

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais



Dissertação de Mestrado

Viviane Vasconcelos Leite

**COMPARAÇÃO DA ADERÊNCIA DE BACTÉRIAS NAS SUPERFÍCIES DE
POLÍMEROS PRESENTES NOS RESÍDUOS DE SERVIÇO DE SAÚDE
SEGREGADOS E NÃO SEGREGADOS**

**Belo Horizonte
Julho de 2013**

Viviane Vasconcelos Leite

Comparação da aderência de bactérias nas superfícies de polímeros presentes nos resíduos de serviço de saúde segregados e não segregados

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do CEFET-MG, na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na Linha de Pesquisa em Reciclagem de Materiais, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ângela de Mello Ferreira

Coorientadora: Prof^a Dr^a Letícia Helena Januário

Belo Horizonte

Julho de 2013



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

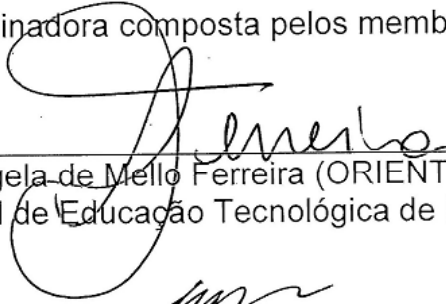
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

“Comparação da aderência de bactérias nas superfícies de polímeros presentes nos resíduos de serviço de saúde.”

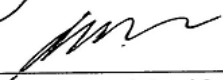
Autor: Viviane Vasconcelos leite

Orientador: Prof^a. Dr^a. Ângela de Mello Ferreira


A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:



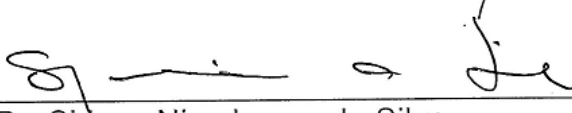
Prof^a. Dra. Ângela de Mello Ferreira (ORIENTADORA)
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais



Prof^a. Dr^a. Letícia Helena Januário (CO-ORIENTADORA)
Universidade Federal de São João - UFSJ



Dr^a. Noil Amorim Meñezes Cusato
Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear - CDTN



Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG

Belo Horizonte, 29 de Julho de 2013.

Aos meus queridos pais, Paulo e Denilce, agradeço pelo amor incondicional, pelo exemplo de dedicação à família, pelo apoio em todas as horas; e por compartilharem comigo os momentos mais felizes!

À minha amada mãe pela presença, sempre, em todas as etapas da minha vida!

Pai, sei que está feliz por mais essa! Posso ouvir a sua voz e ver o seu sorriso!

À Raquel, minha filha muito amada, pela sua existência e por me proporcionar momentos de pura felicidade!

Ao meu amor Luiz, pelo incentivo, pela confiança, pelo companheirismo, pela amizade, por estar ao meu lado, sempre me auxiliando em cada etapa, com amor, dedicação, compreensão e muito carinho. Sem você não teria sido possível!

Aos meus “irmãos”, tios, primos, sobrinhos e família Faria que não me deixam esquecer o verdadeiro sentido de sermos uma “família”!

Dedico a vocês que compartilharam comigo a alegria desta conquista e que se realizam com minha felicidade!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por todas as bênçãos a mim concedidas!

À Prof^a. Dr^a. Ângela de Mello Ferreira pela orientação, pelos ensinamentos, compreensão das minhas limitações e empenho durante toda a realização deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Letícia Helena Januário, minha co-orientadora, pela paciência, pelo incentivo e valiosa colaboração.

Ao Prof. Alexandre Rangel de Souza e Maria Lucienne França Reis Paiva por importantes contribuições na banca de qualificação do projeto.

A todos os professores do Departamento de Materiais, e em especial ao Professor Sidney, que contribuíram para a realização deste trabalho, estando sempre dispostos a ajudar.

À Valéria Moura, minha amiga e colega do mestrado por me indicar o caminho de volta ao CEFET-MG e por compartilhar, principalmente, os momentos de dificuldade.

Aos colegas João Trajano e Hugo Vilaça pela ajuda na realização dos ensaios de caracterização.

Ao Bruno Cordeiro Silva, pela execução das análises de microscopia eletrônica.

Ao CEFET-MG, pela grande influência que tem na minha formação acadêmica e pessoal, onde tive o privilégio de ser aluna por duas vezes.

Aos colaboradores do Laboratório de Polímeros da UFMG pelas análises de ângulo de contato.

À Luciana Pinto e demais funcionários do Centro de Microscopia da UFMG pelo preparo das amostras para o microscopia eletrônica.

À Secretaria Municipal de Saúde e ao Hospital Público Regional de Betim que aceitaram a proposta de realização desta pesquisa.

À Divani Zacaroni, coordenadora do laboratório de microbiologia do Hospital Público Regional de Betim pela realização das análises microbiológicas, pelos ensinamentos e boa vontade em colaborar. Assim como à todos os técnicos do laboratório pela preciosa ajuda.

À Ana Valesca Fernandes pela indicação para o mestrado. Obrigada pela confiança!

Aos funcionárias da Setsys que colaboraram na coleta das amostras de resíduos.

E aos colegas do CTI que “abraçaram a minha causa”.

A todos os amigos e colegas de trabalho do hospital, especialmente da Coordenação de Enfermagem, CTI, ambulatório, CCIH e farmacotécnica pela compreensão e colaboração durante a realização deste trabalho.

Ao Wellington Moisés, da Biomedh, pela paciência em orientar a utilização das placas Petrifilm.

Aos colegas do mestrado, pelo companheirismo, amizade e pelos bons momentos que passamos juntos. Já sinto saudades!

Ao querido André Gustavo pelo exemplo de determinação nas conquistas da área acadêmica.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos! Valeu demais!

“Cada dia a natureza produz o suficiente para nossa carência. Se cada um tomasse o que lhe fosse necessário, não havia pobreza no mundo e ninguém morreria de fome.” (Mahatma Gandhi).

RESUMO

O descarte dos Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) compõe uma importante cadeia de problemas ambientais e de saúde pública. Isto porque há um volume considerável de plásticos presentes nestes resíduos, além do característico perigo de contaminação por microrganismos patogênicos. Ainda há que se considerar o crescente aumento dos gastos financeiros com o gerenciamento destes resíduos, pois, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) orienta o tratamento específico de alguns tipos de RSS como uma etapa anterior à destinação final dos rejeitos. Por outro lado, grande parte do volume destes resíduos é composta por materiais poliméricos potencialmente recicláveis como: o polietileno (PE), polipropileno (PP), poli(cloreto de vinila (PVC), poliuretano (PU) e outros. Esses polímeros são amplamente empregados na fabricação de embalagens de soluções e de materiais médico-hospitalares, tanto de artigos críticos (aqueles usados em procedimentos invasivos) quanto nos artigos que não entram em contato direto com os pacientes. Entretanto, o descarte destes resíduos é feito de forma indiscriminada, no mesmo recipiente de acondicionamento. Plásticos como PP, PE e PVC, em função de suas características, apresentam diferentes possibilidades de aderência de microrganismos às suas superfícies, contudo, a legislação brasileira admite o envase de soluções parenterais em diferentes tipos de polímeros. A comparação da aderência de bactérias na superfície das embalagens de polímeros presentes nos RSS segregados e não segregados trará subsídios para o planejamento de ações envolvidas no seu gerenciamento, vislumbrando a possibilidade de redução do volume de resíduos potencialmente infectantes. Uma vez que, segundo a ANVISA, cerca de 70 a 80% dos RSS, que não apresentam risco, acabam potencialmente contaminados se não houver uma segregação adequada. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da segregação na contaminação microbiológica de resíduos poliméricos, bem como correlacionar as propriedades específicas dos polímeros PE e PP na aderência bacteriana. Assim, comparou-se a aderência de microrganismos na superfície externa das embalagens de soluções parenterais de grande volume (SPGV) fabricadas em PE e PP, de diferentes fabricantes. As amostras foram coletadas no Centro de Terapia Intensiva-1 do Hospital Público Regional de Betim, nas quais realizou-se a caracterização microbiológica das superfícies de embalagens segregadas e não segregadas utilizando-se placas de contato Petrifilm/AC 3M. Nas amostras virgens realizou-se inoculação bacteriana com cepa padrão ATCC de *Staphylococcus aureus* e procedeu-se a contagem dos microrganismos aderidos. A caracterização da superfície de amostras virgens foi realizada utilizando-se as técnicas de: microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), rugosidade e hidrofobicidade. Os resultados mostraram que, no universo de amostras deste estudo, não houve diferença significativa na tendência à aderência bacteriana nas superfícies dos polímeros segregados e não segregados. Já no ensaio de adesão houve diferença significativa de aderência relativa ao tipo de polímero, PE e PP dos fabricantes estudados, pois, percebeu-se uma predileção pelo PP na aderência de *S. aureus* inoculados nas amostras virgens.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos de serviços de saúde, polímeros, aderência de microrganismos.

ABSTRACT

The disposal of Waste in Health Services (RSS) composes an important chain of environmental and public health problems. This happens due to the large amount of plastic present in the waste, besides the risks of contamination by pathogenic microorganisms. It is necessary to consider the increasing financial costs of the management of these kinds of waste because the National Health Surveillance Agency (ANVISA) directs the specific treatment of some types of RSS as a previous step to the final destination of the waste. Moreover, most of the volume is composed of these residues which are potentially recyclable polymeric materials such as polyethylene (PE), polypropylene (PP), poly (vinyl chloride (PVC), polyurethane (PU) and others. Such polymers are widely employed in the manufacturing of package solutions, medical, and hospital supplies used critical items, those used in invasive procedures, and other items that are not used directly in patients. Meanwhile, the disposal of these waste is done indiscriminately in the same container. Plastics like PP, PE and PVC, due to its characteristics, present different possibilities of adherence of microorganisms to their surfaces. However, the Brazilian legislation allows the filling of parenteral solutions on different types of polymers. The comparison on adherence of bacteria on the surface of packaging polymers present in segregated and non-segregated RSS bring support tor plans of action involved in its management envisioning the possibility of reducing the volume of potentially infectious waste. According to ANVISA, about 70-80 % of the RSS, that do not present risks, end up potentially contaminated if there is no proper segregation. This study aimed to evaluate the effect of segregation on the microbiological contamination of polymeric waste, as well as correlate the specific properties of polymers and PE PP on bacterial adherence. Therefore, there was a comparison of the adhesion of microorganisms on the surface of the outer packaging of large volume parenteral solutions (LVPS) made of PE and PP from different manufacturers. Samples were collected from the Intensive Care Unit-1 at the Public Hospital in Betim Region. Microbial characterization was made on the surfaces of these samples collected from segregated and non-segregated packaging by using contact plates Petrifilm/AC 3M. It was performed the bacterial inoculation on virgin samples by using the standard strain of *Staphylococcus aureus* ATCC and the counting of the adhered microorganisms. The characterization of the surface of virgin samples was performed by using the following techniques: Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, roughness and hydrophobicity. The results showed that, in the universe of samples of this study, no significant differences in the tendency to bacterial adhesion on surfaces of segregated and non-segregated polymers. On the other hand, in the adhesion experiment there was significant difference concerning the related adhesion on the polymer type by the PE and PP manufacturers studied. It was noticed a prece for PP in *S. aureus* adherence inoculated in virgin samples.

