, 2005).

A presença de patógenos verificada nos ambientes, utensílios, equipamentos, mão de manipuladores e refeição padrão da unidade de alimentação e nutrição hospitalar estudada, alerta para o risco da contaminação cruzada dos alimentos que podem veicular tais patógenos para os pacientes. Além disso, os resultados indicam que as práticas de limpeza e sanitização não estão sendo suficientes para eliminar os mesmos.

Para *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas* spp não foi verificada presença nas amostras avaliadas. O gênero *Pseudomonas* é capaz de crescer a baixas temperaturas, e seu habitat é o solo e a água (MASSON *et al.*, 2002), no presente estudo análises de água utilizada para o preparo de refeições e higienização de ambientes, equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores não foram realizadas, fato que pode contribuir para o não isolamento deste microrganismo.

### **3.2 Perfil de sensibilidade e resistência a antibióticos**

A partir dos pontos amostrais já descritos, foram isoladas 49 cepas de estafilococos coagulase positiva, 99 cepas de *Klebsiella* spp e 8 cepas de *E.coli*, as quais foram submetidas aos testes para determinar o perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana. Os perfis de sensibilidade e resistência antimicrobiana das 156 cepas isoladas estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana de cepas isoladas em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS.

Antibióticos	ECP			Klebsiella spp			Escherichia coli		
	R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)
Amicacina (AMI) <sup>b</sup>				0	0	100	0	0	100
Amoxicilina + clavulanato (AMC) <sup>b</sup>				24	12	64	13	0	87
Ampicilina (AMP) <sup>b</sup>				47	14	39	13	0	87
Cefalotina (CFL) <sup>b</sup>				37	15	47	13	0	87
Cefepime (CPM) <sup>a,b</sup>	0	0	100	1	0	99	13	0	87
Cefoxitina (CFO) <sup>b</sup>				25	5	70	13	0	87
Ceftazidima (CAZ) <sup>b</sup>				4	0	96	13	0	87
Cefuroxima (CRX) <sup>b</sup>				9	2	89	13	0	87
Ciprofloxacina (CIP) <sup>a,b</sup>	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Clindamicina (CLI) <sup>a</sup>	4	20	76						
Cloranfenicol (CLO) <sup>a</sup>	0	0	100						
Eritromicina (ERI) <sup>a</sup>	10	6	84						
Gentamicina (GEN) <sup>a,b</sup>	2	0	98	0	0	100	0	0	100
Meropenem (MER) <sup>b</sup>				5	40	55	13	25	62
Oxacilina (OXA) <sup>a</sup>	49	16	35						
Penicilina-G (PEN) <sup>a</sup>	49	0	51						
Rifampicina (RIF) <sup>a</sup>	4	0	96						
Sulfazotrim (SUT) <sup>a,b</sup>	2	0	98	0	0	100	0	0	100
Tetraciclina (TET) <sup>a</sup>	4	2	94						
Vancomicina (VAN) <sup>a</sup>	22	0	78						

<sup>a</sup> Antibióticos testados para ECP (bactéria gram positiva)

ECP: estafilococos coagulase positiva

<sup>b</sup> Antibióticos testados para *Klebsiella* spp e *E.coli* (bactérias gram negativas)

(R) Resistente; (I) Intermediário; (S) Sensível

O isolamento de cepas resistentes também foi verificado por Carneiro *et al.* (2008), que em seu estudo evidenciaram a espécie *E. coli* como a mais freqüente, seguida de *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* e posteriormente *Klebsiella* e *Aeromonas* sp. *Escherichia coli* foi prevalente em todos os pontos estudados, salientando que durante a pesquisa foram encontrados carreadores contaminados em todos os ambientes hospitalares pesquisados.

Na tabela 1 podemos observar que para ECP, 49% das cepas isoladas apresentaram resistência aos antibióticos oxacilina e penicilina-G, 22% à vancomicina, aos antibióticos cefepime, ciprofloxacina e cloranfenicol não se observou cepas resistentes.

A penicilina foi o primeiro antibiótico descrito na literatura na década de 1940 e ainda tem o seu papel na medicina moderna. O uso deste medicamento ampliou-se desde sua descrição e atualmente continua a ser a indicação de escolha para algumas doenças. O advento da penicilina assinalou inúmeras possibilidades para o tratamento de doenças infecciosas em todo o mundo (GRUMACH & FERRARONI, 2006).

As penicilinas passaram a representar uma opção terapêutica no tratamento e na prevenção de diferentes processos infeciosos e de suas complicações. Constituem antibióticos de elevada eficácia quando utilizados corretamente e, atualmente, de baixo custo, sendo opção definida para sífilis, profilaxias primária e secundária da febre reumática, glomerulonefrite pós-estreptocócica, abscesso cerebral, actinomicose, difteria, endocardite enterocócica bacteriana, gangrena gasosa, infecções de tecidos moles (erisipela e impetigo), infecções do trato respiratório superior (amigdalites e faringites), otites e meningite bacteriana (GRUMACH & FERRARONI, 2006).

O principal mecanismo de resistência de bactérias à penicilina baseia-se na produção por elas de enzimas, as penicilinases, que degradam a penicilina antes de poder ter efeito (DAUM, 2007). A oxacilina é um antibiótico pertencente ao grupo das penicilinas resistentes à penicilinase estafilocócica. A sua principal indicação são as infecções provocadas por estes germes em várias localizações, nomeadamente abcessos, septicemias, pneumonias (SOUZA, 2011).

Nas últimas décadas, no âmbito hospitalar, uma opção têm sido os glicopeptídeos, principalmente a vancomicina, porém, já em 1996 foi identificado no Japão, o primeiro isolado de *S.aureus* com suscetibilidade reduzida à vancomicina (HACKBARTH *et al.*, 1995).

Atualmente a penicilina não tem mais lugar como droga terapêutica para os casos de infecções graves por *S.aureus*. Para esses casos graves, nos quais há a suspeita de o *S.aureus* ser o agente etiológico, é mais seguro usar a vancomicina como antibiótico de escolha, devido ao alto índice de resistência do micro-organismo à oxacilina; porém, sempre que o diagnóstico do micro-organismo for obtido e confirmado que não é resistente, é aconselhável usar a oxacilina ou outro antibiótico sensível e com boa penetração no sítio da infecção, sugerindo como uma forma de retardar o surgimento de resistência à vancomicina (SOUZA, 2011).

Carneiro *et al.* (2008) evidenciaram, em ambientes hospitalares, *Staphylococcus* sp. com resistência a diversos antibióticos. E em um estudo realizado por Martins *et al.* (2009), com manipuladores de alimentos, foram isoladas 82 cepas de ECP sendo que destas 89% eram resistentes à ampicilina e 86,6% à penicilina, valores elevados quando comparados ao presente estudo.

Para *Klebsiella* spp 47% das cepas isoladas apresentaram resistência ao antibiótico ampicilina e 37% a cefalotina. Aos antibióticos amicacina, ciprofloxacina, gentamicina, sulfazotrim não se obteve cepas resistentes. Perfil que difere do encontrado por Cerqueira *et al.* (2011), em estudo com pacientes de unidades pediátricas internados em um hospital central de Lisboa, que registrou uma elevada percentagem de isolados resistentes à ceftazidima, ciprofloxacina e gentamicina; e baixa percentagem de isolados que mostraram resistência à cefoxitina (4,3%) e à amoxicilina com ácido clavulânico (12,8%).

Ampicilina e cefalotina são antibióticos indicados em situações de meningites, febre paratifóide, faringite bacteriana, gonorréia, pneumonia bacteriana, septicemia bacteriana, infecções de pele e tecidos moles, infecções do trato genitourinário, sepse, infecções gastrintestinais e infecções ósseas e articulares (MERCK, 2008). Sendo estes, antibióticos de relevante importância clínica.

Já para *E.coli*, 13% das cepas isoladas apresentaram resistência aos antibióticos amoxicilina com clavulanato, ampicilina, cefalotina, cefepime, cefoxitina, ceftazidima, cefuroxima e meropenem. Para os antibióticos amicacina, ciprofloxacina, gentamicina e sulfazotrim não ocorreram cepas resistentes. Maldaner *et al.* (2011), em um estudo que avaliou o perfil de resistência à antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* isoladas de pessoas com suspeita de infecção do trato urinário, os antibióticos ampicilina, cefalotina e amicacina foram os que apresentaram maior índice de resistência, principalmente nos isolados de pacientes internados quando comparados aos isolados de pacientes comunitários.

O aparecimento de bactérias resistentes a antibióticos pode ser considerado como manifestação natural regida pelo princípio evolutivo da adaptação genética de organismos a mudanças no seu meio ambiente. Como o tempo de duplicação das bactérias pode ser de apenas 20 minutos, existe a possibilidade de serem produzidas muitas gerações em apenas algumas horas, havendo, portanto, inúmeras oportunidades de adaptação evolutiva (SILVEIRA *et al.*, 2006). Tavares (2000) afirmou que a resistência para antibióticos pode ser explicada não apenas pela presença de genes de resistência, mas também pela expressão desses genes, que é controlada pelo meio ambiente.

Após várias décadas de antibioticoterapia continuamente bem sucedida contra infecções bacterianas, nos últimos anos, um prospecto preocupante vem sendo enfrentado: a evolução acelerada de resistência aos antibióticos de importantes patógenos humanos.

Na atualidade existe uma crescente resistência dos micro-organismos aos antibióticos, sendo recomenda-se fazer testes bacteriológicos para a determinação dos micro-organismos causadores do processo infeccioso, assim como a sensibilidade destes, antes da escolha de qualquer medicação antimicrobiana, sempre que a situação permitir (MERCK, 2008).

No presente estudo foram encontradas cepas multirresistentes, as quais variaram a resistência de 2 até 8 antibióticos de uso comum, situação esta delicada já que o ambiente estudado trata-se de uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar que atende pessoas enfermas e debilitadas, cujo sistema imunológico pode encontrar-se comprometido e mais suscetível às infecções, o que enfatiza a importância de boas práticas para obtenção de refeições inócuas a saúde do paciente.

Das 156 cepas isoladas e avaliadas quanto ao perfil de resistência e sensibilidade a antimicrobianos, 61 (39,1%) mostraram-se multirresistentes a no mínimo 2 antibióticos, 49 (31,4%) apresentaram resistência a 1 dos antibióticos avaliados e 46 (29,5%) apresentaram sensibilidade a todos os antibióticos estudados.

As cepas multirresistentes foram encontradas distribuídas em 12 pontos amostrais, apenas o ponto amostral mão manipulador II não obteve esta evidência. Esses dados estão representados na tabela 2.

Tabela 2. Perfil de multirresistência de cepas isoladas em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, Rio Grande – RS.

Ponto Amostral*	Patógeno	Cepa**	Multirresistência***					
Torneira	ECP	C3 - 01	OXA	PEN	VAN			
	ECP	C3 - 02	OXA	PEN	VAN			
	ECP	C3 - 03	OXA	PEN				
	ECP	C4 - 02	ERI	OXA	PEN	VAN		
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 2K	CFL	AMP	CFO			
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 1K	AMC	CFL	AMP			
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	AMC	CFL	AMP	CFO		
Bancada I	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 2K	AMP	CFO				
	ECP	C3 - 01	OXA	PEN	RIF	VAN		
	ECP	C3 - 02	OXA	PEN	VAN			
	ECP	C4 - 01	OXA	PEN	SUT	VAN		
	ECP	C4 - 02	OXA	PEN	VAN			
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	CFL	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 3K	AMC	CFL	CFO			
Bancada II	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	AMC	CFL	AMP	CFO		
	ECP	C1 - 01	ERI	PEN				
	ECP	C1 - 02	OXA	PEN				
	ECP	C1 - 03	OXA	PEN				
	ECP	C1 - 04	PEN	TET				
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	AMC	CRX	CFL	AMP		
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 2K	AMC	CFL	AMP	CFO		
Faca de legumes	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 1K	AMC	AMP	MER	CAZ	CFO	
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 2K	AMC	CFL	AMP	CFO		
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 3K	AMC	CFL	AMP	CFO		
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 1K	AMC	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 3K	CRX	CFL				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	AMC	CFL	CFO			
	ECP	C1 - 02	OXA	PEN				
Cuba de legumes	ECP	C3 - 02	OXA	PEN				
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	CRX	CFL	AMP			
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 2K	CRX	CFL	AMP	CAZ		
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 3K	AMC	CRX	CFL	AMP	MER	CAZ
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 4K	CRX	CFL	AMP		CAZ	CPM
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 1K	CFL	AMP				CFO
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 1K	AMC	CFO				
Liquidificador	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 3K	AMC	CFL	CFO			
	ECP	C2 - 02	PEN	VAN				
	ECP	C3 - 01	OXA	PEN	VAN			
	ECP	C3 - 02	CLI	ERI	OXA	PEN	RIF	VAN
	<i>E.coli</i>	C1 - 2E	CAZ	CPM				
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 1K	AMC	CRX	CFO			
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 2K	AMC	CFO				
Mão manipulador I	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 3K	CFL	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	AMP	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 2K	AMC	AMP	CFO			
	ECP	C1 - 03	OXA	PEN				
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	CRX	CFL	AMP			
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 2K	CRX	CFL	AMP	CAZ		
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 3K	AMC	CRX	CFL	AMP	MER	CAZ
Faca de corte	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 4K	CRX	CFL	AMP		CAZ	CPM
	<i>Klebsiella</i> spp	C2 - 1K	CFL	AMP				CFO
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 2K	AMC	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 3K	CFL	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	AMP	CFO				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 2K	AMC	AMP	CFO			
	ECP	C3 - 01	CLI	OXA	PEN	VAN		
Tábua	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	AMC	AMP	CFO			
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 3K	CFL	AMP				
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 1K	AMC	CFL	AMP	CFO		
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	CFL	AMP	CFO			
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 5K	AMC	CFL	AMP			
	<i>Klebsiella</i> spp	C3 - 2K	CFL	MER				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 4K	AMC	CFO				
Marmitex	ECP	C4 - 03	PEN	TET				
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	AMP	MER				
Carro de transporte	ECP							
	<i>Klebsiella</i> spp							
Refeição padrão	ECP							
	<i>Klebsiella</i> spp							

\* O ponto amostral mão de manipulador II não obteve cepas multirresistentes e por este motivo não está na tabela.