KEY WORDS: Healthcare solid waste, polymers, adhesion of microorganisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Composição percentual dos materiais que compõem o resíduo sólido urbano	23
Figura 2 -	Distribuição média dos plásticos encontrados no total deste resíduo disposto como resíduos sólidos urbanos.....	24
Figura 3 -	Representação do monômero do polietileno.....	38
Figura 4 -	Embalagem de SPGV em PE do fabricante X.....	40
Figura 5 -	Representação do monômero do propileno.....	42
Figura 6 -	Gráfico de consumo de PP no Brasil em 2007.....	43
Figura 7 -	Embalagens de SPGV em bolsas de PP.....	44
Figura 8 -	Espectro de FTIR do PE e PP.....	46
Figura 9 -	Desenho esquemático de representação de ângulos de contato.....	49
Figura 10 -	Representação esquemática das interações do mecanismo de adesão bacteriana a um substrato sólido.....	62
Figura 11 -	Placa Petrifilm/AC 3M com colônias coradas.....	65
Figura 12 -	Bacilos em divisão com numerosas fímbrias (apêndices mais curtos) e alguns poucos flagelos (apêndices mais longos), em 12.500x	67
Figura 13 -	Fotografia de <i>S. aureus</i> visto ao microscópio ótico	72
Figura 14 -	Teste de susceptibilidade utilizando método de disco-difusão de <i>Kirby Bauer</i>	74
Figura 15 -	Fluxograma do desenvolvimento do estudo	76
Figura 16 -	Recipientes de acondicionamento de resíduos: azul para amostras segregadas e branco para amostras não segregadas	79
Figura 17 -	Fotografia da coleta de amostras segregadas	80
Figura 18 -	Fotografia do preparo das placas Petrifilm/AC	83
Figura 19 -	Placas Petrifilm/AC para contagem de colônias	84
Figura 20 -	Fluxograma de identificação dos microrganismos	85
Figura 21 -	Placas com ágar sangue (escuras) e ágar Mac Conkey (claras)	86
Figura 22 -	Quadro: Antibióticos testados em cada microrganismo	88
Figura 23 -	Goniômetro Digitop - UFMG: Ponto A/Computador; ponto	

	B/Dispositivo de ejeção da gota de água; ponto C/Suporte para a amostra; ponto D/Agulha de gotejamento; ponto E/Câmera fotográfica	90
Figura 24 -	Bico gotejador do goniômetro Digitop - UFMG	91
Figura 25 -	Rugosímetro – LCM/CEFET-MG	92
Figura 26	Microscópio de Varredura Eletrônica - LCM/ CEFET-MG	93
Figura 27 -	Espectros de FTIR das amostras PEX, PEY e PPY	94
Figura 28 -	Gota de água sobre as superfícies dos polímeros PPY(a), PEX(b) e PEY(c)	95
Figura 29 -	Micrografias das amostras de polímeros virgens (PEY, PEX e PPY) em aumentos de 100 e 300x	97
Figura 30 -	Gráfico da contagem de colônias nas placas de cultura da superfície das amostras segregadas e não segregadas	100
Figura 31 -	Placas Petrifilm/AC: (a) n° incontável de colônias, (b) 5 colônias e (c) 142 colônias	101
Figura 32 -	Tipos e percentual (%) de microrganismos no total de amostras coletadas	101
Figura 33 -	Microrganismos presentes nos resíduos segregados e não segregados	102
Figura 34-	Contagem de <i>S aureus</i> inoculados em amostras virgens de embalagens de PP e PE, em UFC/20Cm ² : amostra(a) com diluição de 1:10 e amostra(b) com diluição 1:50ml	105
Figura 35 -	Placas de cultura com controle positivo (a) e controle negativo (b)	107
Figura 36 -	Micrografias das amostras dos polímeros inoculadas com <i>S. aureus</i> (3000x e 5000x)	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estimativa da composição gravimétrica dos resíduos sólidos urbanos coletados no Brasil, em 2008	24
Tabela 2 - SPGV disponíveis no mercado brasileiro	33
Tabela 3 - Tempo de sobrevivência de alguns microrganismos no solo e nos RSS.	57
Tabela 4 - Quantidade de microrganismos encontradas em resíduos domiciliares e hospitalares de acordo com autores	58
Tabela 5 - Medidas de ângulo de contato	95
Tabela 6 - Medidas de rugosidade Ra e Ry das amostras PPY, PEX e PEY	96
Tabela 7 - Amostras de embalagens coletadas para cultura microbiológica	99
Tabela 8 - Resultados de TSA para as amostras segregadas e não segregadas	103
Tabela 9 - Número de UFC/20cm ² em amostras virgens em diluições de 1:10 e 1:50ml, média da contagem de bactérias e percentual de crescimento de colônias por tipo de material	106
Tabela 10 Propriedades dos polímeros avaliados e contagem de colônias	109

-

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIPLAST	- Associação Brasileira da Indústria do Plástico
ABIQUIM	- Associação Brasileira da Indústria Química
ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRELPE	- Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	- <i>Association of Official Agriculture Chemists</i>
ATCC	- <i>American Type Culture Collection</i>
atm	- Atmosfera
BGN	- Bastonetes Gram-Negativos
BPFM	- Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos
CAN	- Consumo Aparente Nacional
CGP	- Cocos Gram-Positivos
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
CISMEP	- Consórcio Intermunicipal de Saúde do Médio Paraopeba
CLSI	- <i>Clinical and laboratory standards institute</i>
cm	- Centímetro
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTI	- Centro de Terapia Intensiva
ESBL	- Beta Lactamase de Espectro Estendido
EVA	- Etileno Acetato de Vinila)
FTIR	- Espectroscopia de Absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier
HPRB	- Hospital Público Regional de Betim
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICI	- <i>Imperial Chemical Industrial</i>
IDH	- Índice de Desenvolvimento Humano
IV	- Infravermelho
Kg	- Quilograma
Km	-quilômetro
m ²	- Metro quadrado

MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
ml	- Mililitro
MMA	- Ministério do Meio Ambiente
NBR	- Norma Brasileira Regulamentadora
nm	- Nanômetro
OPAS	- Organização Pan-Americana da Saúde
PE	- Polietileno
PEAD	- Polietileno de alta densidade
PEBD	- Polietileno de baixa densidade
PELBD	- Polietileno linear de baixa densidade
PET	- Poli(tereftalato de etileno)
PEUAPM	- Polietileno de ultra alto peso molecular
PEUBD	- Polietileno de ultra baixo peso molecular
pH	- Potencial hidrogeniônico
PMMA	- Poli(metacrilato de metila)
PNRS	- Política Nacional de Resíduos Sólidos
PNUD	- Programa das Nações Unidas para Desenvolvimento
PP	- Polipropileno
PROSAB	- Programa de Pesquisa em Saneamento Básico
PU	- Poliuretano
PVC	- Poli(cloreto de vinila)
RDC	- Resolução de Diretoria Colegiada
RSS	- Resíduos de Serviços de Saúde
SCN	- <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
SLU	- Serviço de Limpeza Urbana
SPE	- Substâncias poliméricas extracelulares
SPGV	- Solução Parenteral de Grande Volume
t	- Tonelada
TSA	- Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos
TTC	- 2,3,5 cloreto de trifetil tetrazolim
UAI	- Unidade de Atendimento Imediato
UFC	- Unidade Formadora de Colônia
UV	- Ultravioleta
OMS	- Organização Mundial de Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

%	percentual
<	menor
>	maior
°C	graus Celsius
Au	ouro
g/cm ³	gramas por centímetro cúbico
p/v	peso por volume
Pd	paládio
Pt	platina
θ	ângulo
μm	micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	211
2.1 GERAL	211
2.2 ESPECÍFICOS	211
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	222
3.1 RESÍDUOS SÓLIDOS	222
3.1.1 Resíduos Plásticos	233
3.1.2 Resíduos dos Serviços de Saúde	255
3.1.3 Plásticos presentes no RSS	312
3.1.4 Hospital Regional de Betim	344
3.2 PLÁSTICOS	355
3.2.1 Polietileno	3737
3.2.1.1 Breve histórico.....	3737
3.2.1.2 Características e propriedades do PE	38
3.2.1.3 Aplicações do polietileno	40
3.2.2 Polipropileno	411
3.2.2.1 Breve histórico.....	4141
3.2.2.2 Características e Propriedades do PP.....	4141
3.2.2.3 Aplicações do PP	43
3.3 PROPRIEDADES DE SUPERFÍCIES DOS MATERIAIS E ADERÊNCIA BACTERIANA	444
3.3.1 Composição química	455
3.3.2 Molhabilidade	466
3.3.3 Rugosidade	4949
3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	511
3.4 OUTROS FATORES QUE INFLUENCIAM A ADERÊNCIA NAS SUPERFÍCIES	522
3.5 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS	533
3.5.1 Microrganismos patogênicos e o resíduo sólido hospitalar	555
3.5.2 Aderência de microrganismos na superfície de materiais	5959
3.5.3 Análise da aderência	633
3.5.4 Propriedades das superfícies da célula bacteriana	666

3.5.4.1	Flagelos.....	6767
3.5.4.2	Fímbrias	6868
3.5.4.3	Polissacarídeos de superfície (LPS)	6868
3.5.4.4	Hidrofobicidade e hidrofiliçidade.....	6969
3.5.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	7171
3.5.6	Susceptibilidade a antimicrobianos	722
4	MATERIAIS E MÉTODOS	766
4.1	FLUXOGRAMA METODOLÓGICO	766
4.2	LOCAL DO ESTUDO	7777
4.3	SELEÇÃO DE AMOSTRAS	7777
4.4	COLETA DE AMOSTRAS	7777
4.4.1	Período de coleta de dados	7878
4.4.2	Procedimento técnico para coleta e preparação das amostras de resíduos	7878
4.4.3	Preparação das amostras para os ensaios de aderência dos microrganismos	800
4.4.4	Ensaio de aderência dos microrganismos nas embalagens virgens	811
4.5	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	822
4.5.1	Preparo das placas de contato	822
4.5.2	Cultura de microrganismos mesófilos aeróbios	833
4.5.3	Identificação dos microrganismos	844
4.5.4	Testes bioquímicos e fisiológicos:	866
4.5.5	Testes de Susceptibilidade aos Antimicrobianos (TSA)	8787
4.5.6	Análise da aderência de bactérias	88
4.6	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS POLIMÉRICOS	89
4.6.1	Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	89
4.6.2	Medida de ângulo de contato	90
4.6.3	Rugosidade	91
4.6.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	92
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	94
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS	94
5.1.1	Ângulo de contato	95
5.1.2	Rugosidade	96

5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	99
5.2.1 Inoculação das amostras de polietileno (PE) e polipropileno (PP).....	105
5.3 RELAÇÃO ENTRE ADERÊNCIA MICROBIOLÓGICA E AS CARACTERÍSTICAS DOS POLÍMEROS	107
6 CONCLUSÃO	110
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	1121
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	1132
APÊNDICE – A	126127
APÊNDICE – B	127128
ANEXO - 1	12829
ANEXO - 2	1312
ANEXO - 3	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.3
ANEXO - 4	1328
ANEXO - 5	137

1 INTRODUÇÃO

A reciclagem e o reaproveitamento de materiais nos diversos setores da indústria e de prestação de serviços mostram-se como processos imprescindíveis à sustentabilidade. Esta necessidade imperativa de reaproveitamento e reutilização chega também aos serviços de saúde, onde processos desta natureza poderiam poupar o planeta da extração de novos recursos e reduzir o volume de resíduos que se acumulam nos aterros sanitários ou são despejados a céu aberto. O descarte dos Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) compõe uma importante cadeia de problemas ambientais e de saúde pública. Isto porque há um volume considerável de plásticos presentes nesses resíduos, além do específico perigo de contaminação por microrganismos patogênicos. Ainda há que se considerar o crescente aumento dos gastos financeiros, principalmente do setor público, com o gerenciamento destes resíduos.

A ANVISA, de acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 306, de 07 de dezembro de 2004, que trata sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, define RSS como resíduos gerados por prestadores de assistência à saúde. Dessa forma, incluem-se os resíduos gerados por todos os hospitais, centros de saúde, serviços de assistência domiciliar, serviços móveis de atendimento à saúde, clínicas odontológicas, consultórios médicos com procedimentos específicos, laboratórios, drogarias e farmácias inclusive as de manipulação, serviços de apoio diagnósticos, clínicas veterinárias e instituições de ensino e pesquisa relacionadas à saúde humana e veterinária, serviços de medicina legal, necrotérios, funerárias, serviços de embalsamamento e ainda serviços de acupuntura e tatuagem. A ANVISA classifica os RSS quanto às características físicas, químicas, biológicas e os subdivide, inclusive, conforme o perigo de propagação de infecções. A ANVISA também orienta o tratamento específico de alguns tipos de RSS, como uma etapa anterior à destinação final dos rejeitos. Assim, os resíduos potencialmente infectantes dos subgrupos A1, A2 e A5 devem passar por uma “descontaminação” na instituição geradora ou em algum serviço especializado, para que os mesmos possam ser descartados finalmente.

Por outro lado, grande parte do volume dos RSS é composta por materiais potencialmente recicláveis como o poli(tereftalato de etileno) (PET), polietileno (PE), polipropileno (PP), Poli (cloreto de vinila) (PVC) e poliuretano (PU). Estes materiais estão presentes nas embalagens dos artigos médico-hospitalares, na composição do próprio artigo ou equipamento a ser utilizado nos procedimentos profissionais (por exemplo, no canhão das agulhas hipodérmicas e no cateter de punção venosa periférica de curta duração), bem como nos recipientes utilizados para o envase de soluções parenterais de grande volume (SPGV)¹ (por exemplo, solução salina 0,9%, soro glicosado e ringer lactato). Estes tipos de plásticos são amplamente empregados nos materiais médico-hospitalares, tanto em artigos de pequeno volume quanto em artigos maiores, aumentando a quantidade desses resíduos. Também são utilizados tanto na fabricação de artigos críticos (aqueles usados em procedimentos invasivos) quanto nos artigos que não entram em contato direto com os pacientes. Entretanto, o descarte deste tipo de resíduo é feito de forma indiscriminada, no mesmo recipiente de acondicionamento onde também são descartados resíduos com presença de secreções² e excreções³ dos pacientes.

Plásticos como o PP e PE, em função de suas características, apresentam diferentes possibilidades de aderência de microrganismos às suas superfícies. A aderência de microrganismos, especialmente de bactérias patogênicas, às superfícies de resíduos sólidos aumenta de forma considerável o risco de danos à saúde e ao meio ambiente. Contudo, a legislação brasileira admite o envase de soluções parenterais em diferentes tipos de materiais, não considerando a viabilidade da aderência microbiológica quando do descarte desse material (BRASIL, 2010).

¹ Solução estéril e apirogênica, destinada à aplicação parenteral em dose única, cujo volume é de 100mL ou superior. Estão incluídas nesta definição as soluções para irrigação e soluções para diálise peritoneal; (BRASIL, 2010b).

² Processo de produzir substância(s) por secreção e elaboração, e liberá-las dentro ou fora do organismo (FERREIRA, 2010).

³ Eliminação, do corpo, de qualquer substância ou matéria (FERREIRA, 2010).

A comparação da aderência de bactérias nas superfícies de polímeros presentes nos resíduos de serviço de saúde segregados e não segregados trará subsídios para o planejamento de ações envolvidas no gerenciamento de RSS, vislumbrando a possibilidade de redução do volume de resíduos potencialmente infectantes. Cabe ressaltar que, segundo a ANVISA (2006), cerca de 70 a 80% dos resíduos gerados em serviços de saúde, acabam potencialmente contaminados por não haver uma segregação adequada.

A discussão sobre segregação e reciclagem de RSS é ampla e complexa, pois, aborda diferentes perspectivas sociais como: o risco à saúde da população, a preservação do meio ambiente, além das questões econômicas relacionadas à produção industrial e ao gasto com a destinação correta. As pesquisas científicas relacionadas a este tema ainda são poucas, assim, a realização de novos estudos torna-se imprescindível para subsidiar os órgãos governamentais e técnicos na definição de estratégias eficazes no manejo dos RSS.

Este trabalho propõe comparar a aderência de microrganismos na superfície dos resíduos segregados e não segregados no momento da sua geração, visando à avaliação dos riscos associados à reciclagem.

Alguns estudos têm se dedicado à busca de respostas quanto à interação dos microrganismos com os resíduos de saúde. Há alguns anos atrás Rutala (1989), Morel e Bertussi Filho (1997), e mais recentemente, Nascimento et al. (2009) encontraram bactérias viáveis nos resíduos de serviços de saúde as quais representam riscos à saúde humana e animal. Entretanto, Rutala (1989) e Zanon (1990) descrevem não haver fatos que comprovem que o resíduo hospitalar seja mais contaminado que o resíduo doméstico e que possa causar doença. Esses autores fazem excessão aos resíduos perfurocortantes e as culturas microbiológicas, pois, o risco de contaminação pelo manuseio desses resíduos é alto, em qualquer que seja a etapa do seu manejo. A existência de dúvidas relacionadas ao risco de contaminação por RSS torna mais evidente a necessidade de se colaborar com o esclarecimento de questionamentos a respeito da presença de microrganismos nos RSS.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Comparar a aderência de microrganismos nas superfícies de polietileno e polipropileno das embalagens de soluções parenterais de grande volume (SPGV) geradas, segregadas e não segregadas, no Centro de Terapia Intensiva-1 do Hospital Público Regional de Betim.

2.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Correlacionar a aderência de microrganismos com as propriedades de rugosidade e hidrofobicidade, nas superfícies das embalagens de PE e PP.
- ✓ Identificar microrganismos de importância epidemiológica, possivelmente presentes no RSS.
- ✓ Avaliar o perfil de resistência antimicrobiana das principais bactérias encontradas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 RESÍDUOS SÓLIDOS

O lixo, anteriormente, era definido como todo e qualquer resíduo sólido proveniente das atividades humanas. Desde o final da década de 90, Bidone e Povinelli (1999) definiram lixo como: “aquilo que ninguém quer ou não tem valor comercial”. Em 2010, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) instituída pela lei nº 12.305 (BRASIL, 2010a) faz distinção entre resíduo (lixo que pode ser reaproveitado ou reciclado) e rejeito (o que não é passível de reaproveitamento). Assim, essa opinião sobre “lixo” torna-o um conceito relativo, pois, o que é considerado lixo para alguém pode não sê-lo para outra pessoa se puder ser transformado em um novo produto ou utilizado em um novo processo; gerar lucro, empregos e evitar desperdício de recursos naturais. Assim, deve-se avaliar continuamente o que deve ou não ser descartado.

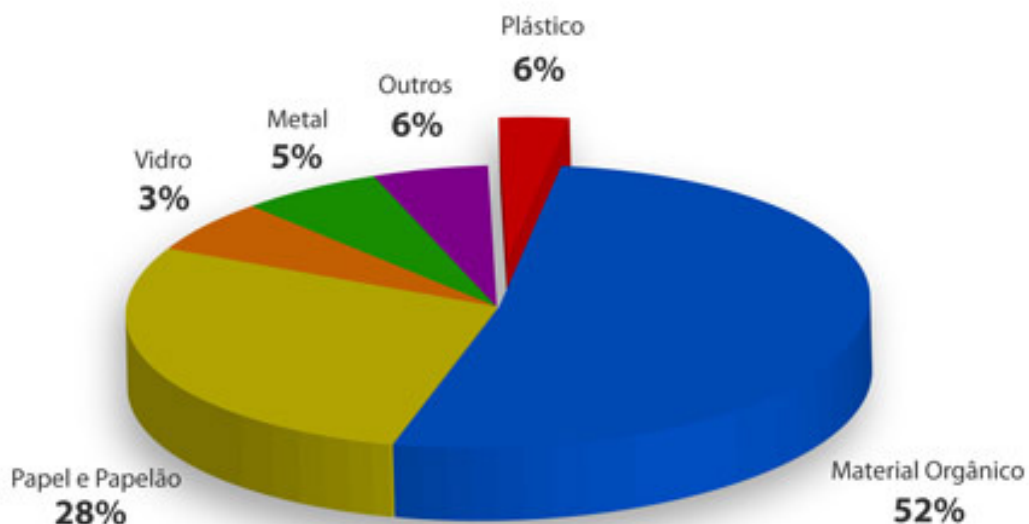
A idéia do reaproveitamento traz uma reflexão sobre o conceito clássico de lixo, como se ele pudesse ser classificado como tal, somente quando não lhe for atribuída nenhuma nova função ao que anteriormente fora considerado inútil. É importante serem feitas considerações sobre os resíduos para que a idéia de coisa suja e inútil possa abrir espaço para uma nova filosofia de gestão de resíduos sólidos, abalizada pela PNRS quando recomenda ações que reduzam a quantidade de resíduos e que melhorem a gestão da parcela que é gerada de maneira econômica e ambientalmente sustentável.

A transformação de ordem social e econômica que vem acontecendo no Brasil nas últimas décadas, tem acarretado em uma modificação importante na composição de resíduos gerados no país, assim como um aumento considerável de seu volume, como reflexo do crescimento demográfico. De acordo com o levantamento feito pela Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE, 2011), a média da quantidade de resíduos gerados por pessoa no país em 2010 foi de 378 quilos (kg), um montante 5,3% superior ao de 2009 (359 kg), chegando a um montante de 60,8 milhões de toneladas ao longo do ano.

3.1.1 Resíduos plásticos

A quantidade de resíduos plásticos no Brasil pode parecer pequena, frente ao total de resíduos, mas traz consigo alguns aspectos negativos como o seu volume aparente ou o chamado “lixo visual” e o tempo que este tipo de resíduo necessita para se decompor. Na fração que corresponde a 6% em peso, de materiais plásticos encontrados nos resíduos sólidos urbanos (FIGURA 1), estima-se que 37% sejam de PE, 21% de PET, 14% de PVC, e 10% de PP.

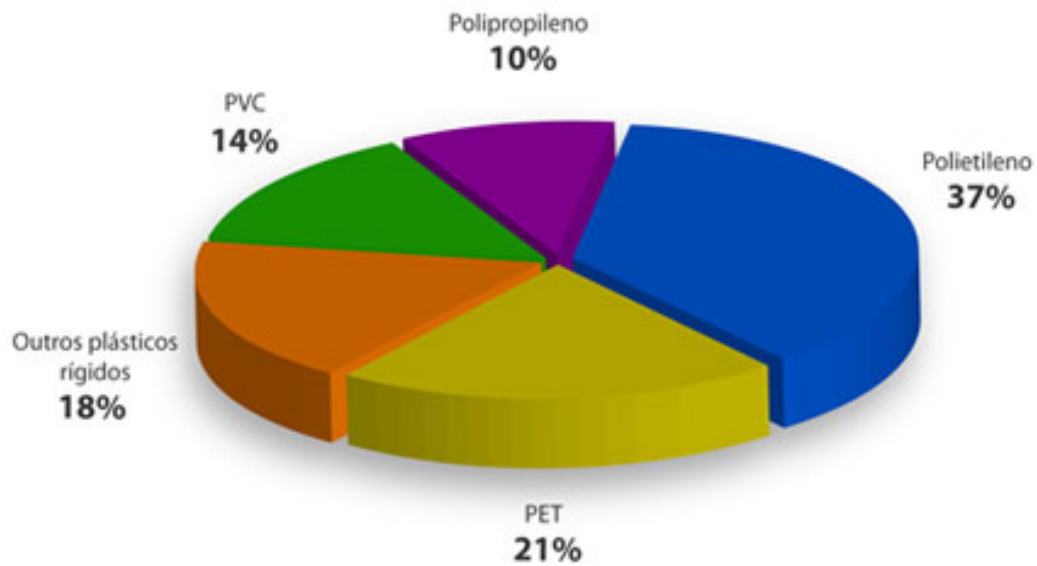
Figura 1 – Composição percentual dos materiais que compõem o resíduo sólido urbano.



Fonte: (WIEBECK & PIVA, 1999).

Assim, o PE e o PP tem uma presença de cerca de 2,2% e 0,6%, respectivamente, no resíduo sólido urbano, sendo 18% a porcentagem das outras resinas, como pode ser visto na figura 2 (WIEBECK & PIVA, 1999).

Figura 2 - Distribuição média dos plásticos encontrados no total deste resíduo disposto como resíduos sólidos urbanos.



Fonte: (PIVA & WIEBECK, 1999).

Informações mais recentes sobre a composição gravimétrica dos resíduos sólidos no Brasil são mostradas pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA) no Plano Nacional de Resíduos Sólidos de 2011. A tabela 1 expõe uma estimativa da composição dos resíduos sólidos urbanos coletados no Brasil, em 2008. Esses dados são provenientes de 93 estudos de caracterização física de resíduos, realizados entre 1995 e 2008. Observa-se que a parcela de plásticos aumentou consideravelmente neste período, quando comparado ao estudo realizado por Wiebeck e Piva em 1999.

Tabela 1 - Estimativa da composição gravimétrica dos resíduos sólidos coletados no Brasil, em 2008.

Resíduos	Participação %	Quantidade (t/dia)
Material reciclável	31,9	58.527,40
Aço	2,3	4.213,70
Alumínio	0,6	1.079,90
Papel, papelão e tetrapack	13,1	23.997,40
Plástico rígido	4,6	8.448,30
Plástico filme	8,9	16.399,60
Vidro	2,4	4.388,60
Matéria orgânica	51,4	94.335,10
Outros	16,7	30.618,90
Total	100,0	183.481,50

Fonte: adaptado de Brasil, 2011.

O exemplo citado no artigo publicado por Wiebeck e Piva, em 1999, aborda sobre a geração de resíduos sólidos na cidade de São Paulo, de cerca de 15 mil toneladas/dia. Deste montante, possivelmente, mais de 700 toneladas eram constituídas por embalagens plásticas descartáveis, fabricadas em diversos tipos de materiais poliméricos. Dentre elas, as que mais participam de nosso cotidiano são: o PET; o polietileno de baixa ou alta densidade - PEBD e PEAD, respectivamente; o PVC; o PP e o poliestireno - PS (WIEBECK & PIVA, 1999).