\*\* As cepas estão representadas pelas suas codificações de análises.

\*\*\* Antibióticos analisados: amicacina (AMI); amoxicilina + clavulanato (AMC); ampicilina (AMP); cefalotina (CFL); cefepime (CPM); cefoxitina (CFO); ceftazidima (CAZ); cefuroxima (CRX); ciprofloxacina (CIP); clindamicina (CLI); cloranfenicol (CLO); eritromicina (ERI); gentamicina (GEN); meropenem (MER); oxacilina (OXA); penicilina-G (PEN); rifampicina (RIF); sulfazotrim (SUT); tetraciclina (TET); vancomicina (VAN).

Todos estes fatos somados aos resultados encontrados denotam a existência de uma situação preocupante em função da resistência a antibióticos verificada nestas cepas. Micro-organismos “resistentes a antibióticos” não são inibidos pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos geralmente atingíveis nos regimes terapêuticos normais (NCCLS, 2003), e dependendo das condições de assepsia, higiene e manipulação, podem chegar até os pacientes originando infecções de difícil tratamento.

Neste contexto, também cabe ressaltar que este estudo contribuiu para o conhecimento das taxas de resistência local, essa é uma das etapas básicas para o estabelecimento de estratégias particularizadas em relação ao uso racional de antimicrobianos. Por fim, os resultados encontrados evidenciam a necessidade de controle e readequação das práticas de higiene e para a necessidade de implantação de um sistema mais efetivo no controle microbiológico para o hospital avaliado.

#### **4 REFERÊNCIAS**

ALVES, G.G.; COSTA, E.S.; MARTINS, C.H.G.; SOUZA, M.G.M. DE.; PIRES, R.H. Bactérias multidroga resistentes isoladas de formigas hospitalares. **Investigaçāo.** v.11, p.33-38. 2011.

BOYCE, J.M. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. **J. Hosp. Infect.** Suppl 2:S50-4. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998. Estabelece diretriz e normas para a prevenção e o controle das infecções hospitalares. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília.

CARNEIRO, L.C.; CARVALHARES, T.T.; PESQUERO, M.A.; QUINTANA, R.C.; FEITOSA, S.B.; ELIAS, J.FILHO.; OLIVEIRA, M.A.C. Identificação de Bactérias Causadoras de Infecção Hospitalar e Avaliação da Tolerância a Antibióticos. **NewsLab.** Ed. 86. 2008.

CASTRO, M.M.M.V.; IARIA, S.T. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico no vestíbulo nasal de manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares do Município de João Pessoa, PB. **Rev. de Saúde Públ.**, São Paulo, Brasil. v.18, n.3, p.235-245. 1984.

CERQUEIRA, S.A.; MACHADO, P.; MARTO, J.; LITO, L.; MELO-CRISTINO, J.; DUARTE, A. Persistência de *Klebsiella pneumoniae* em doentes de unidades pediátricas do Hospital de Santa Maria, em Lisboa. **Acta. Pediatr. Port.** v.42, n.2, p.49-53. 2011.

Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI. (2011). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Tenth Informational Supplement. Document M100-S15.

DAUM, R. S. Skin and soft-tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **N. Engl. J. Med.** v.357, p:380-90, 2007.

DOWNES, F.P.; ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: American Public Health Association. 2001.

GARCIA, R.W.R. A dieta hospitalar na perspectiva dos sujeitos envolvidos em sua produção e em seu planejamento. **Rev. Nut.** v.19, n.2, p.130, 2006.

GRUMACH, A. S.; FERRARONI, N. R. The role of penicillin in modern medicine. **DST – J. Bras. Doenças Sex. Transm.** v.18, n.1, p.7-13, 2006.

HACKBARTH, C. J., et al. Point mutation in *Staphylococcus aureus* PBP2 gene affect penicillin-binding kinetics and are associated with resistance. **Antimicrob. Agents Chem.** v.39, p.103-6, 1995.

JAY, J.M. Microbiologia de alimentos. 6.ed. Porto Alegre: Artmed. p.711. 2005.

LISBOA, S.C. Bactérias Gram negativas e *Staphylococcus aureus* em serviço de alimentação hospitalar. Viçosa, Brasil. (Dissertação. Universidade Federal de Viçosa). 1997.

MAC FADDIN, J. F. **Biochemical tests for the identification of medial bacteria.** Baltimore: The Williams, Wilkins Co, 1976.

MALDANER, N.I.; CAVALLI,V.; ROSSI, E.M.; SCAPIN, D.; SARDIGLA, C.U. Antimicrobial profile of *Escherichia coli* strains isolated of peoples with suspect of urinary tract infections. **RBAC.** v.43, n.2, p 145-147. 2011.

MARTINS, S.C.S.; MARTINS, C.M.; ALBUQUERQUE, L.M.B.; FONTELES, T.V.; DO REGO, S.L.; FAHEINA JUNIOR, G.S. Perfil de Resistência de cepas de *Staphylococcus coagulase positiva* isoladas de manipuladores de alimentos. **B.CEPPA**, Curitiba. v.27, n 1, 2009.

MASSON, Y.; AINSWORTH, P.; FULLER, D.; BOZKURT, H.; IBANOGLU, S. Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Candida sake* in homogenized mushrooms under modified atmosphere. **J. of Food Engin.** v. 54, p. 125-131, 2002.

MERCK. Manual Merck de Medicina. Roca – Brasil. Ed.18. 2008.

National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS. (2003). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5. Wayne, PA.

OLIVEIRA, R.; MARUYAMA, S.A.T. Controle de infecção hospitalar: histórico e papel do estado. **Rev. Eletr. Enf.** [Internet]. 10 (3), 775-83. Available from: <http://www.fen.ufg.br/revista/v10/n3/v10n3a23.htm>. 2008.

PEREIRA, M.S.; PRADO, M.A.; LEÃO, A.L.M.; SOUZA, D.N. Avaliação de serviços de apoio na perspectiva do controle de infecção hospitalar. **Rev. Eletr. Enf.** [Internet]. 1 (1). Available from: <http://www.fen.ufg.br/revista>. 1999.

PRADO, M.A.; PIMENTA, F.C.; HAYASHID, M.; SOUZA, P.R.; PEREIRA, M.S.; GIR, E. Enterobactérias isoladas de baratas (*Periplaneta americana*) capturadas em um hospital brasileiro. **Pan. Am. J. Public. Health.** v.11, n.2, 2002.

SILVA JR., E.A. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 5 ed. São Paulo. 2002.

SILVEIRA, G.P.; NOME, F.; GESSER, J.C.; SÁ, M.M. Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. **Quím. Nov.** v.29, n.4, p.844-855. 2006.

SOUZA, L.C.; CAMPOS, G.D. Condições higiênico-sanitárias de uma dieta hospitalar. **Rev. Nut.** v.16, n.1, p.127-134. 2003.

SOUZA, M. P. de. *Staphylococcus aureus* Resistente à Oxacilina. **NewsLab.** Ed. 105. 2011.

STARLING, C.E.F.; FIALHO, A.S.; ALVES, JR. A.A.; MOURA, J.A.; COUTO, B.R.G.M. Impacto das Infecções Hospitalares na Lucratividade de Hospitais Privados Brasileiros. **Hosp. Pract.** v.6, n.34, p.77-80. 2004.

TAVARES, W. Bactérias gram positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.** v.33, p.281-301. 2000.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 8 ed. Porto Alegre. 2005.

## 5 TÍTULO 2

### Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de patógenos isolados em um lactário hospitalar

Di Primio, Eliza Marques<sup>1</sup>; Reis, Simone Farias Antunes<sup>2</sup>; Blum-Menezes, Dulcinéa<sup>3</sup>;  
Gandra, Eliezer Ávila<sup>1</sup>; Helbig, Elizabete<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Pelotas (RS).

<sup>2</sup> Graduandos da Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Pelotas (RS).

<sup>3</sup> Laboratório Genética de Micro-organismos, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (RS).

### RESUMO

Os alimentos podem ser veículos de transmissão de micro-organismos e metabólitos microbianos. Neste contexto, ressalta-se a importância das unidades hospitalares destinadas ao preparo de fórmulas infantis e dietas enterais, as quais são essenciais em pacientes pediátricos e imunodeprimidos, respectivamente. Este estudo teve como objetivo avaliar a presença de estafilococos coagulase positiva (ECP), *Pseudomonas* spp e bacilos gram negativos em ágar MacConkey, além de isolar *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella* spp e *Escherichia coli* em um lactário hospitalar da cidade de Rio Grande-RS. Também objetivou-se determinar o perfil de resistência e sensibilidade das cepas isoladas a antibióticos de uso comum, através da técnica de antibiograma por difusão em ágar. Foram coletadas 40 amostras, 8 de ambientes e de equipamentos, 8 de mãos de manipuladores, 8 de fórmulas infantis, 8 de dietas enterais, 4 de mamadeiras e 4 de superfícies de sondas dos pacientes internados, totalizando 10 pontos de amostragem. Entre as 40 amostras analisadas, ECP foram enumerados em 13 (32,5%) e bacilos gram negativos em ágar MacConkey em 18 amostras (45%). Foi possível isolar *Klebsiella* spp em 6 (15%) amostras, não foram isoladas e enumeradas *E.coli*, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas* spp. Os antimicrobianos de menor eficiência para ECP foram oxacilina e penicilina-G e para *Klebsiella* spp ampicilina e cefalotina. Cabe ressaltar que foram encontradas cepas multirresistentes de ECP e *Klebsiella* spp, as quais variaram a resistência de 3 até 8 antibióticos de uso comum, em 4 pontos amostrais. Do total de cepas isoladas, 29% apresentaram multirresistência, 35,5% mostraram-se resistentes a 1 dos antibióticos avaliados e 35,5% foram sensíveis a todos os antimicrobianos avaliados.

**Palavras Chave:** Estafilococos coagulase positiva. *Klebsiella* spp. Dietas enterais. Fórmulas infantis. Bactérias multirresistentes.

## 1 INTRODUÇÃO

Rossi *et al.* (2010) afirma que a maior parte das doenças transmitidas por alimentos (DTA) que ocorrem no Brasil não são notificadas e a identificação do agente etiológico ocorre em poucos casos, quando essas doenças ocorrem em ambiente hospitalar, a gravidade é alta, podendo resultar em sérias complicações, sequelas e óbitos.

Entre os fatores predisponentes dessas infecções, destaca-se o próprio doente, os micro-organismos determinantes de tais infecções e o meio ambiente hospitalar. Existe ainda, a possibilidade de contaminação através de manipuladores de alimentos, de equipamentos, de utensílios e de alimentos já preparados, que agem como disseminadores de micro-organismos se as técnicas de manipulação e higiene não forem adequadas (SALLES & GOULART, 1997).

As fórmulas infantis à base de leite são produtos líquidos ou em pó destinados à alimentação de crianças ou recém-nascidos, em substituição ao leite materno. No hospital, essas fórmulas são geralmente preparadas no lactário, unidade destinada ao preparo, higienização e distribuição das mamadeiras com leite e seus substitutos para alimentação de recém-nascidos e dos pacientes da pediatria (MEZOMO, 1987). Nesta mesma unidade hospitalar também são preparadas dietas enterais, as quais são utilizadas como uma terapia de rotina em pacientes com deficiência protéico-calórica, disfagia severa, grandes queimaduras, ressecção intestinal e fistulas, enquanto uma porção do trato digestivo ainda mantém sua capacidade absorptiva (MONTEMERLO *et al.*, 1996).

As vantagens oferecidas pelo emprego tanto das fórmulas infantis quanto das fórmulas enterais muitas vezes tornam secundárias as complicações derivadas de sua utilização. Neste sentido, uma das principais complicações é a contaminação das fórmulas, que podem estar associadas às complicações infecciosas, sendo a diarreia a mais frequente. A administração de fórmulas contaminadas pode não somente causar distúrbios gastrintestinais, mas contribuir para infecções mais graves, especialmente em pacientes imunodeprimidos. A contaminação microbiana pode ocorrer em diversas etapas, sendo a manipulação uma etapa especialmente crítica para a contaminação (LIMA *et al.*, 2005; ROSSI *et al.*, 2010).

Tendo em vista a importância das fórmulas infantis e dietas enterais como coadjuvante no tratamento clínico, ou, em muitos casos como a medida terapêutica

básica em hospitais, e sabendo-se da fragilidade da clientela atendida, o controle de qualidade microbiológica é de fundamental importância, a fim de garantir a inocuidade do produto final (SANTOS & TONDO, 2002).