Considerando que o processo de decomposição natural dos polímeros é longo e crítico ao equilíbrio ecológico (WIEBECK & PIVA, 2004), pode-se compreender que o volume de resíduos plásticos, mesmo que pequeno diante dos outros tipos de resíduos, torna-se significativo sob a ótica ambiental. Assim, a PNRS define que embalagens deverão ser fabricadas com materiais que propiciem a sua reutilização ou reciclagem. Assim, incumbe-se aos respectivos fabricantes em assegurar que as mesmas sejam projetadas de forma a serem reutilizadas de maneira tecnicamente viável e compatível com tais exigências.

De acordo com Cândido et al. (2009) a dificuldade de reciclagem e reutilização dos plásticos reside, principalmente, no fato de que, geralmente, encontram-se contaminados e/ou misturados. Assim, os recicladores procuram adquirir a matéria-prima previamente segregada, optando pelos resíduos provenientes de empresas que praticam a coleta seletiva.

3.1.2 Resíduos dos serviços de saúde

Os RSS são resíduos gerados por prestadores de assistência à saúde: profissionais médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, odontólogos, veterinários e também pelos laboratórios, farmácias e instituições de ensino e pesquisa relacionadas à população humana e veterinária.

A ANVISA, de acordo da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 306, de 07 de dezembro de 2004, que dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, define RSS como todos aqueles resultantes de

atividades exercidas nos serviços relacionados com o atendimento à saúde humana ou animal que, por suas características, necessitam de processos diferenciados em seu manejo, exigindo ou não tratamento prévio à sua destinação final. Dentre estes, os resíduos infectantes são definidos como apenas uma parcela dos RSS, os quais podem transmitir doenças infecciosas, e por isto não podem ser reciclados, reutilizados ou reaproveitados, inclusive para alimentação animal (BRASIL, 2004).

Na última década, a legislação brasileira relacionada às questões ambientais passou por grande avanço, exigindo um maior comprometimento com a preservação ambiental por parte dos estabelecimentos hospitalares e também da sociedade em geral. De acordo com a RDC da ANVISA nº 306/2004 e com o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), pela resolução nº 358 de 29 de abril de 2005, as quais tratam de RSS, algumas medidas devem ser adotadas nas unidades geradoras deste tipo de resíduo com o objetivo de minimizar a sua geração e viabilizar o manejo adequado (BRASIL, 2005). Uma das medidas recomendada é a segregação do material descartado no momento da sua geração, o que favorece a redução do volume de resíduos que necessitam manejo e/ou tratamento diferenciado. Além disso, aumentando a quantidade de produto viável para reciclagem diminuiriam-se custos com tratamento e gerenciamento. A conduta de segregação é recomendada, também, pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 1997), que enumera como algumas vantagens da segregação: a redução dos riscos para a saúde e o ambiente, impedindo que as pequenas frações de resíduos perigosos contaminem os outros resíduos; a diminuição de gastos, já que apenas uma parcela dos resíduos deve receber tratamento especial; e a recuperação de alguns materiais para reciclagem. Entretanto, os serviços de saúde ainda encontram dificuldades na implementação das medidas adequadas.

A ANVISA, na RDC nº 306/2004 apresenta, em seu apêndice I, uma classificação dos resíduos em cinco grupos (ANEXO 1), especifica cada os tipos de resíduos que compõe cada grupo e subgrupo e define como deve ser o gerenciamento desde o momento da sua geração até destinação final. Esses resíduos são classificados em: grupos A, B, C, D, E e subgrupos A1, A2, A3, A4 e A5:

GRUPO A - Resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características, podem apresentar risco de infecção.

A1

1. culturas e estoques de microrganismos; resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os hemoderivados; descarte de vacinas de microrganismos vivos ou atenuados; meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de manipulação genética;
2. resíduos resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação biológica por agentes classe de risco 4⁴, microrganismos com relevância epidemiológica e risco de disseminação ou causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido;
3. bolsas transfusionais contendo sangue ou hemocomponentes rejeitadas por contaminação ou por má conservação, ou com prazo de validade vencido, e aquelas oriundas de coleta incompleta;
4. sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, contendo sangue ou líquidos corpóreos na forma livre.

b) A2

1. carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais submetidos a processos de experimentação com inoculação de microrganismos, bem como suas forrações, e os cadáveres de animais suspeitos de serem portadores de microrganismos de relevância epidemiológica e com risco de disseminação, que foram submetidos ou não a estudo anátomo-patológico ou confirmação diagnóstica.

c) A3

1. peças anatômicas (membros) do ser humano; produto de fecundação sem sinais vitais, com peso menor que 500 gramas ou estatura menor que 25 cm ou idade gestacional menor que 20 semanas, que não tenham valor científico ou legal e não tenha havido requisição pelo paciente ou familiares.

d) A4

1. kits de linhas arteriais, endovenosas e dialisadores, quando descartados;
2. filtros de ar e gases aspirados de área contaminada; membrana filtrante de equipamento médico hospitalar e de pesquisa, entre outros similares;
3. sobras de amostras de laboratório e seus recipientes contendo fezes, urina e secreções, provenientes de pacientes que não contenham e nem sejam suspeitos de conter agentes Classe de Risco 4, e nem apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação, ou microrganismo causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido ou com suspeita de contaminação com príons;
4. resíduos de tecido adiposo proveniente de lipoaspiração, lipoescultura ou outro procedimento de cirurgia plástica que gere este tipo de resíduo;
5. recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, que não contenha sangue ou líquidos corpóreos na forma livre;
6. peças anatômicas (órgãos e tecidos) e outros resíduos provenientes de procedimentos cirúrgicos ou de estudos anátomo-patológicos ou de confirmação diagnóstica;

⁴ O risco individual e para a comunidade é elevado. São microrganismos que representam sério risco para o homem e para os animais, sendo altamente patogênicos, de fácil propagação, não existindo medidas profiláticas ou terapêuticas. Exemplos: Vírus *Malburg* e Vírus *Ebola* (BRASIL, 2010).

7. carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de microorganismos, bem como suas forrações; e 8. bolsas transfusionais vazias ou com volume residual pós-transfusão.

e) A5

1. órgãos, tecidos, fluidos orgânicos, materiais perfurocortantes ou escarificantes e demais materiais resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação com príons.

GRUPO B - Resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.

GRUPO C - Quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados nas normas do Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista.

GRUPO D - Resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares.

GRUPO E - Materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: Lâminas de barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas; tubos capilares; micropipetas; lâminas e lamínulas; espátulas; e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares (BRASIL, 2004, p. 7).

Os tipos de resíduo de interesse para esta pesquisa são os recipientes utilizados para o envase de soluções parenterais⁵ de grande volume (SPGV), definidos como: “solução estéril e apirogênica, destinada à aplicação parenteral em dose única, cujo volume é de 100ml ou superior”. Inclui-se, também, nessa definição, as soluções para irrigação e para diálise peritoneal (BRASIL, 2010b). Este tipo de resíduo pode estar contido no item 2 do subgrupo A1 e no no item 5 do subgrupo A4 descritos anteriormente.

Conforme o artigo 15 da RDC ANVISA 306 de 2004, os resíduos A1 devem ser submetidos a processos de tratamento em equipamento que promova redução de

⁵ Via parenteral: acesso para administração de medicamentos que alcancem espaços internos do organismo, incluindo vasos sanguíneos, órgãos e tecidos. (ANVISA, 2003)

carga microbiana compatível com nível III⁶ de inativação microbiana e devem ser encaminhados para aterro sanitário licenciado ou local devidamente licenciado para disposição final de resíduos dos serviços de saúde. Os resíduos A4 podem ser dispostos, sem tratamento prévio, em local devidamente licenciado para disposição final de RSS, conforme o artigo 18 (BRASIL, 2004).

A classificação dos resíduos de serviço de saúde foi posta com base na composição e características biológicas, físicas, químicas, estado da matéria e origem, para o seu manejo seguro. Tem como finalidade o adequado gerenciamento desses resíduos na área interna e externa dos estabelecimentos de saúde (BRASIL, 2004).

O gerenciamento de RSS é definido pela ANVISA (BRASIL, 2004) como um conjunto de procedimentos de gestão, planejados e implementados a partir de bases científicas e técnicas, normativas e legais, com o objetivo de minimizar a produção de resíduos e proporcionar aos resíduos gerados, um encaminhamento seguro, de forma eficiente, visando a proteção dos trabalhadores, a preservação da saúde, dos recursos naturais e do meio ambiente.

Alguns autores já mencionaram a problemática criada pelos RSS devido a falta de um plano de gerenciamento de resíduos bem implementado na maioria dos hospitais. Eles concordam que a partir de uma segregação criteriosa apenas pequena parte dos RSS, com maior risco biológico, necessitaria ser submetida a tratamentos especiais com vistas à eliminação de sua periculosidade e que, o restante poderia ser gerenciado como resíduo comum, reduzindo-se os custos operacionais e os riscos à saúde pública (FERREIRA, 1997; DIAS & FIGUEIREDO, 1999).

Brito (2000), cita em seu estudo alguns autores que analisaram os resíduos hospitalares. Dentre eles: Mattos, Silva e Carrilho (1998), concluíram que apenas 10% do lixo hospitalar é infectante. Outros, como: Santos (2000); Soares e Castilho

⁶ Inativação de bactérias vegetativas, fungos, vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e micobactérias com redução igual ou maior que 6Log¹⁰, e inativação de esporos do *Bacillus stearothermophilus* ou de esporos do *Bacillus subtilis* com redução igual ou maior que 4Log¹⁰ (BRASIL, 2004).

(1997) e Ferreira, (1997), consideraram que até 30% do resíduo é infectante e o restante é considerado como lixo "comum", semelhante aos resíduos domésticos, dos quais, segundo Mattos, Silva e Carrilho (1998) afirmam que cerca de 20% poderiam ser recicláveis.

Ferreira, (1997) e Zanon (1990) pesquisaram as semelhanças e diferenças entre resíduos domiciliares e hospitalares, e concluíram que excetuando-se uma pequena parcela desses resíduos considerados como "especiais" devido ao maior risco biológico, não há justificativas para o tratamento diferenciado entre os dois tipos de resíduos. Nesse mesmo estudo feito por Ferreira (1997), devido a semelhança bastante razoável entre os resíduos, o autor sugere que os resíduos hospitalares sejam agrupados em uma mesma categoria, do ponto de vista gerencial. Este autor ainda reforça que a idéia da disposição conjunta dos resíduos sólidos domiciliares e hospitalares em aterros sanitários pode ser viável. Corroborando a esta idéia, Cussioli (2006) publicou sua pesquisa onde foi feita caracterização gravimétrica dos resíduos domiciliares em uma região de Belo Horizonte. Então, a partir da extrapolação dos dados da sua pesquisa com informações da Superintendência de Limpeza Urbana (SLU) sobre a fração média total de RSS nos anos de 2003 e 2004, a pesquisadora mostrou que a fração de resíduos originários de unidades de serviços de saúde é, no mínimo duas vezes menor que a fração total coletada de resíduos potencialmente infectantes de origem domiciliar.

Em relação ao risco de transmissão de patógenos pelo lixo, Bidonde e Povinelli (1999) mencionaram que apenas 10% do risco de infecções hospitalares estão associados ao mau gerenciamento de resíduos dos resíduos.

Uma observação importante sobre os reais riscos associados aos resíduos hospitalares é feita por Zanon (2002 apud GARCIA & ZANETTI-RAMOS, 2004) quando percebe que as publicações sobre a suposição de evitar um risco inexistente beneficiam a "indústria do lixo", favorecendo os que lucram financeiramente com a exploração da visão de periculosidade infecciosa dos resíduos de serviços de saúde. O autor citado faz referência à "indústria do lixo" como um "campo minado" por envolver vultosos interesses financeiros. Considera ainda, que a legislação que exige o tratamento diferenciado para os resíduos de serviços de saúde sobrecarrega os hospitais com despesas desnecessárias.

A insegurança na tomada de decisão, por parte dos estabelecimentos de saúde, no que se refere ao gerenciamento de seus resíduos é diagnosticada por Soares et al. (2000) como consequência de alguns fatores como: grande diversidade dos constituintes dos RSS; a incerteza da sua transmissibilidade de patógenos; a falta de conhecimento sobre os indicadores de índice de infecciosidade do resíduo; e os altos custos de se adotar um eficiente plano de gerenciamento bem como dificuldades de fiscalização por parte dos órgãos públicos.

As resoluções do CONAMA e da ANVISA definem pela necessidade de tratamento de alguns subgrupos de resíduos potencialmente infectantes, conforme os critérios citados anteriormente, e também reforçam que quando eles são misturados aos comuns, a totalidade deverá ser gerenciada como resíduo infectante. Os resultados da pesquisa de Pilger e Schenato (2008) sugerem que, com a segregação adequada, poderia haver uma redução da quantidade e de custos para o tratamento e disposição dos resíduos infectantes.

Fato que corrobora a esta realidade é a existência de certo engano a respeito dos resíduos gerados em instituições de saúde, por parte da população em geral e mesmo entre os próprios trabalhadores dessas instituições que acreditam que todo resíduo oferece riscos à saúde. Essa mistificação, como cita Andrade (1999), está relacionada ao preconceito que as pessoas têm a respeito das palavras "lixo e hospital", pois, estão sempre relacionando-as à doença, à morte e ao medo.

A partir da observação das atividades dos profissionais no Hospital escolhido para este estudo, no que se refere ao descarte de embalagens, frascos de soluções parenterais, assim como o descarte de todos os artigos médico-hospitalares é que vislumbrou-se a possibilidade de se reduzir parte do volume de resíduos gerados nesta ou em quaisquer outras instituições de saúde. Pode-se observar a falta de critérios, por parte dos profissionais, na separação de resíduos sólidos tendo, como consequência, o aumento da quantidade de resíduos considerados infectantes.

3.1.3 Plásticos presentes no RSS

A mídia tem divulgado o acréscimo do consumo doméstico de PP e PE que foram os principais responsáveis pelo aumento das resinas termoplásticas no Brasil em 2012, de acordo com o levantamento feito pela Associação Brasileira da Indústria Química (ABIQUIM), em março de 2013. O consumo aparente nacional (CAN) nos dois segmentos cresceu 4,5% e 3,5% em relação ao ano anterior, respectivamente. Em contra-partida o consumo de outras resinas, como PVC, PET e o etileno-acetato de vinila (EVA) tiveram queda em seu consumo (MAGNABOSCO, 2013).

Rosa e Pantano Filho (2003) relatam que “o setor de embalagens se destaca na utilização de polímeros sendo que, no Brasil, aproximadamente 30% das resinas plásticas consumidas destinam-se à indústria de embalagens”. Estas embalagens estão presentes também nos produtos médico-hospitalares.

Os plásticos apresentam-se como uma das principais alternativas para diversos tipos de embalagens de artigos médico-hospitalares. Dentre estes, incluem-se as embalagens de soluções parenterais de grande volume (SPGV), sobretudo nas formas de frasco-ampola e bolsa. O PE é muito utilizado como material para embalagem de SPGV na forma de frasco-ampola e o PP é utilizado para este tipo de embalagem na forma de laminado, visando aumentar as propriedades de barreira. Já o PVC é usado, principalmente, na fabricação das bolsas flexíveis para SPGV e sangue (MONTEIRO & GOTARDO, 2005). Assim, estão sempre presentes no RSS.

A ANVISA, pela RDC nº 17, de 16 de abril de 2010, define sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPFM) para que se estabeleça requisitos mínimos a serem seguidos na fabricação de recipientes para preparações injetáveis (BRASIL, 2010b). Os principais tipos de material empregados neste tipo de embalagem são o vidro e o plástico. Visto que esta pesquisa trata apenas do estudo de embalagens de PE e PP, define-se a matéria-prima para fabricação, segundo a Farmacopéia Brasileira (2010c):

Polietilenos de alta e baixa densidade são polímeros de cadeia longa, sintetizados sob condições controladas de calor e pressão, com o auxílio de catalisadores e a partir de, no mínimo, 85,0% de etileno e um total de 95,0% de olefinas (BRASIL, 2010c, p. 289).

Polipropilenos são polímeros de cadeia longa, sintetizados com o auxílio de catalisadores sob condições controladas de calor e pressão. Fatores como composição do plástico, processamento e procedimentos de limpeza, meios de contato, corantes, adesivos, absorção, adsorção, permeabilidade de

conservantes e condições de armazenamento podem afetar a adequação de um plástico para um uso específico. A adequação de um polipropileno característico deve ser estabelecida por meio de testes adequados (BRASIL, 2010c, p. 290).

Na mesma RDC ANVISA, 2010, citada no parágrafo anterior, e de acordo com Le Hir (1997 apud MONTEIRO & GOTARDO, 2005) os requisitos exigidos devem-se a que embalagens de soluções parenterais sejam fabricadas com material transparente o bastante para que se tenha uma boa visualização do aspecto primário da preparação; que sejam quimicamente inertes em relação à preparação com a qual está em contato e para que se evite a introdução de material estranho na preparação. Deve-se, também, evitar a difusão de componentes através do recipiente e deste para a preparação em contato, durante a vida útil do produto.

As SPGV são amplamente utilizadas nos serviços hospitalares fazendo com que suas embalagens, após o consumo, ocupem grande parte do volume gerado de RSS. A tabela 2 mostra as apresentações destas soluções disponíveis no mercado brasileiro, de acordo com volume e tipo de solução, material da embalagem, tipo de embalagem.

Tabela 2 - SPGV disponíveis no mercado brasileiro.

SPVG	Tipo de recipiente	Polímero	Volume/ml
Glicose 5%	Frasco-ampola	PE	100, 250, 500, 1000
	Bolsa Flexível	PVC PP	100, 250, 500, 1000
Glicose 10%	Frasco-ampola	PE	250, 500, 1000
	Bolsa flexível	PVC PP	100, 250, 500, 1000 250, 500, 1000
Glicofisiológico	Frasco-ampola	PE	250, 500, 1000
	Bolsa flexível	PVC PP	100, 250, 500, 1000 250, 500, 1000
NaCl 0,9% (Fisiológico)	Frasco-ampola	PE	100, 250, 500, 1000
	Bolsa flexível	PVC PP	100, 250, 500, 1000 100, 250, 500, 1000, 2000
Ringer lactato	Frasco-ampola	PE	250, 500, 1000
	Bolsa flexível	PP	250, 500, 1000
Ringer fisiológico	Frasco-ampola	PE	500
Água para injeção	Bolsa flexível	PVC	250, 500, 1000

Fontes: Adaptado de: Farmacêutica Texon Ltda e Turco e King (1987 apud MONTEIRO & GOTARDO, 2005).

As SPGV são comercializadas por algumas das grandes empresas do ramo de produtos hospitalares, as quais, predominantemente, fabricam o frasco-ampola em PE e as bolsas flexíveis são fabricadas tanto em PVC quanto PP.

3.1.4 Hospital Regional de Betim

O local escolhido para a realização deste estudo é o Centro de Terapia Intensiva-1 (CTI-1) do Hospital Público Regional de Betim (HPRB). A opção pelo CTI-1 deveu-se à característica da circulação restrita do setor e a facilidade de acesso pela pesquisadora, o que viabilizou o controle sobre a coleta de dados para o estudo.

O município de Betim situa-se a 31 km da capital mineira e possui 415.098 habitantes (IBGE, 2010). Segundo o IBGE (2010), a população do município de Betim tem crescido em média 7,85% ao ano - taxa muito superior à da população da Região Metropolitana de Belo Horizonte - (2,09%) e de Minas Gerais - (1,15%). Com uma área superficial total de 345,91 km² e densidade populacional de 1.200 habitantes/km². O município é um dos principais polos de concentração industrial do Estado de Minas Gerais. Seu grande impulso econômico aconteceu na década de 60, com a instalação da Refinaria Gabriel Passos e da FIAT automóveis. Mas, ainda atualmente, o município registra um macro crescimento econômico (IBGE, 2010). O índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é de 0,775 de acordo com o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD, 2000).

O HPRB foi inaugurado no dia 02 de agosto de 1996 e desde então atende à população do Consórcio Intermunicipal de Saúde do Médio Paraopeba (CISMEP) o qual é composto por 16 municípios da região. É um hospital público de grande porte, conta com 400 leitos de atendimento materno-infantil, hemodiálise, clínica médica e cirúrgica de alta complexidade para pacientes adultos e pediátricos tendo 40 leitos de CTI. É referência no atendimento ao trauma e à gestante de alto risco (SILVA, 2008b).

O CTI-1 faz parte da Divisão de Serviços de Terapia Intensiva a qual conta com 40 leitos: 20 leitos para atendimento do paciente adulto, sendo 10 leitos no CTI-1 e 10

leitos no CTI-2, e 20 leitos para atendimento de pediatria e neonatologia. O CTI-1 recebe pacientes predominantemente vítimas de traumas e das especialidades clínica e cirúrgica (cardiovascular, neurologia, ortopedia e outros) de outros setores do hospital, das Unidades de Atendimento Imediato e de outros municípios, principalmente dos pertencentes ao CISMEP.

O Hospital Público Regional de Betim (HPRB) tem como rotina estabelecida no Plano de Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Saúde (PGRSS), a pesagem semestral dos resíduos sólidos por tipo de material.

Os resíduos são separados em: infectante (grupo A), perfurocortante (grupo E), comum seco e comum úmido (grupo D). Dentre os resíduos recicláveis observou-se que a maior quantidade foi de papel, seguido pelos materiais poliméricos que ficaram em segundo lugar (HPRB, 2012).

De acordo com o PGRSS deste hospital, os resíduos sólidos infectantes são recolhidos por uma empresa prestadora de serviços para o município, para tratamento em autoclave antes da destinação final em aterro sanitário. Os resíduos sólidos considerados infectantes, atualmente, são todos os resíduos que tiveram contato com os pacientes atendidos em qualquer uma das unidades assistenciais, os quais podem ou não estarem em leito de isolamento (HPRB, 2012).

O volume de frascos potencialmente recicláveis adquiridos pelo hospital no ano de 2011, entre soluções de 1000, 500 , 250 e 100ml, foi de 799.680 unidades (APÊNDICE A).

3.2 PLÁSTICOS

De acordo com o Dicionário de Polímeros (ANDRADE et al., 2001), plástico é o “termo geral dado a materiais macromoleculares que podem ser moldados por ação de calor e/ou pressão”. São geralmente materiais sintéticos, derivados de petróleo e formados pela união de grandes cadeias moleculares chamadas polímeros (poly = muitos, meros = partes). As propriedades dos plásticos são definidas a partir do

tamanho e da estrutura das moléculas desses polímeros (resinas) (CÂNDIDO et al., 2009).

Polímeros são materiais de origem orgânica (ou inorgânica) de alta massa molar (acima de dez mil, podendo chegar a dez milhões), cuja estrutura consiste na repetição de pequenas unidades (meros). Macromolécula formada pela união de moléculas simples ligadas por ligação covalente (CANEVAROLO, 2010, p. 23).

O número de repetições dos meros da cadeia polimérica é denominado grau de polimerização, sendo geralmente simbolizado por “n” ou então por “DP” (que são as iniciais do termo em inglês *degree of polymerization*) (MANO & MENDES, 1999).

Uma das maneiras mais importantes de classificação para os plásticos é quanto às características de fusibilidade, segundo a qual esses materiais podem ser termoplásticos e termorrígidos (CANEVAROLO, 2010).

Os termoplásticos são caracterizados por possuir ligações químicas fracas (van der Waals) entre as cadeias que, assim, podem ser facilmente rompidas com a introdução de energia (FRUET, 2005). E por isto podem ser aquecidos, conformados, resfriados, novamente aquecidos e conformados sem a perda significativa de suas propriedades físicas. São fusíveis, solúveis e recicláveis. Correspondem a 80% dos plásticos consumidos, dentre os quais estão: o PET, o PEAD, o PEBD, o PS, o PVC e PP (AUSTIN ASIS, 2011).

Os termofixos, após serem moldados, tornam-se, geralmente, insolúveis e infusíveis, ou seja, são aqueles que aplicações subsequentes de calor não podem ser moldados novamente, e devido a esta característica, são difíceis de serem reciclados (CANEVAROLO, 2010). Eles representam os outros 20% do total de plásticos consumidos no Brasil que são: as resinas de poliuretanos (PU), o EVA, resinas fenólicas e poliésteres (WIEBEK & PIVA, 2004).