Alves *et al.* (2011) relatam que uma infecção pode ser tratada por diversos antimicrobianos, devendo ser escolhido aquele ao qual a bactéria apresentar sensibilidade. Entretanto, Andrade *et al.* (2006) ressalta que apesar da grande diversidade de estruturas químicas e diferentes mecanismos de ação dos antibióticos, o tratamento de infecções tem se tornado cada vez mais difícil pelo surgimento de cepas bacterianas multirresistentes.

Assim sendo, este estudo objetivou quantificar ECP, *Pseudomonas* spp e bacilos gram negativos em ágar MacConkey, além de isolar *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella* spp e *Escherichia coli* de lactário em um hospital da cidade de Rio Grande-RS e determinar o perfil de sensibilidade e resistência, das cepas isoladas, a antibióticos de uso terapêutico comum.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em um hospital da cidade de Rio Grande-RS, mediante prévia autorização da direção do referido hospital e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (processo OF. 17/11). As coletas de mãos de manipuladores foram realizadas mediante assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram selecionados 10 pontos de amostragem tendo sido realizado no total 4 coletas dos mesmos pontos amostrais, em diferentes tempos, totalizando 40 amostras.

Os pontos de amostragem escolhidos foram subdivididos em ambiente (bancada), equipamentos (liquidificador), mãos de manipuladores (um funcionário interno do lactário e outro responsável pela distribuição das dietas), duas fórmulas infantis, duas fórmulas enterais, mamadeira e a superfície da sonda de um paciente.

A técnica de esfregaço em superfície (técnica do *swab*) foi utilizada para amostrar: bancada ( $25 \text{ cm}^2$ ), liquidificador ( $25 \text{ cm}^2$ ), mamadeira ( $30 \text{ cm}^2$ ), superfície da sonda (superfície total) e mãos de manipuladores (superfície total). O material

coletado foi mantido em meio de transporte Cary Blair à temperatura ambiente até o processamento laboratorial.

Para as coletas de fórmulas infantis e dietas enterais, transferiu-se as amostras para sacos plásticos estéreis, os quais foram acondicionados em caixa isotérmica, contendo gelo reciclável. Para todos os pontos amostrais as coletas foram realizadas em duplicata a cada repetição.

As amostras foram imediatamente encaminhadas para o Laboratório Genética de Micro-organismos do Instituto de Biologia para o isolamento de *Listeria monocytogenes* e para o Laboratório de Análises de Alimentos da Faculdade de Nutrição para as demais determinações microbiológicas, ambos na Universidade Federal de Pelotas (RS).

## 2.1 Análises Microbiológicas

As determinações microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações de Downes & Ito (2001). Para as análises de ECP, *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp e *E.coli*, todas as amostras foram diluídas em série decimal em água peptonada tamponada 0,1% até a diluição  $10^{-3}$  e a partir dessas diluições, as análises foram realizadas em duplicata. Para *Listeria monocytogenes* as amostras sofreram enriquecimento direto em meio de enriquecimento para este microrganismo (UVM-II).

### 2.1.1 Estafilococos coagulase positiva

Foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em ágar Baird Parker, em duplicata e em seguida as placas eram incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas. As colônias eram enumeradas e no mínimo cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípicas eram selecionadas para realização de teste de produção de coagulase livre. As cepas que apresentavam reação positiva eram armazenadas em ágar semi sólido infusão cérebro e coração (BHI) para serem avaliadas quanto a sensibilidade e resistência a antibióticos.

### **2.1.2 Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey e isolamento de *E. coli* e *Klebsiella* spp**

Inoculou-se 1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de plaqueamento em profundidade, em Agar MacConkey, em duplicata. As placas foram incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas. Após a incubação enumerou-se as colônias presentes nas placas e as que apresentavam morfologia característica de *E.coli* e *Klebsiella* spp (três a cinco colônias por placa) foram utilizadas para a realização das provas do IMViC: produção de indol (I), teste do Vermelho de Metila (VM), teste de Voges-Proskauer (VP) e teste do aproveitamento de citrato (C). Para estas provas seguiu-se o método descrito por Mac FADDIN (1976). Após a discriminação da colônia como *E.coli* ou *Klebsiella* spp assim como no caso de ECP, estas eram armazenadas em BHI semi-sólido para posterior teste com antibióticos.

### **2.1.3 *Pseudomonas* spp**

A quantificação de *Pseudomonas* spp foi efetuada em Ágar Pseudomonas, pela técnica de semeadura em superfície, inoculando 0,1 mL de cada diluição seriada, em duplicata, e incubando-se as placas a  $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  durante 48 horas. Após a incubação as colônias foram submetidas a testes de confirmação do gênero utilizando o KIT NF (PROBAC DO BRASIL), o qual é constituído pelos testes de oxidase, utilização de glicose em meio base OF, descarboxilação de lisina e arginina (base Moeller), liquefação da gelatina, hidrólise da uréia, DNAse, e sensibilidade a polimixina.

### **2.1.4 *Listeria monocytogenes***

A partir dos *swabs* transportados no meio Cary Blair e das amostras de refeição padrão, dietas enterais e fórmulas infantis, foi realizado enriquecimento em Caldo de Enriquecimento para *Listeria* spp (LEB UVM-II) e incubadas a  $30^\circ\text{C}$  por até 7 dias. As amostras foram observadas diariamente durante o período de enriquecimento, e a medida que fossem apresentando turvação semeadas em ágars seletivos, Moxalactam, Oxford, Aloa e Hicrome. As placas com meios seletivos foram incubadas a  $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  por até 7 dias. Estas placas também foram observadas diariamente durante os 7 dias de incubação, de modo a obter colônias isoladas. A partir do isolamento de colônias suspeitas, com morfologia característica do gênero

*Listeria* spp, foram realizados testes de coloração de gram, de produção de catalase (peróxido de hidrogênio a 3%), motilidade a 25°C, e fermentação de dextrose, ramnose, xilose e manitol, para a confirmação do gênero e da espécie.

## 2.2 Perfil de Resistência e Sensibilidade a Antibióticos

Os testes de resistência/sensibilidade a antibióticos foram realizados de acordo com protocolo proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) e *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2011), utilizando a técnica de discodifusão.

As cepas isoladas foram mantidas a temperatura de -18 °C em BHI semi sólido. A recuperação das cepas foi realizada em caldo BHI com incubação por 24 horas a 37± 1°C. Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI foi separadamente semeada em Trypticase Soy Agar (TSA) e incubada por 24 horas a 37± 1°C.

Foram transferidas duas alçadas da cultura em TSA para solução salina estéril (NaCl 0,85%), até a turvação compatível com o grau 0.5 da escala de Mac Farland. Em seguida, com auxílio de swab estéril, as culturas foram inoculadas de forma homogênea em placas Ágar Muller-Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados na superfície das placas multidiscos de antibióticos (Multidisco®, Laborclin, PR, Brasil) nos quais estão aderidos discos de papel com diâmetro de 6 mm impregnados com 12 antibióticos de uso comum, para uso em antibiograma por difusão em Agar. As placas foram incubadas por 18 horas a 37°C e, passado esse período, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco.

Os valores de referência utilizados para as cepas de *Klebsiella* spp, *E.coli* e ECP foram os valores de halos inibitórios esperados para *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus* spp, valores estes definidos pela CLSI (2011). Com exceção do antibiótico vancomicina, que desde 2009, a CLSI não recomenda mais o uso para verificação de sensibilidade do *S.aureus*, por não apresentar resultados confiáveis pelo método de difusão em disco, e orienta realizar o método de concentração inibitória mínima (MIC). A classificação dos halos inibitórios ao antibiótico

vancomicina foi realizada pelos padrões descritos pela NCCLS (2003), já que o mesmo é um dos componentes do disco com 12 antibióticos de uso comum.

### 2.3 Tratamento Estatístico

Os resultados das contagens microbiológicas foram logaritmizados e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido do teste Duncan a 5%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Enumeração e isolamento de patógenos em um lactário hospitalar

Nas 40 amostras analisadas, distribuídas entre ambiente, equipamentos, mãos de manipuladores, fórmulas enterais, superfícies de sondas, fórmulas infantis e mamadeiras, foram isoladas bactérias do gênero *Klebsiella* e estafilococos coagulase positiva, além de contagem expressiva de bactérias gram negativas em ágar MacConkey. Não foi evidenciada a presença de *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp e *Listeria monocytogenes*.

As contagens médias, desvios padrão e erros padrão, nos diferentes pontos de amostragem estão representados em logaritmo na figura 1. Nos pontos amostrais bancada, liquidificador, fórmula infantil I e mamadeira não obteve-se contagens de ECP.

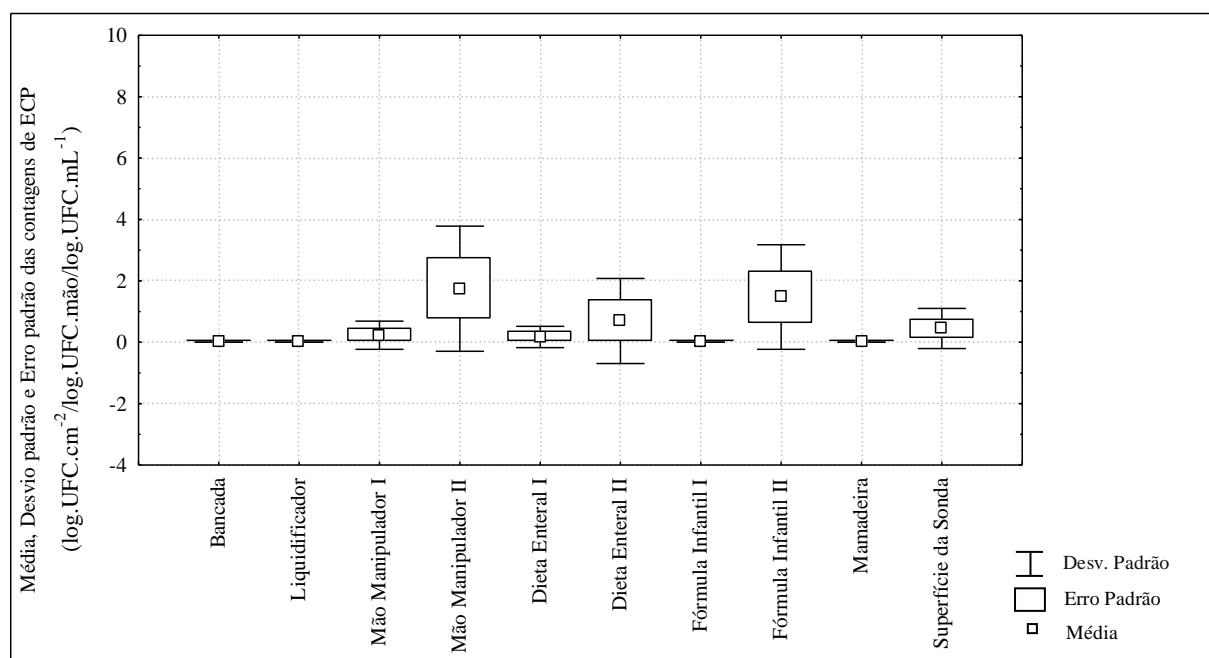


Figura 1. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de estafilococos coagulase positiva, em 4 coletas, por pontos de amostragem de lactário e superfície de sonda em ambiente hospitalar, Rio Grande – RS.

Maiores contagens médias de ECP foram obtidas nos pontos amostrais mão manipulador II ( $1,75 \text{ log.UCF.mão}^{-1}$ ) e fórmula infantil II ( $1,47 \text{ log.UCF.mL}^{-1}$ ), as quais diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) dos outros pontos amostrais. As elevadas contagens de ECP podem ser explicadas pela contaminação cruzada que as fórmulas infantis II podem ter recebido de outros pontos do lactário que não foram analisados, e por falta de práticas de higienização adequadas das mãos de manipuladores II.

Os resultados das análises, representados em contagem média, evidenciam 3 pontos amostrais fora dos padrões estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 12/01, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), a qual estabelece ausência de ECP em dietas enterais e fórmulas infantis.

A média das contagens de dietas enterais I e II foram  $0,17 \text{ log.UCF.mL}^{-1}$  e  $0,69 \text{ log.UCF.mL}^{-1}$ , respectivamente, e da fórmula infantil II  $1,47 \text{ log.UCF.mL}^{-1}$ , estando a fórmula infantil I de acordo com os padrões exigidos. Quando as 12 amostras de dietas enterais I e II e de fórmula infantil II foram avaliadas individualmente, observou-se que 4 (33%) amostras obtiveram resultados insatisfatórios: fórmula infantil II nas coletas 1 ( $3,06 \text{ log.UFC.mL}^{-1}$ ) e 3 ( $2,83 \text{ log.UFC.mL}^{-1}$ ), dieta enteral I na coleta 2 ( $0,69 \text{ log.UFC.mL}^{-1}$ ) e dieta enteral II também na coleta 2 ( $2,77 \text{ log.UFC.mL}^{-1}$ ).