No processo de biodegradação dos plásticos acontece uma alteração das propriedades físicas e químicas do polímero por ação enzimática de microorganismos presentes no ambiente, em condições específicas de temperatura,

humidade, radiação, oxigênio e nutrientes. Habitualmente, os plásticos são materiais muito resistentes à degradação no meio ambiente devido a sua massa molecular relativa ser elevada e também a sua hidrofobicidade que dificulta a ação enzimática dos microorganismos na superfície do polímero (AMASS, 1998; FLEMMING, 1998 apud FRANCHETTI & MARCONATO, 2006). Portanto, o descarte do plástico representa um problema ambiental difícil e importante, pois permanece no ambiente por muitos anos.

3.2.1 Polietileno

3.2.1.1 Breve histórico

De acordo com White e Choi (2005), a primeira vez que se tem relato da produção de polietileno foi em 1933, quando Dr. A. Michels, na Imperial Chemical Industrial Ltda (I.C.I.), pressurizava uma bomba a 3.000 atm e ocorreu um vazamento. Quando ele tentou fazer com que a pressão retornasse ao inicial adicionando mais etileno, percebeu que havia se formado um pó branco (polietileno). Em 1934 os resultados desta experiência foram relatados por Fawcett e Gibson. Em 1936 a I.C.I registrou uma patente provisória em nome de Fawcett, Gibson, Perrin, Paton, Willians para este processo de produção do polietileno de baixa densidade.

Nas décadas subsequentes novas descobertas aconteceram: nos anos de 1930, a I.C.I. lançou o polietileno de baixa densidade – PEBD; e nos anos 50, o polietileno de alta densidade – PEAD, com os catalisadores Ziegler-Natta. Nos anos 70, a Union Carbide introduziu o polietileno de baixa densidade linear – PEBDL. Nos anos 90, a Dow Chem. lançou o novo elastômero de poliolefinas, Affinity e Engage, um

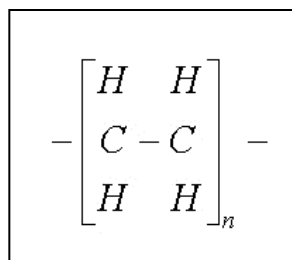
dos primeiros desenvolvimentos da tecnologia *Insite* de catálise metalocênica⁷ (WHITE & CHOI, 2005).

Atualmente, o polietileno é o plástico mais vendido no mundo. Isso ocorre principalmente pela grande versatilidade desse material, que pode ser quase transparente ou translúcido, rígido ou flexível, natural ou pigmentado (DOAK, 1986 apud COUTINHO, 2003). Além de ser facilmente processado, não-tóxico, não-higroscópico⁸ e de ter um preço bastante reduzido, o que explica o seu consumo elevado (MARTINS, 1999).

3.2.1.2 Características e propriedades do PE

O polietileno é um polímero de alta massa molecular (acima de dez mil, podendo chegar a dez milhões), cuja estrutura consiste na repetição de pequenas unidades mostrada na figura 3, e estas, por meio de ligações covalentes formam uma macromolécula (CANEVAROLO, 2010).

Figura 3 - Representação do monômero do polietileno.



Fonte: (CANEVAROLO, 2010).

⁷ São chamados de catalisadores de sítio único, realizam a polimerização de α -olefinas com vantagens. Reduzem os ciclos de polimerização, elevam a produtividade e geram polímeros com algumas propriedades melhoradas (WAL, 1998 apud SILVA *et al.*, 2001a).

⁸ Higroscópico: que absorve e retém a umidade facilmente (WEISZFLÖG, 2007).

Esse polímero possui uma das mais simples estruturas dentre todos os polímeros e pode ser reproduzida através de vários processos que lhe conferem características próprias de densidade, peso molecular, distribuição de peso molecular, o que explica a sua grande variedade de processos de transformação e de aplicações.

Anteriormente, o polietileno era classificado pela sua densidade e pelo tipo de processo usado em sua fabricação. Atualmente, os polietilenos são mais apropriadamente descritos como polietilenos ramificados e polietilenos lineares (MARTINS, 1999). O PE de cadeias lineares, o PEAD, tem maior densidade, pois a orientação, o alinhamento e o empacotamento das cadeias tornam-se mais eficientes; assim como as forças intermoleculares (van der Waals) podem agir mais intensamente e, conseqüentemente, a cristalinidade será maior. O contrário acontece no caso do PEBD, que tem ramificações na sua cadeia que tornam mais difícil o empacotamento (MANO & MENDES, 1999).

De acordo com Coutinho (2003) são cinco os tipos de polietilenos produzidos, sendo que a diferença entre eles está nas condições do sistema utilizado para polimerização:

- Polietileno de baixa densidade (PEBD ou LDPE);
- Polietileno de alta densidade (PEAD ou HDPE);
- Polietileno linear de baixa densidade (PELBD ou LLDPE);
- Polietileno de ultra alto peso molecular (PEUAPM ou UHMWPE);
- Polietileno de ultra baixa densidade (PEUBD ou ULDPE).

O PEBD, ou LDPE, é o mais utilizado na fabricação de SPGV, pois, tem algumas propriedades que, quando combinadas, o tornam o material mais adequado para este tipo de embalagem. Essas propriedades são: tenacidade, alta resistência ao impacto, alta flexibilidade, boa processabilidade, estabilidade. O PEBD possui densidade entre 0,910-0,925 g/cm³ e é pouco solúvel em solventes polares como álcoois, ésteres e cetonas. A permeabilidade à água do PEBD é baixa quando comparada a de outros polímeros (DOAK, 1986 apud COUTINHO, 2003).

3.2.1.3 Aplicações do polietileno

Devido às características anteriormente descritas, o PEBD é muito utilizado como filmes para embalagens industriais e agrícolas, filmes destinados a embalagens de alimentos líquidos e sólidos, filmes laminados e plastificados para alimentos, brinquedos, utilidades domésticas, revestimento de fios, cabos, tubos, mangueiras e nas embalagens para produtos farmacêuticos e hospitalares como ilustrado na figura 4 (COUTINHO, 2003).

Figura 4 – Embalagem de SPGV em PE do fabricante X.



Fonte: Foto da autora.

O PEAD e o PEBD tem uma grande diversidade de aplicações, entretanto o PEAD é mais duro e resistente e o PEBD é mais flexível e transparente. Assim, o PEAD é bastante utilizado na fabricação de tampas com rosca (rígidas) e o PEBD na de tampas sem rosca (flexíveis) (COUTINHO, 2003). Este tipo de aplicação é de grande utilidade na fabricação de conectores e tampas de embalagens de soluções de uso hospitalar.

3.2.2 Polipropileno

3.2.2.1 Breve histórico

O primeiro registro da produção do polipropileno foi no início da década de 1950 quando Karl Ziegler e Giulio Natta prepararam o polipropileno a partir de monômeros de propileno ($\text{CH}_2=\text{CHCH}_3$). Neste período, Karl Ziegler, na Alemanha, desenvolveu catalisadores organometálicos que foram utilizados por Giulio Natta (1903-1979), na Itália, para a produção de polímeros estereoregulares (com grupos laterais regulares e simétricos), produzindo polipropileno isotático. Até então, o polipropileno só havia sido produzido na sua forma atática, um material viscoso, com características pouco atrativas comercialmente. O novo produto, um plástico sólido, iniciou o que atualmente é uma imensa área de síntese, dita estereoespecífica, ou seja, aquela que produz estruturas químicas de forma controlada. Por estas descobertas, Ziegler e Natta dividiram o Prêmio Nobel de Química, em 1963 (CANEVAROLO, 2010).

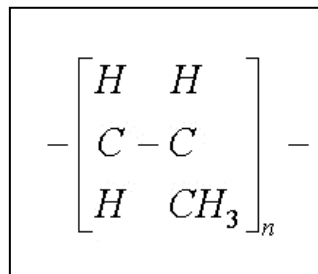
3.2.2.2 Características e propriedades do PP

O polipropileno é um polímero termoplástico semicristalino, produzido a partir da polimerização do monômero propeno, usando um catalisador estereoespecífico⁹ formando cadeias longas.

A figura 5 mostra o monômero base, propeno, que é um gás à temperatura ambiente (MANO & MENDES, 1999; CANEVAROLO, 2010).

⁹ O termo estereoespecífico do catalisador se refere à característica de controlar a posição do grupo metila na cadeia polimérica de forma ordenada (CANEVAROLO, 2010).

Figura 5 - Representação do monômero do propileno.



Fonte: (CANEVAROLO, 2010).

Existem diversos tipos de polipropileno (atático, isotático e sindiotático), cada um tem seus respectivos pontos de fusão e rigidez, sendo mais duro e resistente ao calor, quando comparado com o polietileno (MANO & MENDES, 1999; CANEVAROLO, 2010).

O polipropileno PP isotático é o mais comercial. Apresenta-se no estado sólido parcialmente cristalizado na temperatura ambiente e com uma cristalinidade média de 60%, ou seja, uma fase amorfa e outra cristalina. Sua cadeia é linear, com um radical metila a cada mero e todos posicionados do mesmo lado do plano formado pelos átomos CH da cadeia principal. A fase amorfa por não ter ordem espacial, tem conformação aleatória apresentando-se em forma de novelo (CANEVAROLO, 2010).

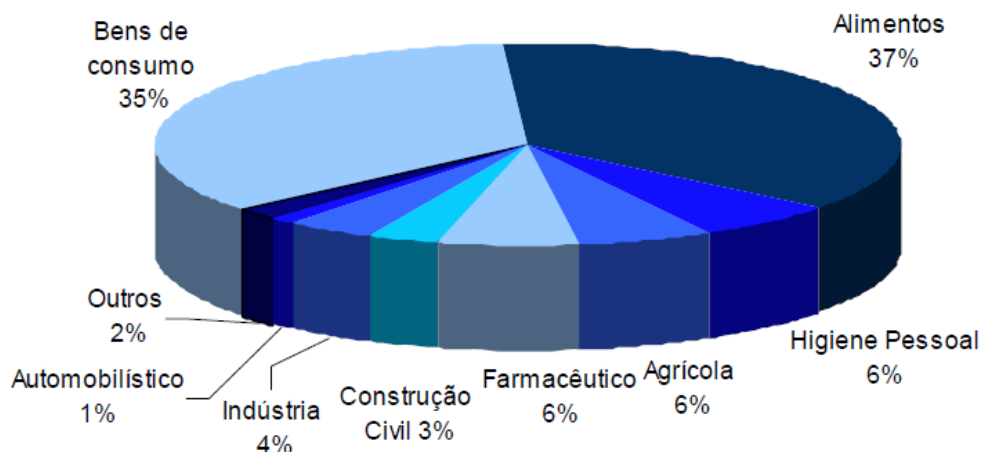
Este polímero apresenta densidade da ordem de 0,905 g/cm³, exibe elevada rigidez e tem boa resistência ao impacto à temperatura ambiente (acima de 15°C) em todos os tipos. Tem alta dureza superficial e elevada resistência química a solventes, não sendo atacado pela grande maioria de produtos químicos à temperatura ambiente. Apresenta baixíssima absorção de água, baixa permeabilidade ao vapor de água, baixíssima condutividade elétrica, baixo custo, fácil moldagem, boa estabilidade térmica e maior sensibilidade à luz ultravioleta (UV) e aos agentes de oxidação, sofrendo degradação com maior facilidade (MICHAELI, 1995; MANO & MENDES, 1999; CANEVAROLO, 2010).

3.2.2.3 Aplicações do PP

Devido às suas características em estado fundido, o polipropileno pode ser moldado por diferentes processos de transformação de plásticos e assim ter uma gama de aplicações: ele pode ser processado por moldagem por injeção, por sopro, extrusão e também é comercializado na forma de filmes (BONELLI, 2005; MANO, 1999). Como aplicações comerciais do polipropileno podem ser citadas: a fabricação de brinquedos, de recipientes para alimentos, remédios, produtos químicos, carcaças para eletrodomésticos, seringas de injeção, material hospitalar esterilizável, dentre outras (FRANCHETTI & MARCONATO, 2003).

Segundo dados obtidos pela Associação Brasileira da Indústria do Plástico (ABIPLAST) conforme ilustra o gráfico da figura 6, elaborado por Asis (2011), 6% do PP produzido no Brasil em 2007 teve sua aplicação na indústria farmacêutica.

Figura 6 – Gráfico de consumo de PP no Brasil em 2007.



Fonte: (ASIS, 2011).

Atualmente, existem diferentes tipos de plásticos no mercado e cada um deles adequado a um tipo de aplicação. No mercado de embalagens, as bolsas e frascos de PP foram desenvolvidos para o envase de soluções parenterais. O PP começou a ser usado como alternativa ao PE e PVC (MONTEIRO, 2009), assim alguns

fabricantes começaram a adotá-lo como matéria prima dos recipientes para SPGV, conforme mostra a figura 7.

Figura 7 - Embalagens de SPGV em bolsas de PP.



Fonte: Sanobiol Laboratório Ltda, 2013.

3.3 PROPRIEDADES DE SUPERFÍCIES DOS MATERIAIS E ADERÊNCIA BACTERIANA

Alguns autores consideram algumas características da superfície dos materiais, que afetam e determinam a aderência das células bacterianas. Propriedades como rugosidade da superfície, facilidade de limpeza, desinfetabilidade, molhabilidade (determinado pela hidrofobicidade) e vulnerabilidade ao desgaste podem influenciar a capacidade das células de aderir a uma superfície específica e, assim, determinar o estado de higiene do material (VAN HOUTD & MICHIELS, 2010).

Outros autores incluem também a composição química dos materiais, a carga superficial e a configuração física. Além disso, a absorção ou adesão de proteínas em sítios vazios pode alterar a energia da superfície mudando suas características hidrofílicas e hidrofóbicas da superfície (AN & SKOWRONSKI, 2000). Também foi demonstrado, por Mitik-Dineva et al. (2008 apud TRUONG et al., 2009), estudos

realizados sobre aderência bacteriana, em resposta a modificações na superfície de vidro e polímeros. Nesses estudos, os autores concluíram que mudanças na topografia da superfície de um substrato em escala nanométrica podem influenciar o grau de aderência de bactérias.

3.3.1 Composição química

A composição química, a energia livre, e a aspereza estão diretamente relacionadas com as propriedades da superfície dos materiais e, por isso, interferem na aderência de microrganismos (HOOD & ZOTOLLA, 1997). Assim, faz-se necessária a análise da superfície dos materiais estudados para confirmação de sua composição.

A Farmacopéia Brasileira define, como conclusivos, os ensaios de identificação de materiais: infravermelho; espectrofotometria de absorção específica e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrofotometria (BRASIL, 2010c).

A espectrofotometria fundamenta-se na absorção da energia eletromagnética por moléculas que dependem tanto da concentração quanto da estrutura das mesmas. De acordo com o intervalo de frequência da energia eletromagnética aplicada, a espectrofotometria de absorção pode ser dividida em ultravioleta, visível e infravermelho (IV) (BRASIL, 2010c).

A espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) tem sido muito empregada na investigação de filmes poliméricos. A FTIR fornece informações a respeito de: composição química, definido pela natureza dos átomos e o tipo de ligação do arranjo espacial; as estruturas configuracionais caracterizam o estado químico; e a conformação de grupos químicos caracterizam a geometria de um polímero e suas interações intermoleculares (JASSE, 1983). Todos os materiais possuem um espectro de absorção de infravermelho específico, assim, essa técnica poderá ser utilizada na distinção entre eles.

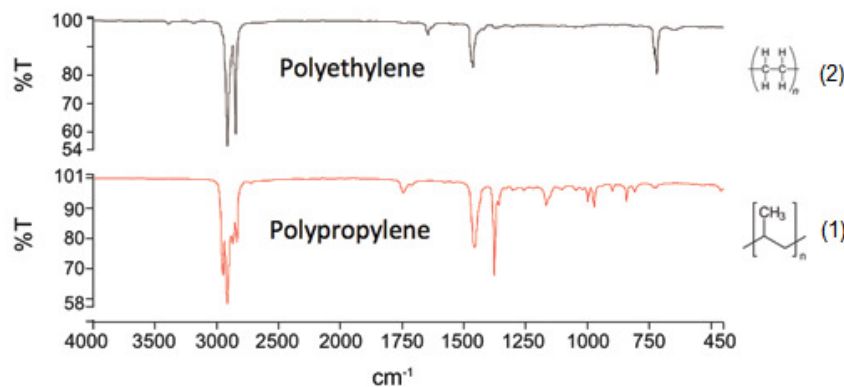
O espectro de IV mostra a absorção de luz devido a excitação das vibrações moleculares. As posições das bandas de absorção no espectro caracterizam a

presença ou ausência de grupos funcionais específicos de uma molécula. Assim, o espectro completo forma uma "impressão digital" que pode ser utilizado para identificar o material examinado. A diferença entre os dois espectros indica que suas composições são diferentes, ou se as bandas de absorção forem coincidentes, indica que os materiais são de mesma composição (PERKINELMER, 2011).

As diferenças entre os espectros permitem uma discriminação entre os materiais por comprovação da sua aparência com os modelos de espectros disponíveis nas livrarias de bancos de espectros (PERKINELMER, 2011).

Uma interpretação melhor dos espectros pode fornecer informações sobre a estrutura química da superfície analisada: por exemplo, quando se observa a região de alongamento do C-H em torno de 2950 cm^{-1} . Essas diferenças podem ser vistas entre o PP e PE devido às diferentes proporções entre os grupos CH₂ e CH₃, como mostram o primeiro e segundo espectros da figura 8.

Figura 8 – Espectro de FTIR do PE e PP.



Fonte: (PERKINELMER, 2011).

3.3.2 Molhabilidade

A molhabilidade das superfícies pode ser quantificada pelo ângulo de contato (θ) de um líquido com o substrato sólido. O ângulo de contato é um parâmetro importante que determina a qualidade do umedecimento de um sólido por um líquido. Quando este parâmetro alcança um valor constante para uma determinada situação, o

equilíbrio termodinâmico na interface é obtido (SCHRADER, 1992; AURENTY et al., 1997 apud COUTINHO, 2007). Segundo Coutinho (2007), uma característica importante que fornece informações sobre a molhabilidade é a existência da histerese do ângulo de contato, a qual fornece correlações entre a energia, rugosidade e heterogeneidade das superfícies.

Diversas teorias sobre o ângulo de contato têm sido propostas. Uma destas teorias diz que o equilíbrio entre as forças atrativas entre as partículas do fluido e as do sólido faz com que o fluido forme um determinado ângulo com o sólido. Esse ângulo será influenciado também, pela composição química e geometria da superfície (LAMPIN, 1997 apud COUTINHO, 2007).

“O ângulo de contato entre uma gota de um líquido e uma superfície sólida vai depender da relação entre as forças adesivas, que fariam a gota se espalhar sobre a superfície e as forças coesivas do líquido que contraem a gota na forma de uma esfera com superfície mínima” (COUTINHO, 2007).

A medida e a interpretação dos ângulos de contato são assuntos de extrema complexidade. Entretanto, com o desenvolvimento de técnicas experimentais e propostas de modelos teóricos é possível entender os mecanismos envolvidos e correlacionar o ângulo de contato com a superfície e até mesmo com a limpeza da superfície do material (COUTINHO, 2007).

O ângulo de contato da água é o parâmetro mais conveniente para a análise das propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas das superfícies poliméricas. Quanto maior o ângulo de contato menor a molhabilidade e menor a energia superficial do substrato (DAMIAN & ALMENDRA, 2002). Portanto, o ângulo de contato representa uma medida quantitativa da molhabilidade de um material.

Atualmente, já se pode encontrar um grande número de pesquisas que afirmam haver influência da molhabilidade de uma superfície sobre adesão e crescimento celular, pelo balanço hidrofílico/hidrofobicidade (MACEDO, 2010). Outras, também mostram que a adesão bacteriana deve ser bem maior em superfícies hidrofóbicas do que em hidrofílicas, provavelmente, porque estas superfícies facilitam uma aproximação estreita entre microrganismo e substrato sólido, favorecendo a eliminação da água presente na interface das superfícies

(RODRIGUES et al., 2006 apud ZERAIK & NITSCHKE, 2010). As superfícies que são hidrofóbicas ou menos hidrofílicas, geralmente têm a adesão aumentada, por exemplo, do *S. aureus*. A remoção do filme de água entre a superfície do material e do microrganismo nas superfícies hidrofóbicas facilita a adesão (LIMA et al., 2011). Entretanto, Costa (2006) investigou a aderência de *A. baumannii* em superfície abiótica e celular e encontrou uma relação direta entre o grau de hidrofobicidade bacteriana e aderência às superfícies abióticas, mas não em relação a adesão em superfícies celulares. Estes estudos sugerem que existe uma diversidade de fatores que podem estar envolvidos no mecanismo de adesão.

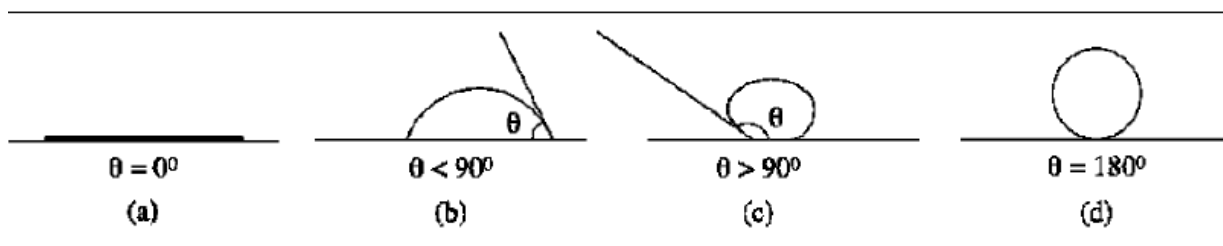
O método mais utilizado para medir o ângulo de contato em uma superfície é através da medida do comportamento de uma gota de líquido depositada sobre uma superfície sólida, chamado método da gota séssil. Neste método, uma gota de um líquido purificado, normalmente água destilada, é depositada sobre a superfície de um sólido por meio de uma micro-seringa. A gota é observada por meio de uma lente, e o ângulo de contato é medido através de um goniômetro. Este tipo de medida é chamado de estático. O valor do ângulo de contato de uma gota de líquido depende da energia de superfície da amostra e da tensão superficial do líquido (COUTINHO, 2007; PEREIRA, 2010). Quanto mais a gota se esparramar sobre a superfície, menor será o ângulo de contato e mais hidrofílica será a superfície avaliada .

O ângulo formado entre a superfície sólida e a tangente à superfície do líquido varia de 0 a 180° no ponto de contato dos dois (SILVA, 2008a). Valcarce et al. (2002) define que “quando os ângulos de contato formados pela água sobre uma superfície são superiores a 65°, a superfície é hidrofóbica, enquanto inferiores a este valor, a superfície é considerada hidrofílica”. Contudo, para van Oss e Giese (1995), estes valores são definidos de forma diferente: “quando os ângulos de contato formados pela água sobre uma superfície são inferiores a 50°, a superfície é hidrofílica e para valores superiores, trata-se de uma superfície hidrofóbica”. Esse parâmetro também foi utilizado nas pesquisas de Lima et al. (2011).

Para Ferreira (2004), quando o ângulo de contato (θ) < 90° diz-se que o líquido molha a superfície do sólido, ou seja a superfície é hidrofílica. Se o ângulo (θ) > 90°, considera-se que o líquido não molha o sólido, ou seja, a superfície é hidrofóbica.

Assim, demonstrou-se esquematicamente na figura 9, que o ângulo da figura (a) representa o ângulo de contato com uma superfície sólida totalmente hidrofílica, o esquema (b) é de um sólido predominantemente hidrofílico, (c) é de um sólido predominantemente hidrofóbico e (d) é totalmente hidrofóbico (FIGURA 9).

Figura 9 - Desenho esquemático de representação de ângulos de contato.



Fonte: (FERREIRA, 2004).

Na pesquisa realizada por Krell (1967 apud COUTINHO, 2007) os ângulos de contato com água foram medidos em vários materiais (metais, ligas metálicas e polímeros). Este autor propôs uma relação empírica entre o ângulo de contato e a profundidade média da rugosidade do sólido. Foi através desta pesquisa, que ele percebeu que o ângulo de contato da água com o aço inoxidável era de 50° e poderia ser aumentado para 90° , apenas aumentando a rugosidade da superfície da ordem de $2\mu\text{m}$. Lima et al. (2011) também pesquisou a influência da molhabilidade da superfície de polímeros (silicone e poliuretano) na adesão de *S. aureus* e concluiu que não houve correlação alguma entre eles, mas afirmou que esta adesão depende também de outras características, tais como a rugosidade. Assim, observa-se uma relação importante do ângulo de contato de um material com a rugosidade da superfície.

3.3.3 Rugosidade

“A rugosidade superficial é um parâmetro bidimensional de uma superfície representado pela distância medida entre os picos e os vales na superfície e não a

configuração morfológica da superfície” (CAÇADOR, 2009). Rotineiramente são utilizados três parâmetros principais de rugosidade: a medida de Ra, que corresponde a média aritmética da rugosidade, a qual é calculada através da média dos picos e vales ao longo da linha de medição; Rz, que corresponde a média das alturas pico-a-vale de cinco amostras adjacentes para um dado comprimento e Ry, que corresponde a altura máxima pico-vale de cinco amostras adjacentes para um dado comprimento (NORMA DIN 4768, 1990).