Em um estudo similar realizado em um hospital privado da região noroeste do Paraná, onde foi avaliado o nível de adequação das Boas Práticas (BP) e a qualidade microbiológica de dietas enterais quanto à enumeração de ECP, utilizando os mesmos padrões de adequação microbiológica de nosso estudo, não foi verificada a contaminação com este micro-organismo (MAURICIO *et al.*, 2005). Também em acordo com os resultados encontrados neste, Oliveira *et al.* (2000), avaliaram a contaminação por patógenos em dietas enterais reconstituídas e encontraram resultados não significativos.

Segundo Santos *et al.* (2005), a ocorrência de uma alta frequência de contaminação em fórmulas enterais e fórmulas infantis pode estar relacionada a seus constituintes. Seus ingredientes apresentam-se como substratos favoráveis ao crescimento microbiano. Ademais, modificações ou manipulações inadequadas, antes da sua administração ao paciente, também são fatores potenciais de contaminação.

Para equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores, os resultados encontrados estavam em acordo com os critérios adotados por Silva Jr. (2002), o qual considera satisfatório contagens de até 3,91 log.UFC.cm<sup>-2</sup> para equipamentos e utensílios, e contagens de até 4,61 log.UFC.mão<sup>-1</sup> para mãos de manipuladores. Estes dados sugerem que o procedimento de higienização adotado no hospital avaliado para equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores apresentava eficácia contra esse grupo de micro-organismos.

Enumerou-se em ágar MacConkey o crescimento de bacilos gram negativos nos mesmos 10 pontos amostrais. As contagens médias, desvios padrão e erros padrão nos diferentes pontos de amostragem estão representados em logaritmos na figura 2.

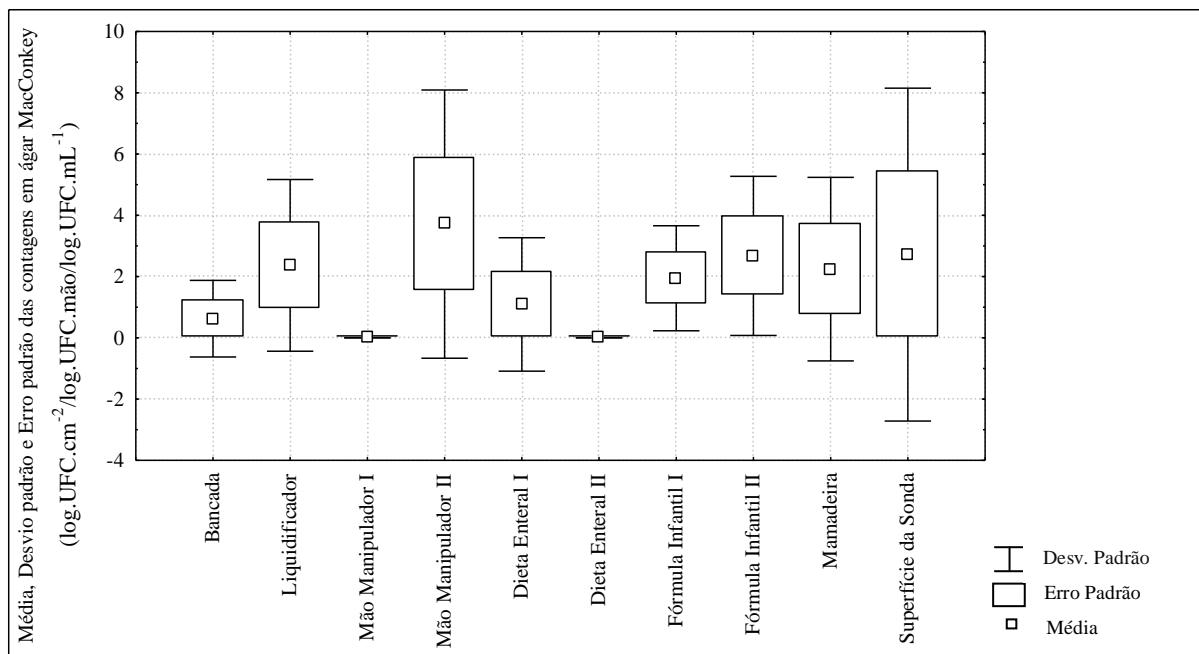


Figura 2. Média, desvio padrão e erro padrão das contagens de bacilos gram negativos em ágar MacConkey, em 4 coletas, por pontos de amostragem de lactário e superfície de sonda em ambiente hospitalar, Rio Grande – RS.

De acordo com os dados apresentados na figura 2, os pontos amostrais com maiores contagens médias foram: mão manipulador II ( $3,71 \text{ log.UFC.mão}^{-1}$ ), superfície da sonda ( $2,72 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$ ), fórmula infantil II ( $2,67 \text{ log.UFC.mL}^{-1}$ ) e liquidificador ( $2,36 \text{ log.UFC.cm}^{-2}$ ). Já os pontos mão de manipulador I e dieta enteral II não obtiveram contagens de bacilos gram negativos em ágar MacConkey.

Lisboa (1997) constatou uma grande variação na contaminação de manipuladores, utensílios e superfícies de processamento de alimentos por

bactérias gram negativas em ambiente de unidade de alimentação e nutrição (UAN) hospitalar, onde cerca de 80% dos contaminantes pertenciam à família *Enterobacteriaceae*, incluindo *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Shigella* sp. e *Yersinia enterocolitica*, concluindo que se faz necessária a aplicação de sanitizantes mais potentes e adoção de boas práticas de higiene para prevenir a contaminação em UAN hospitalares. Sugere-se que tais práticas sejam estendidas aos lactários hospitalares.

Os resultados da identificação bioquímica de bacilos gram negativos em ágar MacConkey evidenciaram que 6 amostras (15%) apresentavam-se contaminadas com *Klebsiella* spp, e em nenhuma amostra ocorreu isolamento de *E. coli*, estando *Klebsiella* spp presente na bancada, liquidificador, mão manipulador II, fórmulas infantis I e II e mamadeira.

Não existe um padrão estabelecido para a contagem de bacilos gram negativos em ambiente, utensílios, equipamentos, mãos de manipuladores, dietas enterais ou fórmulas infantis, mas, considerando a relação direta entre as contagens desses micro-organismos e o isolamento de *Klebsiella* spp, pode-se ressaltar práticas inadequadas de higienização.

Pinto *et al.* (2004), em seu estudo, analisaram 50 amostras, distribuídas entre ambientes, equipamentos, superfícies e dietas enterais. Obtiveram resultados de isolamento de três colônias típicas de bactérias do gênero *Listeria*, cinco do gênero *Salmonella* e oito do gênero *Klebsiella*. Os resultados da identificação bioquímica evidenciaram que seis amostras (11%) apresentavam-se contaminadas com, pelo menos uma das bactérias analisadas.

A partir dos resultados expostos evidencia-se a necessidade da criação de legislação específica para lactários hospitalares, identificando padrões microbiológicos para ambiente, equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores.

### **3.2 Perfil de sensibilidade e resistência a antibióticos**

A partir dos pontos amostrais já descritos, foram isoladas 17 cepas de ECP e 14 cepas de *Klebsiella* spp, as quais foram submetidas aos testes para determinar o perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana. Os perfis de sensibilidade e resistência antimicrobiana das 31 cepas isoladas estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana de cepas isoladas em um lactário hospitalar, Rio Grande – RS.

Antibióticos	Estafilococos Coagulase Positiva			Klebsiella spp		
	R % (n)	I % (n)	S % (n)	R % (n)	I % (n)	S % (n)
Amicacina (AMI) <sup>b</sup>				0 (0)	0 (0)	100 (14)
Amoxicilina + clavulanato (AMC) <sup>b</sup>				14,3 (2)	0 (0)	85,7 (12)
Ampicilina (AMP) <sup>b</sup>				57,1 (8)	21,4 (3)	21,5 (3)
Cefalotina (CFL) <sup>b</sup>				28,6 (4)	0 (0)	71,4 (10)
Cefepime (CPM) <sup>a,b</sup>	5,9 (1)	5,9 (1)	88,2 (15)	0 (0)	0 (0)	100 (14)
Cefoxitina (CFO) <sup>b</sup>				14,3 (2)	0 (0)	85,7 (12)
Ceftazidima (CAZ) <sup>b</sup>				0 (0)	0 (0)	100 (14)
Cefuroxima (CRX) <sup>b</sup>				14,3 (2)	0 (0)	85,7 (12)
Ciprofloxacina (CIP) <sup>a,b</sup>	11,8 (2)	0 (0)	88,2 (15)	0 (0)	0 (0)	100 (14)
Clindamicina (CLI) <sup>a</sup>	29,4 (5)	0 (0)	70,6 (12)			
Cloranfenicol (CLO) <sup>a</sup>	11,8 (2)	0 (0)	88,2 (15)			
Eritromicina (ERI) <sup>a</sup>	29,4 (5)	11,8 (2)	58,8 (10)			
Gentamicina (GEN) <sup>a,b</sup>	11,8 (2)	0 (0)	88,2 (15)	0 (0)	0 (0)	100 (14)
Meropenem (MER) <sup>b</sup>				7,1 (1)	14,3 (2)	78,6 (11)
Oxacilina (OXA) <sup>a</sup>	41,2 (7)	11,8 (2)	47 (8)			
Penicilina-G (PEN) <sup>a</sup>	41,2 (7)	0 (0)	58,8 (10)			
Rifampicina (RIF) <sup>a</sup>	11,8 (2)	11,8 (2)	76,4 (13)			
Sulfazotrim (SUT) <sup>a,b</sup>	0 (0)	0 (0)	100 (17)	0 (0)	0 (0)	100 (14)
Tetraciclina (TET) <sup>a</sup>	5,9 (1)	0 (0)	94,1 (16)			
Vancomicina (VAN) <sup>a</sup>	11,8 (2)	0 (0)	88,2 (15)			

<sup>a</sup> Antibióticos testados para ECP (bactéria gram positiva)

<sup>b</sup> Antibióticos testados para Klebsiella spp (bactéria gram negativa)

(R) Resistente; (I) Resistência Intermediária; (S) Sensível

Na tabela 1 podemos observar que para ECP, 41,2% das cepas isoladas apresentaram resistência aos antibióticos oxacilina e penicilina-G, apenas ao antibiótico sulfazotrim não se observou cepas resistentes. Segundo Petrone *et al.* (2004), cerca de 95% das cepas de *S. aureus* de todo o mundo são resistentes à penicilina e ampicilina, e, em alguns hospitais, mais de 60% das linhagens são resistentes a meticilina.

A penicilina foi o primeiro antibiótico descrito na literatura na década de 1940 e ainda tem o seu papel na medicina moderna. O uso deste medicamento ampliou-se desde sua descrição e atualmente continua a ser a indicação de escolha para algumas doenças. O advento da penicilina assinalou inúmeras possibilidades para o tratamento de doenças infecciosas em todo o mundo (GRUMACH & FERRARONI, 2006).

As penicilinas passaram a representar uma opção terapêutica no tratamento e na prevenção de diferentes processos infecciosos e de suas complicações. Constituem antibióticos de elevada eficácia quando utilizados corretamente e, atualmente, de baixo custo, sendo opção definida para sífilis, profilaxias primária e secundária da febre reumática, glomerulonefrite pós-estreptocócica, abscesso

cerebral, actinomicose, difteria, endocardite enterocócica bacteriana, gangrena gasosa, infecções de tecidos moles (erisipela e impetigo), infecções do trato respiratório superior (amigdalites e faringites), otites e meningite bacteriana (GRUMACH & FERRARONI, 2006).

O principal mecanismo de resistência de bactérias à penicilina baseia-se na produção por elas de enzimas, as penicilinases, que degradam a penicilina antes de poder ter efeito (DAUM, 2007). A oxacilina é um antibiótico pertencente ao grupo das penicilinas resistentes à penicilinase estafilocócica. A sua principal indicação são as infecções provocadas por estes germes em várias localizações, nomeadamente abcessos, septicemias, pneumonias (SOUZA, 2011).

A terapia antimicrobiana torna-se difícil, uma vez que a maioria dos antibióticos não tem efeito bactericida em concentrações clinicamente relevantes. Dessa forma, as infecções enterocócicas sistêmicas, como endocardite e bacteremia, são comumente tratadas com um agente que atue na parede celular (um beta-lactâmico, como a penicilina e ampicilina, ou um glicopeptídeo, como a vancomicina e teicoplanina) associado com um aminoglicosídeo (usualmente gentamicina ou estreptomicina). Esses agentes atuam sinergicamente para promover a ação bactericida. Entretanto, a resistência aos aminoglicosídeos, à ampicilina, à penicilina e à vancomicina tem se tornado um importante problema, contribuindo para a redução das opções de tratamento (BENDER *et al.*, 2010).

Martins *et al.* (2007) definiram que, devido à versatilidade no desenvolvimento de resistência a vários agentes antimicrobianos, *S.aureus* sobrevive em ambientes hospitalares e pode ser difundido entre os pacientes, de modo que pode haver dificuldade no tratamento de infecções estafilocócicas. Assim, é imprescindível um maior controle higiênico-sanitário de dietas enterais em pacientes hospitalizados, que apresentam maior susceptibilidade a micro-organismos oportunistas.

Para *Klebsiella* spp, 57,1% das cepas isoladas apresentaram resistência ao antibiótico ampicilina e 28,6% a cefalotina. O perfil encontrado no presente estudo difere do encontrado por Pinto *et al.* (2004) que isolou cepas de *Klebsiella* spp resistentes apenas aos antibióticos ampicilina e amoxilina.

Ampicilina e cefalotina são antibióticos indicados em situações de meningites, febre paratifóide, faringite bacteriana, gonorréia, pneumonia bacteriana, septicemia bacteriana, infecções de pele e tecidos moles, infecções do

trato genitourinário, sepse, infecções gastrintestinais e infecções ósseas e articulares (MERCK, 2008). Sendo estes, antibióticos de relevante importância clínica.

Novak *et al.* (2001) avaliaram a resistência a antimicrobianos de coliformes isolados de leite humano ordenhado e verificaram a resistência à ampicilina em 68 cepas (95,8%), à cefalotina em 44 (67,0%) e à cefoxitina em 42 (59,1%).

No presente estudo foram encontradas cepas multirresistentes, as quais variaram a resistência de 3 até 8 antibióticos de uso comum, situação esta delicada já que o ambiente estudado trata-se de um lactário hospitalar que atende pessoas enfermas, as quais o sistema imunológico pode estar comprometido, além de crianças cujo sistema imunológico pode encontrar-se imaturo e mais suscetível às infecções, o que enfatiza a importância de boas práticas para obtenção de dietas enterais e fórmulas infantis inócuas a saúde do paciente.

Das 31 cepas isoladas e avaliadas quanto ao perfil de resistência e sensibilidade a antimicrobianos, 9 (29%) mostraram-se multirresistentes a no mínimo 3 antibióticos, 11 (35,5%) apresentaram resistência a 1 dos antibióticos avaliados e 11 (35,5%) apresentaram sensibilidade a todos os antibióticos estudados.

As cepas multirresistentes foram encontradas distribuídas em 4 pontos amostrais. Esses dados estão representados na tabela 2.

Tabela 2. Perfil de multirresistência de cepas isoladas em um lactário hospitalar, Rio Grande – RS.

Ponto Amostral*	Patógeno	Cepa**	Multirresistência***						
Mão manipulador II	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 1K	AMC	CFL	MER	CFO			
	<i>Klebsiella</i> spp	C1 - 2K	AMC	CFL	AMP	CFO			
Fórmula infantil I	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 1K	CRX	CFL	AMP				
	<i>Klebsiella</i> spp	C4 - 2K	CRX	CFL	AMP				
Fórmula infantil II	ECP	C3 - 01	CLI	ERI	OXA	PEN	VAN		
	ECP	C3 - 02	CLI	OXA	PEN	VAN			
Superfície da sonda	ECP	C2 - 00	CPM	CIP	CLI	ERI	GEN	OXA	PEN
	ECP	C3 - 01	CLO	CLI	ERI	OXA	PEN	RIF	
	ECP	C3 - 02	CIP	CLO	CLI	ERI	GEN	OXA	PEN RIF

\* Os pontos amostrais que não estão representados na tabela não obtiveram cepas multirresistentes.

\*\* As cepas estão representadas pelas suas codificações de análises.

\*\*\* Antibióticos analisados: amicacina (AMI); amoxicilina + clavulanato (AMC); ampicilina (AMP); cefalotina (CFL); cefepime (CPM); cefoxitina (CFO); ceftazidima (CAZ); cefuroxima (CRX); ciprofloxacina (CIP); clindamicina (CLI); cloranfenicol (CLO); eritromicina (ERI); gentamicina (GEN); meropenem (MER); oxacilina (OXA); penicilina-G (PEN); rifampicina (RIF); sulfazotrim (SUT); tetraciclina (TET); vancomicina (VAN).

Para *Klebsiella* spp as cepas multirresistentes foram encontradas nos pontos amostrais mão manipulador II e fórmula infantil I. Nos pontos amostrais liquidificador,

mão manipulador II, fórmulas infantis I e II e superfície da sonda do paciente, também foram isoladas cepas resistentes a um tipo de antibiótico.

Quanto a ECP foram encontradas cepas multirresistentes em 2 pontos amostrais (fórmula infantil II e superfície da sonda do paciente). Nos pontos amostrais mão manipulador II, liquidificador e fórmulas infantis I e II, também foram isoladas cepas resistentes a um tipo de antibiótico.

Para os pontos amostrais: bancada, mão manipulador I, dietas enterais I e II e mamadeira não foram encontradas cepas resistentes a antibióticos, tanto para *Klebsiella* spp como para ECP.

Encontram-se no ambiente hospitalar numerosos micro-organismos que apresentam resistência aos antimicrobianos (WU *et al.*, 2006). Esses micro-organismos, ao serem transmitidos via alimentação, podem transferir genes que conferem resistência antimicrobiana a outras bactérias da própria espécie ou de espécies não relacionadas, patogênicas ou não (NIENOV *et al.*, 2009). A pressão seletiva ocasionada pelo extenso uso de antibióticos no meio hospitalar seleciona cepas resistentes de diferentes micro-organismos que podem estar relacionados com infecção hospitalar.

Por fim, a partir dos dados obtidos nesse estudo, verifica-se a importância da iniciativa de serem aplicadas medidas de controle da proliferação desses micro-organismos, por meio da implantação de um rigoroso sistema de controle de qualidade microbiológica na área do lactário hospitalar, buscando diminuir o risco de exposição dos pacientes a esses patógenos.

#### **4 REFERÊNCIAS**

ALVES, G.G.; COSTA, E.S.; MARTINS, C.H.G.; SOUZA, M.G.M. DE.; PIRES, R.H. Bactérias multidroga resistentes isoladas de formigas hospitalares. **Investigaçāo**. v. 11, p.33-38. 2011.

ANDRADE, D.; LEOPOLDO, V.C.; HAAS, V.J. Occurrence of Multi-Resistant Bacteria in the Intensive Care unit of a Brazilian Hospital of Emergencies. **BJIC**. v.18, n.1, p.27-33. 2006.

BENDER, E. A.; FREITAS, A. L. P. DE.; BARTH, A. L. Evaluation of antimicrobial susceptibility profile of *Enterococcus* spp. isolated in two hospitals of Porto Alegre – RS, Brazil. **RBAC**, v.42, n.1, p.15-19, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, n.12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília.

Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI. (2011). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Tenth Informational Supplement. Document M100-S15.

DAUM, R. S. Skin and soft-tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **N. Engl. J. Med.** v. 357, p.380-90, 2007.

DOWNES, F.P.; ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: American Public Health Association. 2001.

GRUMACH, A. S.; FERRARONI, N. R. The role of penicillin in modern medicine. **DST – J. Bras. Doenças Sex. Transm.** v.18, n.1, p.7-13, 2006.

LIMA, A.R.C DA.; BARROS, L.M.; ROSA, M.S.; CARDONHA, A.M.S.; DANTAS, M.A.M. Avaliação microbiológica de dietas enterais manipuladas em um hospital. **Acta Cir. Bras.** v.20, n.1, 2005.

LISBOA, S.C. Bactérias Gram negativas e *Staphylococcus aureus* em serviço de alimentação Hospitalar. Viçosa. (Dissertação. Universidade Federal de Viçosa). 1997.

MAC FADDIN, J. F. **Biochemical tests for the identification of medial bacteria.** Baltimore: The Williams, Wilkins Co, 1976.

MARTINS, J.F.L.; MARTINS, A.D.O.; MILAGRES, R.C.R.M.; ANDRADE, N.J. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from enteral diets in a public hospital of Minas Gerais. **Acta Sci. Health Sci.** v.28, n.1, p.9-14, 2007.

MAURICIO, 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 Sci. Health Sci.** v.27, n.2, p.157-161, 2005.

MERCK. Manual Merck de Medicina. Roca – Brasil. Ed. 18. 2008.

MEZOMO, I.F. Serviço de nutrição e dietética. São Paulo: União Social Camiliana. 1987.

MONTEMERLO, H.; MENÉNDEZ, A.M.; MARCENAC, F.; FLORIDIA, J.; ESTEBAN, L.; BARBARICCA, M. Nutrición enteral: reducción del riesgo de contaminación. **Nutr. Hosp.** v.11, p.102-7. 1996.

National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5. Wayne, PA. 2003.

NIENOV, A.T.; MACEDO, M.B.; FÉLIX, C.; RAMOS, D.; MOREIRA, Â.N.; SILVA, P.E.A. Qualidade higiênico-sanitária de formulações ministradas a neonatos. **J. Braz. Soc. Food Nutr.** São Paulo. v.34, n.2, p.127-138. 2009.

NOVAK, F.R.; ALMEIDA, J.A.G.; ASENSI, M.D.; MORAES, B.A.; RODRIGUES, D.P. Antimicrobial resistance of coliform isolates from expressed human Milk. **Cad. Saúde Públ.** Rio de Janeiro. v.17, n.3, p.713-717, 2001.

OLIVEIRA, M.H.; BONELLI, R.; AIDOO, K.E.; BATISTA, R.V. Microbiological quality of reconstituted enteral formulations used in hospitals. **Nutrition.** v.16, n.9, p.722-733. 2000.

PETRONE, R.R.C.B.; BALDASSI, L.; BIDOIA, E. Sensibilidade de *Staphylococcus aureus* aos extratos da Aristolochia gigantea mart. e zucc. **Arq. do Inst. Biológico.** São Paulo. v.71, p.576-578. 2004.

PINTO, U.M.; CARDOSO, R.R.; VANETTI, M.C.D. Detection of *Listeria*, *Salmonella* and *Klebsiella* in a hospital food service. **Rev. Nutr.** v.17, n.3, p.319-326. 2004.

ROSSI, P.; KABUKI, D.Y.; KUAYE, A.Y. Avaliação microbiológica do preparo de fórmula láctea infantil em lactário hospitalar. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.** São Paulo. v.69, n.4, p.503-9. 2010.

SALLES, R.K.de.; GOULART, R. Diagnóstico das condições de lactários hospitalares. **Rev. Saúde Públ.** v.31, n.2. 1997.

SANTOS, B.H.C.; COSTA, A.C.; SOUZA, E.L.; SOUSA, C.P. *Klebsiella pneumoniae* como agente contaminante de dietas enterais artesanais. **Hig. aliment.** São Paulo. v.19, n.131, p.58-60. 2005.

SANTOS, M.I.S.; TONDO, E.C. Perigos e Pontos Críticos de Controle em Lactário. **Rev. Nutr.** v.13, n.3, p.211-222. 2002.

SILVA JR., E. A. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 5 ed. São Paulo. 2002.

SOUZA, M. P. de. *Staphylococcus aureus* Resistente à Oxacilina. **NewsLab.** Ed. 105. 2011.

WU, C.J.; LEE, H.C.; LEE, N.Y.; SHIH, H.I.; KO, N.Y.; WANG, L.R.; KO, W.C. Predominance of Gram-negative bacilli and increasing antimicrobial resistance in nosocomial bloodstream infections at a university hospital in southern Taiwan. **Microbiol. Immunol. Infect.** v.39, n.2, p.135-143. 2006.

## 6 Conclusões Gerais

Considerando os resultados obtidos neste estudo e o fato das áreas amostradas serem locais de preparo de alimentos, ambientes de extrema importância, ressaltando que trata-se de uma unidade de alimentação e nutrição e um lactário hospitalar, os quais atendem pacientes muitas vezes imunossuprimidos, as elevadas contagens de micro-organismos em ambiente, utensílios, mãos de manipuladores, dietas enterais, sondas dos pacientes e fórmulas infantis, denotam a necessidade de dar uma importância especial a qualidade microbiológica nestes locais.

Neste sentido, o estabelecimento e/ou renovação das boas práticas, desde o controle da matéria prima, passando pelo rigoroso controle de higienização de ambiente, utensílios, equipamentos e mãos de manipuladores, além do controle microbiológico periódico, faz-se necessário para obtenção de um produto final seguro, o qual será oferecido aos pacientes internados.

Além disso, as taxas de resistência a antimicrobianos das cepas isoladas nessas duas linhas de produção, demonstram a provável seleção decorrente do uso inadequado de antibióticos, sendo possível mensurar a grande importância da implementação de medidas de controle a fim de evitar uso abusivo e/ou indiscriminado de antimicrobianos, prática que infelizmente ainda está presente no cotidiano das áreas de saúde humana e animal.

## Referências Bibliográficas

- AHMED, L.; MOHAMMED, Z.; MOHAMMED, F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *J. Ethnopharmacol.*, n. 62, p. 183-193, 1998.
- AKUTSU, R. C.; BOTELHO, R. A.; CAMARGO, E. B.; SÁVIO, K. L. O.; ARAÚJO, W. C. Adequação das Boas Práticas de Fabricação em Serviços de Alimentação. *Rev. Nutr.* v.18, n.3, 2005.
- ALCÂNTARA, E. C.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em luvas e máscaras descartáveis, em unidades de refeições transportadas, tipo marmitex. *Hig. Aliment.*, v.17, p.95-8, 2003.
- ALTEKRUSE, S. F.; COHEN, M. I.; SWERDLOW, D. I. Emerging foodborne diseases. CDC, Atlanta, USA, 1997.
- AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L.; AMSON, G.V. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) no estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. *Ciênc. Agrotec.* v.30, n.6, p.1139-1145, nov./dez., 2006.
- BADARÓ, A. C.; AZEREDO, R. M.; ALMEIDA, M. E. Vigilância Sanitária de Alimentos: Uma Revisão. *Rev. Nutr.* v.1, n.1. ago./dez. 2007.
- BANNERMAN, T.L. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: MURRAY, P.R et al. (Eds.). **Manual of clinical microbiology**. Washington: American Society for Microbiology, 2003.
- BEAN, N.H.; GRIFFIN, P.M. Foodborne diseases outbreaks in the United States, 1973-1983: pathogens vehicles and trends. *J. Food Protec.* v.53, n.9, p.804-807, 1990.
- BRASIL. Congresso Nacional. **Lei nº 6437**, de 20 de agosto de 1977.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução - RDC nº 216**. De 15 de setembro de 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução - RDC nº 275**. De 21 de outubro de 2002.
- Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional>. Acesso em: ago. 2010.
- BURKE, John. Infection control: a problem for patient safety. *N. Engl. J. Med.* v.7, n. 348, p.651–656, 2003.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria spp. Coliformes totais e fecais e E.coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil)*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v.3, n. 21. p.281-287. set./dez. 2001.

CAVALLI, S. B.; SALAY, E. Segurança do alimento e recursos humanos: estudo exploratório em restaurantes comerciais dos municípios de Campinas, SP e Porto Alegre, RS. **Hig. Aliment.** v. 18, n. 126, p. 29-35, 2004.

CENEPI /FUNASA/MS. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** 2001.

CHAVES, J. B. P. Análise de Riscos na Indústria de Alimentos. 2004. Disponível em: <<http://www.dta.ufv.br/artigos/appcc.htm>>. Acesso em: ago. 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Tenth Informational Supplement*. CLSI Document M100-S15. Villanova, PA, 2011.

CRESPO, M. P. La lectura interpretativa del antibiograma: Una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. **Colomb. Méd.** v. 33, n. 4, p. 179-193, 2002.

DATASUS. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema de Informações Hospitalares – Ministério da Saúde. Acesso em: novembro 2010.

DDTHA - Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Manual das Doenças Transmitidas por Alimentos e Água. 2003. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Listeria.htm>>. Acesso em: dez/2010.

DOWNES, F. P.; ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), p.676. 2001.

DOYLE, M. P.; PADHYE, V. V. *Escherichia coli*. In: DOYLE, M. P. (ed.). **Foodborne bacterial pathogens**. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 235-281. 1989.

EDUARDO, M. B.; MELLO, M. L. R.; KATSUYA, E. M.; CAMPOS, J. C.; KITAGAWA, B. Y. **Síndrome Hemolítico-Hurêmica – Normas e Instruções**. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, 2002. Disponível em: <<ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doctec/hidrica/shu.pdf>>. Acesso em: Novembro / 2010.

FARIA, N. A.; OLIVEIRA, D. C.; WESTH, H.; MONNET, D. L.; LARSEN, A. R.; SKOV, R.; DE LENCASTRE, H. Epidemiology of emerging methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Denmark: a nationwide study in a country with low prevalence of MRSA infection. **J. Clin. Microbiol.** v.43. p.1836-42. 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Bad Bug Book. *Listeria monocytogenes*. 2003. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap6.html>>. Acesso em: dez/2010.

FRANCO, B. et al. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FREITAS, W. C.; SOUZA, E. L.; SOUSA, C. P.; TRAVASSOS, A. E. R. Ocorrência de *Staphylococcus* spp. em massa refrigerada tipo pizza pronta. **Hig. Aliment.** v.122, p.67-70. 2004.

GÓES, J. A. W. et al. Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Hig. Aliment.** v.15, n.82, p.20-22, 2001.

Greig, J. D.; Ravel, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **Intern. J. of Food Microbiol.** v.87, p.130-77, 2009.

GUAHYBA, A. S. **Micro-organismos Deteriorantes**. Centro Universitário - UNIVATES, Lajedo, RS (Apostila Técnico em Química) 2003.

GUPTA, A; AMPOFO, K; RUBENSTEIN, D; SAIMAN, L. *Klebsiella pneumoniae* produtora de β-lactamase. **J. Perinatol.** n 23. p 439-443, 2003.

KUAYE, A. Y. Análise de Perigos em Pontos Críticos de Controle – Garantia e Controle de Qualidade no Processamento de Alimentos. **Boletim SBCTA**. n. 29, v. 2, p. 151-154, 1995.

LUCHESE, R. H.; BORGES, J. T. S.; MAIA, L. H.; FREITAS, A. S. Identificação dos pontos críticos de controle na preparação de carne bovina assada, em unidades de alimentação e nutrição. **Hig. Aliment.** v. 17, n. 108, p. 36-41, 2003.

MAC FADDIN, J. F. **Biochemical tests for the identification of medial bacteria**. Baltimore: The Williams, Wilkins Co, 1976.

MAGRAM, A. J.; HORAN, T. C.; PEARSON, M. L.; SILVER, L. C.; JARVIS, W. R. Guideline for prevention of surgical site infection. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.** n. 20, v.4, p. 250-78; 1999.

MAISTRO, Liliane Correa. Alface minimamente processada: uma revisão. **Rev. Nutr.** São Paulo, v.14, n. 3, p. 219-224, set. /dez. 2001.

MCGOWAN, J.E. Economic impact of antimicrobial resistance. **Emerg. Infect. Dis.** v.7, n.2, mar-apr.,2001.

MIRANDA, L. K.; DAMASCENO, K. S. F. S. C.; CARDONHA, A. M. S. Panos de prato e mãos de manipulares: avaliação das condições higiênico-sanitárias. **Hig. Aliment.** v. 1, n. 102/103, p. 51-58, 2002.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5. Wayne, PA, 2003.

**NETO, F. do N. Roteiro para elaboração de Manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF) em Restaurantes.** São Paulo: SENAC, 2003.

**NETO, Manoel S. Diagnóstico Situacional da Utilização das Ferramentas de Segurança na Produção de Alimentos nas Cozinhas das Unidades de Alimentação e Nutrição dos Hospitais de Brasília – DF.** Dissertação (Mestrado), Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2006.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL): a clinical update. **Clin. Microbiol. Rev.** v.18, n.4, p.657-86, 2005.

PETERSON, D. L. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species-Review. **Clin. Infect. Dis.** suppl. 2, p. S43-48, 2006.

PEREIRA, W. R.; BELLATO, R. The relationship between the precariousness of the physical environment and the risk for hospital infection: a look within the perspective of ethics, rights and citizenship. **Tex. Contexto Enferm.** v.13, p.17-24. 2004.

PIRNAY, J. P. et al. *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. **Environ. Microbiol.** v. 7, n. 7, p. 969-980, 2005.

RABHAE, G. N.; RIBEIRO, N. Filho.; FERNANDES, A. T. Infecção do sítio cirúrgico. In: Fernandes AT, editor. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. São Paulo: Atheneu; p. 479-505; 2000.

REDFERN, S. M. Mitos e rituais na sala de operação. **Rev. SOBECC.** v.3, p.10-7, 1998.

**RÊGO, F. M. Qualidade higiênico sanitária das águas utilizadas em unidades de alimentação e nutrição hospitalares da rede pública do Distrito Federal.** Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília. Faculdade de Ciências da Saúde. 2006.

RÊGO, J. C. et al. Proposta de um programa de boas práticas de manipulação e processamento de alimentos para unidades de alimentação e nutrição. **Hig. Aliment.** v. 15, n. 89, p. 22-27, 2001.

RIBEIRO FILHO, N. Resistência bacteriana aos antibióticos. In FERNANDES, A. T.; FERNANDES, M. O. V.; RIBEIRO FILHO, N. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. São Paulo (SP): Atheneu; 2000.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

SANTOS, C. D. M.; LEAL, G. S.; ROSSI, D. A. Frequência e suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp isolados de leite de vacas com mastites recorrentes de rebanhos da região de Uberlândia – MG. **Vet. Not.** v. 12, n. 2, p. 83-88. 2006.

- SANTOS, L. L.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; VIANA, C.; HILGERT, A. R.; BERGER, J.; MARTINS, P. K. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) na região de Oeste do Paraná. Anais: 54º Congresso Brasileiro de Genética. Salvador, 2008.
- SCARPATE, E. C. B.; COSSATIS, J. J. A presença da *Klebsiella pneumoniae* produtora de β-lactamase de espectro estendido no ambiente hospitalar. **Saúde & Amb. Rev.** v.4, n.1, p.1-11, jan-jun 2009.
- SILVA JUNIOR, E. A. da. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**. 6ed. São Paulo: Varela, 1995.
- SILVA, E. O.; BASTOS, M. S. R.; ALVES, R. E.; SOARES, N. F. F.; PUSCHMANN, R. Segurança microbiológica em frutas e hortaliças minimamente processadas. In: SIMPÓSIO IBERO-AMERICANO DE VEGETAIS FRESCOS CORTADOS, San Pedro, SP Brazil, Abril 2006.
- SOUZA, E. L.; FREITAS, W. C.; TRAVASSOS, A. E. R.; SOUSA, C. P. Anti-Staphylococcal Effectiveness of Nisaplin in Refrigerated Pizza Doughs. **Braz. Arch. Biol. Technol.** v.51, p.595-9, 2008.
- SOUZA, E. L. de; SILVA, C. A. da. Qualidade sanitária de equipamentos, superfícies, água e mãos de manipuladores de alguns estabelecimentos que comercializam alimentos na cidade de João Pessoa, PB. **Hig. Aliment.** v. 18, n. 116/117, p. 98-102, 2004.
- SOUZA, L. C.; CAMPOS, G. D. Condições higiênico-sanitárias de uma dieta hospitalar. **Rev. Nutr.** v.16, n.1, p.127-134. Jan./mar., 2003.
- SPERS, E. E.; KASSOF, A. L. A segurança dos alimentos: uma preocupação crescente. **Hig. Aliment.** n. 44, p. 18-21, 1996.
- TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: Resistência do estafilococo, do enterococo e do penumococco aos antimicrobianos. **Rev. da Socied. Bras. de Med. Trop.** v.33, n.3, p.281-301, 2000.
- TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- TURRINI, R.N.T.; SANTO, A.H. Infecção hospitalar e causas múltiplas de morte. **J. Pediatr.** v 78, n.6, 2002.
- WANNMACHER, Lenita. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? (ISSN 1810-0791). v.1, n.4, Brasília, 2004.
- WENZEL, R.P.; EDMOND, M.B. Managing antibiotic resistance. **N. Engl. J. Med.** v.343, p.1961-1963, 2000.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Report of a joint WHO / FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series, 916. Genebra: WHO, 2001.

## **Apêndices**

## Apêndice A – Enumeração de ECP por ponto amostral nas diferentes coletas em uma UAN hospitalar

<b>Ponto Amostral</b>	<b>Coleta 1</b>		<b>Coleta 2</b>		<b>Coleta 3</b>		<b>Coleta 4</b>	
	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>
A 01	Torneira	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	12,7 UFC/cm <sup>2</sup>	6,35 UFC/cm <sup>2</sup>	92,5 UFC/cm <sup>2</sup>	92,5 UFC/cm <sup>2</sup>	65,83 UFC/cm <sup>2</sup>
A 02	Bancada 1 (carnes)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	1,14 UFC/cm <sup>2</sup>	1,14 UFC/cm <sup>2</sup>	42 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 03	Bancada 2 (vegetais)	114 UFC/cm <sup>2</sup>	114 UFC/cm <sup>2</sup>	0,26 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,26 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	25,8 UFC/cm <sup>2</sup>	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	2,2 UFC/cm <sup>2</sup>
A 04	Faca de Legumes	7,8 UFC/cm <sup>2</sup>	5,85 UFC/cm <sup>2</sup>	1307,2 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	980,4 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	63,8 UFC/cm <sup>2</sup>	31,9 UFC/cm <sup>2</sup>	293,5 UFC/cm <sup>2</sup>
A 05	Cuba de Legumes	1,3 UFC/cm <sup>2</sup>	0,65 UFC/cm <sup>2</sup>	4,8 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	32 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 06	Liquidificador	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,04 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	6,6 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	4,4 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 07	Mão Manipulador 1	< 1 UFC/mão (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	19,5 UFC/mão (est)	9,75 UFC/mão (est)	850 UFC/mão (est)	850 UFC/mão (est)	1240 UFC/mão
A 08	Faca de corte (carnes)	0,05 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,05 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	64,5 UFC/cm <sup>2</sup>	64,5 UFC/cm <sup>2</sup>	3,2 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	3,2 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	115,9 UFC/cm <sup>2</sup>
A 09	Tábua de carnes	1,56 UFC/cm <sup>2</sup>	0,78 UFC/cm <sup>2</sup>	1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,96 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,48 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	9,1 UFC/cm <sup>2</sup>
A 10	Marmitech	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,32 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 11	Carro de transporte	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,07 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,07 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,52 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 12	Mão Manipulador 2	54,5 UFC/mão	54,5 UFC/mão	15 UFC/mão (est)	7,5 UFC/mão (est)	< 1 UFC/mão (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	2,5 UFC/mão (est)
A 13	Refeição padrão	< 1 UFC/g (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/g (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/g (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)

**Apêndice B – Enumeração de ECP por ponto amostral nas diferentes coletas em um lactário hospitalar**

<b>Ponto Amostral</b>	<b>Coleta 1</b>		<b>Coleta 2</b>		<b>Coleta 3</b>		<b>Coleta 4</b>	
	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>	<b>UFC</b>	<b>ECP</b>
A 14	Bancada	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,04 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,04 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 15	Liquidificador	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,08 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,08 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 16	Manipulador Lactário	< 1 UFC/mão (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	3 UFC/mão (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	5 UFC/mão (est)	2,5 UFC/mão (est)	< 1 UFC/mão (est)
A 17	Manipulador Copeiro	63,5 UFC/mão	47,63 UFC/mão	5 UFC/mão (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	34 UFC/mão	22,7 UFC/mão	< 1 UFC/mão (est)
A 18	Dieta enteral 1	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	2 UFC/mL (est)	2 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/mL (est)
A 19	Dieta enteral 2	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	16 UFC/mL (est)	16 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/mL (est)
A 20	Fórmula infantil 1	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	1 UFC/mL (est)	1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/mL (est)
A 21	Fórmula infantil 2	28,5 UFC/mL	21,38 UFC/mL	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	17 UFC/mL (est)	17 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)
A 22	Mamadeira	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,83 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,83 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 23	Sonda	< 1 UFC/sonda (est)	< 1 UFC/sonda (est)	1,5 UFC/sonda (est)	1,5 UFC/sonda (est)	4 UFC/sonda (est)	4 UFC/sonda (est)	140 UFC/sonda (est)

### Apêndice C – Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey em uma UAN hospitalar

Ponto Amostral Produção	Contagem de bacilos gram negativos em ágar MacConkey			
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
A 01 Torneira	0,08 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	606,7 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	470 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	1260 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 02 Bancada 1 (carnes)	11,4 UFC/cm <sup>2</sup>	3,7 UFC/cm <sup>2</sup>	172 UFC/cm <sup>2</sup>	2120 UFC/cm <sup>2</sup>
A 03 Bancada 2 (vegetais)	Inc*	46,2 UFC/cm <sup>2</sup>	146 UFC/cm <sup>2</sup>	60 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 04 Faca de Legumes	0,3 UFC/cm <sup>2</sup>	12,3 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	63 UFC/cm <sup>2</sup>	143,5 UC/cm <sup>2</sup>
A 05 Cuba de Legumes	15,4 UFC/cm <sup>2</sup>	2,32 UFC/cm <sup>2</sup>	0,22 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	108 UFC/cm <sup>2</sup>
A 06 Liquidificador	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	1,68 UFC/cm <sup>2</sup>	3 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	10 UFC/cm <sup>2</sup>
A 07 Mão Manipulador 1	4,5 UFC/mão (est)	31800 UFC/mão (est)	48400 UFC/mão (est)	30600 UFC/mão (est)
A 08 Faca de corte (carnes)	68,1 UFC/cm <sup>2</sup>	385,5 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	721,7 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	704,3 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 09 Tábua de carnes	1080 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,28 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	114 UFC/cm <sup>2</sup>	1608 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 10 Marmitex	0,02 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	1,24 UFC/cm <sup>2</sup>	0,1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	0,36 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 11 Carro de transporte	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 12 Mão Manipulador 2	< 1 UFC/mão (est)	< 1 UFC/mão (est)	69,5 UFC/mão	< 1 UFC/mão (est)
A 13 Refeição padrão	10 UFC/g (est)	0,5 UFC/g (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)

\* Incontável

**Apêndice D – Enumeração de bacilos gram negativos em ágar MacConkey em um lactário hospitalar**

<b>Ponto Amostral Lactário</b>	<b>Contagem de bacilos gram negativos em ágar MacConkey</b>			
	<b>Coleta 1</b>	<b>Coleta 2</b>	<b>Coleta 3</b>	<b>Coleta 4</b>
A 14 Bancada	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	12,2 UFC/cm <sup>2</sup>
A 15 Liquidificador	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	246 UFC/cm <sup>2</sup>	52 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 16 Manipulador Lactário	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)
A 17 Manipulador Copeiro	4950 UFC/mão	570 UFC/mão	< 1 UFC/mão (est)	< 1 UFC/mão (est)
A 18 Dieta enteral 1	< 1 UFC/mL (est)	78 UFC/mL	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)
A 19 Dieta enteral 2	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)	< 1 UFC/mL (est)
A 20 Fórmula infantil 1	0,5 UFC/mL (est)	62,5 UFC/mL	8,5 UFC/mL (est)	4,5 UFC/mL (est)
A 21 Fórmula infantil 2	< 1 UFC/mL (est)	50 UFC/mL	295 UFC/mL	3 UFC/mL (est)
A 22 Mamadeira	9,83 UFC/cm <sup>2</sup>	< 1 UFC/cm <sup>2</sup> (est)	640 UFC/cm <sup>2</sup>	1,25 UFC/cm <sup>2</sup>
A 23 Sonda	0,5 UFC/sonda (est)	< 1 UFC/sonda (est)	< 1 UFC/sonda (est)	52400 UFC/sonda (est)

**Apêndice E – Isolamento de patógenos por ponto amostral nas diferentes coletas de uma UAN hospitalar**

		<i>E. coli</i>				<i>Klebsiella spp.</i>				<i>L. monocytogenes</i>				<i>Pseudomonas sp</i>			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A 01	Torneira	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 02	Bancada 1 (carnes)	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 03	Bancada 2 (vegetais)	Aus	Pre	Pre	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 04	Faca de Legumes	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 05	Cuba de Legumes	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 06	Liquidificador	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 07	Mão Manipulador 1	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 08	Faca de corte	Pre	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 09	Tábua de carnes	Aus	Pre	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 10	Marmitex	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 11	Carro de transporte	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 12	Mão Manipulador 2	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 13	Refeição padrão	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus

Aus = Ausência; Pre = Presença

**Apêndice F – Isolamento de patógenos por ponto amostral nas diferentes coletas de um lactário hospitalar**

		<i>E. coli</i>				<i>Klebsiella spp.</i>				<i>L. monocytogenes</i>				<i>Pseudomonas sp</i>			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A 14	Bancada	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 15	Liquidificador	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 16	Manipulador Lactário	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 17	Manipulador Copeiro	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 18	Dieta enteral 1	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 19	Dieta enteral 2	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 20	Fórmula infantil 1	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 21	Fórmula infantil 2	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 22	Mamadeira	Aus	Aus	Aus	Aus	Pre	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus
A 23	Sonda	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus

Aus = Ausência; Pre = Presença

## **Apêndice G – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de ECP isolados na coleta 1**

**Apêndice H – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de ECP isolados na coleta 2**

PONTO AMOSTRAL	E. C. P.	CPM		CIP		CLO		CLI		ERI		GEN		OXA		PEN		RIF		SUT		TET		VAN			
		V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1												
	PRODUÇÃO																										
A 01	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	A 02	1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	22,5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	36	S	
		2	31	S	35,5	S	33	S	38,5	S	12,5	R	22	S	21,5	S	50	S	S	S	S	S	S	S	24	S	
	A 03		22	S	32,5	S	36,5	S	40	S	42,5	S	32,5	S	10	R	33,5	S	46	S	35	S	35	S	27,5	S	
	A 04	1	30	S	31,5	S	40	S	S	S	S	S	31,5	S	S	S	S	S	S	40	S	S	S	S	30	S	
		2	31,5	S	33	S	37,5	S	S	S	S	S	37,5	S	8	R	37,5	S	40	S	31	S	36,5	S	34	S	
		3	32,5	S	36,5	S	S	S	S	S	S	S	S	13	S	44,5	S	S	S	35	S	S	S	S	31,5	S	
	A 07	2	28,5	S	S	S	31,5	S	36	S	40	S	38,5	S	10,5	R	35	S	46	S	52,5	S	S	S	27	S	
	A 08	1	27,5	S	S	S	30,5	S	39	S	39	S	37,5	S	14	S	36	S	46	S	45	S	S	S	S	29	S
		2	40	S	35	S	35	S	16,5	I	25	S	31	S	S	S	11	R	30	S	36	S	31,5	S	9	R	
	A 09		35	S	30	S	30	S	37,5	S	35	S	37,5	S	10	R	37,5	S	47,5	S	50	S	S	S	S	27	S
A 11	A 11	1	35	S	37,5	S	36,5	S	40	S	12	R	18,5	S	14,5	S	40	S	47,5	S	S	S	S	S	S	28	S
		2	25,5	S	31	S	30	S	30	S	30	S	27	S	11	I	43,5	S	36	S	35,5	S	37,5	S	20	S	
	A 12	2	22,5	S	35	S	31	S	28,5	S	33,5	S	34	S	14	S	24	R	23,5	S	33	S	25	S	25	S	
	LACTÁRIO																										
	A 14		36	S	32,5	S	35	S	42,5	S	31,5	S	31,5	S	18	S	42,5	S	S	S	S	S	S	S	23,5	S	
	A 15		32	S	36,5	S	29	S	35	S	31,5	S	32,5	S	9	R	33,5	S	45	S	32,5	S	45	S	23,5	S	
	A 18		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	A 19	1	31	S	32	S	29	S	34	S	30	S	31	S	20	S	39	S	41	S	37	S	40	S	22	S	
		2	25	S	26	S	32	S	30	S	32	S	31	S	14	S	40	S	40	S	40	S	35	S	25	S	
	A 20		27	S	30	S	31	S	35	S	35	S	32	S	8	R	35	S	45	S	40	S	35	S	24	S	
A 22	A 22	1	25	S	35	S	22	S	35	S	30	S	31	S	15	S	40	S	45,5	S	35	S	40	S	21	S	
		2	27	S	34	S	28	S	32	S	30	S	29	S	20	S	38	S	40	S	37	S	35	S	21	S	
A 23		R	R	R	R	25	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	46	S	40	S	43	S	30	S

**Apêndice I – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de ECP isolados na coleta 3**

PONTO AMOSTRAL	E. C. P.	CPM		CIP		CLO		CLI		ERI		GEN		OXA		PEN		RIF		SUT		TET		VAN		
		V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	
	PRODUÇÃO																									
A01	1	31	S	33	S	30	S	16	I	21	I	23	S	R	R	10	R	29	S	30	S	29	S	8	R	
	2	38	S	42	S	37	S	16	I	23	S	28	S	R	R	12	R	29	S	17	S	33	S	9	R	
	3	38	S	42	S	39	S	17	I	23	S	22	S	R	R	12	R	32	S	33	S	34	S	16	S	
A 02	1	37	S	37	S	39	S	15	I	22	I	30	S	R	R	R	R	15	R	29	S	33	S	R	R	
	2	38	S	39	S	37	S	19	I	22,5	I	33	S	R	R	8	R	30	S	30	S	34	S	R	R	
A 04	2	23	S	28	S	26	S	25	S	28	S	30	S	10	R	21	R	35	S	32	S	35	S	22	S	
A 06	2	S	S	S	S	S	S	39	S	S	S	S	S	15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	30	S	
	3	33	S	42	S	33	S	37	S	S	S	12	R	24	S	48	S	49	S	S	S	S	S	S	27	S
A 07	1	28	S	30	S	30	S	33	S	32	S	33	S	17	S	39	S	43	S	35	S	35	S	22	S	
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A 08	1	35	S	35	S	35	S	20	I	29	S	27	S	R	R	14	R	25	S	29	S	30	S	10	R	
	2	36	S	42	S	25	S	R	R	12	R	24	S	R	R	R	R	15	R	35	S	30	S	R	R	
	3	18	S	33	S	33	S	24	S	23	S	27	S	R	R	29	S	33	S	33	S	33	S	24	S	
A 09	1	37	S	35	S	35	S	13	R	25	S	27	S	R	R	11	R	31	S	29	S	31	S	7	R	
LACTÁRIO																										
A16	1	34	S	39	S	30	S	40	S	37	S	33	S	18	S	40	S	45	S	36	S	39	S	27	S	
A17	3	27	S	33	S	31	S	27	S	30	S	33	S	15	S	28	R	39	S	35	S	37	S	23	S	
A21	1	39	S	34	S	29	S	R	R	10	R	26	S	R	R	R	19	I	36	S	32	S	R	R		
	2	37	S	35	S	33	S	R	R	19	I	26	S	R	R	R	R	17	I	36	S	30	S	R	R	
A23	1	15	I	30	S	8	R	R	R	R	R	39	S	8	R	19	R	R	R	26	S	39	S	25	S	
	2	19	S	9	R	10	R	R	R	R	R	8	R	R	R	8	R	10	R	27	S	42	S	26	S	

## **Apêndice J – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de ECP isolados na coleta 4**

## **Apêndice K – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de *Klebsiella* spp e *E. coli* isolados na coleta 1**

**Apêndice L – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de *Klebsiella* spp e *E. coli* isolados na coleta 2**

	<i>Klebsiella; E. coli</i>		AMC		CRX		CIP		CFL		SUT		AMP		MER		AMI		CAZ		CPM		GEN		CFO	
	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1	V1
PONTO AMOSTRAL	PRODUÇÃO																									
	A01	1 K	20	S	23	S	30	S	21	S	21	S	9	R	21	I	24	S	28	S	34	S	22	S	22	S
		2 K	R	R	23	S	40	S	12	R	31	S	12	R	20	I	25	S	27	S	30	S	23	S	11	R
		4 K	21	S	26	S	37	S	24	S	31	S	11	R	22	I	25	S	28	S	32	S	23	S	28	S
	A02	5 K	17	I	24	S	33	S	22	S	29	S	9	R	20	I	25	S	25	S	29	S	24	S	23	S
		6 K	19	S	21	S	34	S	17	I	30	S	R	R	22	I	27	S	30	S	35	S	25	S	28	S
	A03	1 K	R	R	20	S	40	S	15	I	30	S	R	R	18	R	25	S	27	S	31	S	23	S	15	I
		2 K	23	S	30	S	35	S	30	S	30	S	18	S	22	I	25	S	30	S	35	S	25	S	29	S
		3 E	25	S	28	S	35	S	20	S	30	S	25	S	10	R	27	S	29	S	31	S	25	S	25	S
	A04	1 K	R	R	18	S	30	S	R	R	30	S	9	R	15	R	25	S	13	R	32	S	23	S	R	R
		2 K	R	R	21	S	30	S	8	R	30	S	8	R	20	I	25	S	25	S	31	S	25	S	R	R
		3 K	R	R	22	S	33	S	8	R	31	S	8	R	20	I	25	S	28	S	31	S	23	S	R	R
	A05	1 K	15	I	21	S	32	S	14	R	26	S	R	R	20	I	25	S	27	S	32	S	21	S	26	S
		2 K	32	S	27	S	40	S	13	R	37	S	27	S	25	S	40	S	40	S	40	S	40	S	35	S
		3 K	22	S	28	S	33	S	22	S	30	S	11	R	27	S	25	S	30	S	34	S	23	S	27	S
		4 K	29	S	28	S	40	S	12	R	40	S	30	S	26	S	40	S	35	S	40	S	40	S	33	S
		5 K	25	S	26	S	40	S	13	R	40	S	25	S	21	I	40	S	45	S	45	S	40	S	31	S
	A06	1 K	29	S	25	S	42	S	30	S	33	S	22	S	25	S	30	S	32	S	35	S	27	S	23	S
		2 K	30	S	21	S	35	S	30	S	32	S	19	S	22	I	30	S	32	S	35	S	30	S	25	S
		3 K	28	S	26	S	35	S	27	S	27	S	20	S	23	S	28	S	30	S	38	S	26	S	23	S
	A07	1 K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		2 K	28	S	22	S	35	S	21	S	30	S	22	S	22	I	26	S	32	S	35	S	22	S	30	S
		3 K	10	R	25	S	40	S	10	R	31	S	20	S	23	S	25	S	31	S	33	S	23	S	7	R
	A08	1 K	10	R	14	R	33	S	17	I	32	S	15	I	24	S	28	S	29	S	33	S	24	S	10	R
		2 K	10	R	22	S	33	S	17	I	30	S	16	I	23	S	25	S	27	S	34	S	26	S	10	R
		3 K	21	S	27	S	34	S	25	S	26	S	9	R	20	I	23	S	27	S	35	S	25	S	28	S
		4 K	20	S	26	S	32	S	24	S	30	S	10	R	24	S	25	S	31	S	35	S	24	S	29	S
	A09	1 E	28	S	31	S	40	S	29	S	35	S	30	S	22	I	27	S	33	S	35	S	25	S	30	S
		2 E	30	S	30	S	42	S	31	S	33	S	32	S	24	S	22	S	35	S	40	S	21	S	30	S
		3 K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	A10	1 K	30	S	35	S	40	S	30	S	35	S	28	S	25	S	40	S	38	S	40	S	40	S	40	S
		2 K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		3 K	22	S	25	S	40	S	14	R	40	S	19	S	25	S	40	S	30	S	35	S	30	S	25	S
	A13	1 K	21	S	22	S	35	S	20	S	30	S	R	R	21	I	28	S	25	S	30	S	22	S	23	S
	A15	1K	20	S	28	S	35	S	25	S	28	S	10	R	22	I	27	S	31	S	35	S	25	S	30	S

## **Apêndice M – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de *Klebsiella* spp e *E. coli* isolados na coleta 3**

**Apêndice N – Perfil de sensibilidade e resistência a antimicrobianos de *Klebsiella* spp e *E. coli* isolados na coleta 4**

<i>Klebsiella; E. coli</i>		AMC		CRX		CIP		CFL		SUT		AMP		MER		AMI		CAZ		CPM		GEN		CFO		
		V1	V1																							
<b>PONTO AMOSTRAL</b>	<b>PRODUÇÃO</b>	1 K	12	R	21	S	34	S	14	R	31	S	11	R	24	S	26	S	32	S	36	S	26	S	R	R
		2 K	16	I	25	S	35	S	15	I	27	S	10	R	22	I	26	S	30	S	35	S	26	S	10	R
	A01	1 K	R	R	23	S	38	S	R	R	31	S	R	R	20	I	25	S	30	S	36	S	22	S	R	R
		2 E	32	S	33	S	43	S	33	S	33	S	32	S	25	S	30	S	35	S	38	S	28	S	33	S
	A02	1 K	30	S	19	S	S	S	10	R	S	S	12	R	30	S	S	S	36	S	35	S	S	S	30	S
		2 K	33	S	31	S	S	S	18	S	S	S	31	S	31	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
	A03	3 K	25	S	29	S	35	S	29	S	33	S	12	R	25	S	25	S	32	S	36	S	26	S	30	S
		1 K	10	R	23	S	34	S	R	R	28	S	21	S	27	S	25	S	29	S	35	S	25	S	R	R
	A04	2 K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		1 K	23	S	27	S	31	S	28	S	30	S	17	S	25	S	25	S	28	S	33	S	27	S	26	S
	A05	2 K	24	S	28	S	37	S	26	S	37	S	10	R	20	I	28	S	27	S	31	S	23	S	26	S
		3 E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	A06	1 K	27	S	29	S	40	S	26	S	32	S	12	R	23	S	29	S	35	S	40	S	27	S	31	S
		2 K	10	R	25	S	43	S	17	I	35	S	17	I	24	S	28	S	31	S	35	S	25	S	17	I
		3 E	28	S	29	S	40	S	25	S	32	S	27	S	25	S	29	S	29	S	32	S	29	S	30	S
	A07	4 K	24	S	26	S	36	S	24	S	29	S	13	R	25	S	27	S	33	S	37	S	25	S	29	S
		1 K	23	S	27	S	32	S	25	S	32	S	10	R	22	I	25	S	30	S	36	S	28	S	28	S
	A08	2 K	17	I	27	S	36	S	14	R	33	S	14	I	22	I	35	S	30	S	37	S	24	S	16	I
		1 K	14	I	27	S	38	S	18	S	35	S	13	R	25	S	28	S	30	S	37	S	26	S	12	R
		2 K	11	R	27	S	32	S	15	I	29	S	12	R	20	I	26	S	29	S	37	S	27	S	9	R
	A09	1 K	15	I	28	S	38	S	12	R	22	S	R	R	24	S	25	S	35	S	35	S	25	S	14	R
		2 K	16	I	27	S	35	S	19	S	32	S	21	S	24	S	25	S	26	S	30	S	20	S	15	I
		3 K	18	S	30	S	35	S	19	S	35	S	23	S	25	S	25	S	30	S	35	S	25	S	16	I
		4 K	14	I	27	S	35	S	17	I	34	S	22	S	26	S	25	S	30	S	37	S	23	S	13	R
		5 K	9	R	16	I	40	S	10	R	29	S	R	R	21	I	32	S	30	S	33	S	28	S	21	S
	A10	1 K	25	S	32	S	38	S	29	S	33	S	12	R	25	S	27	S	34	S	40	S	28	S	34	S
		2 K	S	S	S	S	S	S	32	S	S	S	33	S	21	I	S	S	40	S	S	S	S	S	S	
		3 K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4 K	13	R	26	S	35	S	15	I	32	S	18	S	23	S	26	S	29	S	36	S	25	S	14	R
	<b>LACTÁRIO</b>																									
<b>A14</b>	1 K	30	S	29	S	S	S	29	S	30	S	21	S	29	S	32	S	30	S	40	S	28	S	22	S	
		2 K	30	S	25	S	35	S	27	S	32	S	20	S	25	S	30	S	32	S	36	S	25	S	22	S
		3 K	30	S	30	S	S	S	30	S	35	S	17	S	27	S	31	S	30	S	40	S	30	S	25	S
	A20	1 K	S	S	12	R	S	S	10	R	34	S	9	R	30	S	32	S	28	S	S	S	S	S	S	
		2 K	S	S	13	R	S	S	R	R	35	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
<b>A21</b>	1 K	28	S	27	S	38	S	29	S	33	S	13	R	24	S	26	S	29	S	35	S	25	S	28	S	
	A23	1 K	28	S	31	S	39	S	30	S	33	S	13	R	24	S	25	S	29	S	37	S	26	S	28	S
		2 K	30	S	29	S	38	S	30	S	34	S	16	I	25	S	29	S	31	S	37	S	27	S	28	S
		3 K	27	S	28	S	35	S	28	S	32	S	14	I	23	S	26	S	30	S	36	S	25	S	27	S
		4 K	25	S	28	S	34	S	21	S	31	S	13	R	23	S	26	S	29	S	35	S	23	S	23	S

## **Anexos**

**ANEXO 01 – Documento de aprovação do projeto no comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE MEDICINA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

---

OF. 17/11

Pelotas, 30 de março de 2011.

Ilma.Sr<sup>a</sup>  
Elizabeth Helbig

*Projeto: Detecção, teste de resistência e sensibilidade a antibióticos de Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella sp. E Pseudomonas spp isolados em linhas de produção de alimentos em um hospital*

Prezada Pesquisadora;

Vimos, por meio deste, informá-lo que o projeto supracitado foi analisado e **APROVADO** por esse Comitê, quanto às questões éticas e metodológicas, de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

*Patrícia Abrantes Duval*  
Patrícia Abrantes Duval  
Coordenadora do CEP/FAMED/UFPEL



**ANEXO 02 - Termo de autorização do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Júnior para realização da pesquisa**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE NUTRIÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



Pelotas, 17 de janeiro de 2011.

Ao  
*Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Júnior*

Prezados Dr. Romeu Sobrinho e Dra. Juliana Bezerra

Vimos por meio desta solicitar autorização para realização de uma pesquisa intitulada: **Detecção, teste de resistência e sensibilidade a antibióticos de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. e *Pseudomonas* spp isolados em linhas de produção de alimentos em um hospital.** Projeto de dissertação da mestranda Eliza Marques di Primio, aluna do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas / RS, orientada pela Prof. Dra. Elizabete Helbig e co-orientada pelo Prof. Dr. Eliezer Gandra. A referida pesquisa será financiada pelo Programa de Pós-Graduação e pelos pesquisadores responsáveis.

Certos de sua colaboração, desde já agradecemos o apoio.

Atenciosamente

Prof. Dra. Elizabete Helbig

*Eliza M. di Primio*

Nut. Eliza Marques di Primio

Por meio deste instrumento autorizo a execução, neste hospital, do projeto de pesquisa mencionado acima.

*Juliana Bezerra*

Nut. Juliana Bezerra

Supervisora do Núcleo de Nutrição

*Romeu Sobrinho*

Dr. Romeu Sobrinho

Diretor do HU-FURG

## **ANEXO 03. Termo de consentimento livre e esclarecido para manipuladores de alimentos**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Pesquisadores responsáveis: Eliza Marques di Primio, Elizabete Helbig, Eliezer Ávila Gandra.

Instituição: Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos – Faculdade de Nutrição - UFPel

Endereço: Rua Gomes Carneiro, nº 01.

Telefone: (53) 3921.1259

Concordo em participar do estudo “Detecção, teste de resistência e sensibilidade a antibióticos de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. e *Pseudomonas* spp isolados em linhas de produção de alimentos de um hospital”. Sendo que fui informado de que o objetivo geral será “Avaliar a presença de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. e *Pseudomonas* spp, nas linhas de produção de alimentos de um hospital da cidade de Rio Grande/RS, e avaliar resistência e/ou sensibilidade a antibióticos de uso comum dos micro-organismos que forem isolados”.

**COLETA DE MATERIAL:** Fui informado de que a minha participação nesta pesquisa envolverá a coletada de material presente em minhas mãos, para tanto será utilizado a técnica do *swab*, que consiste em esfregaço com algodão umedecido.

**RISCOS E POSSÍVEIS REAÇÕES:** Fui informado de que não existem riscos no estudo.

**BENEFÍCIOS:** Participação em uma pesquisa que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem.

**PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA:** Como já me foi dito, minha participação neste estudo será voluntária e poderei interrompê-la a qualquer momento.

**DESPESAS:** Eu não terei que pagar por nenhum dos procedimentos, nem receberei compensações financeiras.

**CONFIDENCIALIDADE:** Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante todas as etapas do estudo.

**CONSENTIMENTO:** Recebi claras explicações sobre o estudo, todas registradas neste formulário de consentimento. Os investigadores do estudo responderam e responderão, em qualquer etapa do estudo, a todas as minhas perguntas, até a minha completa satisfação. Portanto, estou de acordo em participar do estudo. Este Formulário de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado por mim e arquivado na instituição responsável pela pesquisa.

Nome do participante: \_\_\_\_\_ Identidade: \_\_\_\_\_

ASSINATURA: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DO INVESTIGADOR:** Expliquei a natureza, objetivos, riscos e benefícios deste estudo. Coloquei-me à disposição para perguntas e as respondi em sua totalidade. O participante compreendeu minha explicação e aceitou, sem imposições, assinar este consentimento. Tenho como compromisso utilizar os dados e o material coletado para a publicação de relatórios e artigos científicos referentes a essa pesquisa.

ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL: \_\_\_\_\_