Merritt et al. (2000) afirmam que quanto maior a rugosidade de uma superfície maior será a adesão de microrganismos. Isto pode ser explicado devido a maior área superficial das superfícies mais rugosas e a presença de maior número de depressões na superfície que funcionam como sítios favoráveis para a colonização, pois facilitam a adesão bacteriana, a deposição do biofilme e o acúmulo de material (BARNES et al., 1999). Este fenômeno foi explicado de outra forma por Coutinho (2007), como um aumento da área superficial que afeta o coeficiente de atrito e proporciona a retenção mecânica de materiais estranhos.

Em concordância com os autores mencionados no parágrafo anterior, Coutinho (2007) também cita alguns pesquisadores que avaliaram o aumento da rugosidade da superfície como um fator associado ao aumento da retenção microbiana em plásticos tais como PMMA, descrito por Taylor et al. (1998), e no PVC, descrito por Foschino et al. (1998).

Para realização de medidas de rugosidade de uma superfície existem alguns tipos de instrumentos que fornecem informações quantitativa e qualitativa para avaliação topográfica da superfície de materiais e estão divididos em perfilômetros de contato mecânico (rugosímetros), óptico e microscópios de varredura (WENNERBERG, 1999; ALBREKTSSON, 2000 apud SILVA, 2008a).

Os rugosímetros mecânicos são muito utilizados e seu funcionamento se baseia em fazer com que uma agulha de diamante apoiada num cantiléver se movimente sobre a superfície da amostra na direção horizontal, varrendo-a em toda a extensão a ser analisada. A oscilação do cantiléver registra no eixo vertical o perfil da superfície. Este registro pode ser realizado de forma digital ou analógico originando gráficos para análise. A característica da agulha de diamante também poderá influenciar a

medida dependendo do raio (2 a 10 μm) e do ângulo da ponta (60° a 90°) (SILVA, 2008a).

Algumas limitações dos sistemas mecânicos estão na incapacidade do apalpador em penetrar em vales muito pequenos, ou deste riscar a superfície quando em deslocamento, além de problemas inerentes aos sistemas mecânicos em processar e amplificar microdeslocamentos, ou seja, menor sensibilidade (STOETERAU, 2004).

3.3.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um instrumento muito utilizado para a análise de características microestruturais de objetos sólidos. Este equipamento pode fornecer, rapidamente, informações sobre a morfologia de uma superfície sólida, devido a alta resolução que pode ser obtida quando as amostras são observadas. Valores da ordem de 2 a 5 nanômetros são conseguidos por instrumentos comerciais, enquanto os instrumentos de pesquisa avançada são capazes de alcançar uma resolução melhor que 1 nm (NAGATANI et al., 1987). Outra vantagem é a possibilidade de se obter imagens com aparência tridimensional das amostras, devido a grande profundidade de campo que é permitida (DEDAVID, et al., 2007).

O princípio de funcionamento da microscopia eletrônica de varredura consiste em utilizar um feixe de elétrons por um filamento de tungstênio, que concentrado, controlado e reduzido por um sistema de lentes eletromagnéticas, diafragmas e bobinas, incide sobre a amostra, provocando uma série de emissões de sinais relacionados com a interação do feixe de elétrons incidente e a amostra (MANSUR, 2010). A superfície da amostra é explorada, ponto a ponto, por linhas sucessivas e o sinal é transmitido do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente e, assim, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra como uma malha retangular (DEDAVID et al., 2007).

O sinal de imagem resulta da interação do feixe incidente com a superfície da amostra produzindo elétrons e fótons que podem ser coletados por detectores adequados e convertidos em uma imagem virtual conforme o feixe varre a área em análise (MANSUR, 2010; DEDAVID et al., 2007).

Devido à necessidade de interação do feixe eletrônico com a amostra, alguns elétrons são absorvidos pela amostra que são conduzidos por um fio terra, por isso é preciso que as amostras sejam condutoras. Assim, utiliza-se o recobrimento por deposição de íons metálicos de ouro (Au), liga de ouro-paládio (Au-Pd) ou platina (Pt), entre outros (DEDAVID et al., 2007).

De acordo com Dedavid et al. (2007), materiais biológicos, em geral, precisam passar por um processo de fixação, desidratação e secagem. Esses processos serão descritos na metodologia deste estudo.

3.4 OUTROS FATORES QUE INFLUENCIAM A ADERÊNCIA BACTERIANA NAS SUPERFÍCIES

A temperatura é um fator decisivo no desenvolvimento microbiano, assim pode afetar a formação e a atividade de qualquer biofilme, bem como os tipos de microrganismos que o compõem. Em ambientes com temperatura elevada ocorre a desnaturação das proteínas presentes na estrutura dos microrganismos, reduzindo subitamente a taxa de crescimento. Assim, determina-se o valor da temperatura a partir do qual esses efeitos destrutivos são preponderantes como limite máximo de temperatura. A temperatura para a qual se registra um valor máximo da taxa de crescimento, designa-se por temperatura ótima. Ao contrário, com a redução da temperatura ocorre uma diminuição da taxa de crescimento dos microrganismos até um dado valor em que o crescimento é interrompido, sendo este valor da temperatura definido como limite mínimo de temperatura. Os limites mínimo e máximo e temperatura ótima são específicos de cada microrganismo, com intervalos bastante variáveis no caso das bactérias (STANIER et al., 1995 apud CHAVES, 2004).

Outro fator importante é a concentração de nutrientes. Os microrganismos demandam quantidades mínimas de nutrientes para que ocorra o seu crescimento. Quanto maior for a quantidade de nutrientes disponíveis sob a forma de carbono orgânico (facilmente assimilável), maior será o crescimento microbiano e maior será a diversidade de organismos (BUCKMAN,1997 apud CHAVES, 2004). Portanto, quando o descarte dos recipientes é feito juntamente com outros tipos de resíduos biológicos como sobras de nutrição enteral, de alimentos, sangue e excretas de pacientes, supõe-se que estes poderão abastecê-los com nutrientes favorecendo o crescimento microbiológico.

3.5 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS

Os resíduos sólidos provêm o substrato para o crescimento e a sucessão de diversas comunidades microbianas, pois, em muitos aspectos eles contribuem para o crescimento dos microrganismos devido a disponibilidade de superfícies para colonização, a abundância de matéria orgânica e inorgânica, a temperatura normalmente elevada e a umidade, normalmente adequada (PALMISANO e BARLAZ, 1996 apud VIEIRA, 2011).

Para ponderar sobre os riscos de doenças associadas aos resíduos hospitalares, precisa-se considerar a sua etiopatogenia. Os patógenos primários são agentes de alta virulência que não pertencem à flora humana e que causam doenças tipicamente comunitárias. Aqueles patógenos chamados secundários estão na microbiota normal humana, mas não causam doença, a não ser em condições específicas. As doenças infecciosas são causadas por patógenos da microbiota normal humana, porém considera-se alguns fatores relacionados ao risco de transmissão destes pelo lixo:

- ✓ presença do agente infeccioso em quantidade suficiente (dose infectante);
- ✓ capacidade de sobrevivência deste no lixo;
- ✓ possibilidade de transmissão para o hospedeiro susceptível por contato direto através do ar, água, alimentos e lesões cutâneas (MACHADO 2001).

Bidone (2001) coordenou um estudo publicado pelo Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB) mostrando diversos microrganismos que podem ser recuperados a partir dos RSS, alguns dos quais responsáveis por infecções em seres humanos. Estes microrganismos quando não são patógenos obrigatórios, apresentam grande potencial patogênico, considerando-se, sobretudo, a susceptibilidade dos possíveis hospedeiros que entrarem em contato com eles. Destacam-se bactérias da microbiota anfibiótica, ou seja, microrganismos da flora residente ou transitória que conseguem conviver harmoniosamente com o hospedeiro, como, por exemplo: *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Streptococcus pneumoniae*; *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus aureus* (BIDONE, 2001).

Outros estudos, mencionados na pesquisa de Vieira (2011), identificaram o crescimento de microrganismos nos RSS:

- ✓ Rebellato (2006) menciona que os bastonetes Gram-negativos anaeróbios facultativos são microrganismos frequentemente isolados em hospitais destacando as espécies *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* por terem grande relevância nestes ambientes.
- ✓ Tsai et al. (1998) isolaram diversos microrganismos de efluentes de hospitais em Taiwan (coliformes totais, coliformes fecais, estreptococos fecais, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp.).
- ✓ Elmanama et al. (2006) isolaram *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. e *Klebsiella* spp., resistentes a diversos antimicrobianos.

O estudo realizado pelo *SENTRY (Antimicrobial Resistance Surveillance Program)* como parte do Programa Sentinela de Vigilância de Resistência Antimicrobiana, identificou microrganismos comuns da flora hospitalar em exames de pacientes de 12 hospitais brasileiros localizados em quatro estados. Este estudo analisou um total de 3.728 cepas bacterianas obtidas entre janeiro de 1997 e dezembro de 1999. O maior número de isolados foram obtidos a partir de pacientes hospitalizados com infecções da corrente sanguínea (2008 casos), as infecções do trato respiratório (822 casos), feridas ou pele e infecções dos tecidos moles (430 casos), e infecções do trato urinário (468 casos). O *S. aureus* foi o patógeno mais isolado em geral

(22,8% - 852 isolados), seguido por *E. coli* (13,8% - 516 casos) e *P. aeruginosa* (13,3% - 496 casos) (SADER et al., 2001). Assim, pode-se supor que os resíduos gerados pelos hospitais que fizeram parte deste estudo poderão conter os mesmos microrganismos obtidos nas amostras de materiais oriundos dos pacientes.

3.5.1 Microrganismos patogênicos e o resíduo sólido hospitalar

Vários fatores precisam ser considerados ao se fazer uma análise do perfil microbiológico dos RSS, pois a patogenicidade é característica inerente de uma parcela dos resíduos de serviço de saúde. Isto se deve, ao potencial que têm de apresentar agentes infectantes em sua composição, como microrganismos ou toxinas por estes produzidos, que possam afetar principalmente a saúde humana (SCHNEIDER et al., 2001).

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de acordo com a Norma Brasileira Regulamentadora (NBR) 10004/2004,

um resíduo é considerado patogênico se uma amostra representativa dele, obtida de acordo com a ABNT NBR 10007, “contiver, ou se houver suspeita de conter, microrganismos patogênicos, proteínas virais, ácidos desoxiribonucléico (ADN) ou ácido ribonucléico (ARN) recombinantes, organismos geneticamente modificados, plasmídios, cloroplastos, mitocôndrias ou toxinas capazes de produzir doenças em homens, animais ou vegetais” (ABNT, 2004).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), diversos microrganismos podem ser encontrados nos RSS e, possivelmente, causar infecções a quem entre em contato com eles. Destacam-se algumas enterobactérias, como a *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *V. cholerae*, helmintos, e também outras como: *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, vírus da herpes, *Neisseria gonorrhoeae*, *Bacillus anthracis*, vírus da imunodeficiência humana (HIV), *Staphylococcus* spp., *S. aureus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Candida albicans*, e os vírus das hepatites A, B e C (BIDONE, 2001). Entretanto, existem controvérsias sobre a sobrevivência destes agentes biológicos em condições ambientais.

Várias publicações científicas tratam dos riscos à saúde associados ao descarte dos RSS.

Suberkeropp e Klugg (1974 apud SOUZA, 2005) identificaram importantes patógenos nos RSS. Nessa pesquisa, a *Mycobacterium tuberculosis* (causador da tuberculose) apresentou um tempo de resistência ambiental de até 180 dias na massa de resíduos sólidos. Silva (1999) também mostrou que a *P. aeruginosa* cresce bem em temperaturas variando de 25 a 37°C, mas cresce lentamente em temperatura muito baixas ou muito altas. Pode-se observar que a faixa ótima de temperatura para o crescimento do *M. tuberculosis* encontrada por este autor é bastante próxima da temperatura ambiente na maioria dos meses do ano na região do hospital onde será realizado este estudo.

Machado et al. (1993) também relataram em sua pesquisa a existência de uma série de microrganismos presentes na massa de resíduos, como a *Salmonella thyphi*, *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *S. aureus* e *C. albicans* e verificou a possibilidade de sobrevivência de vírus comprovada pela presença dos vírus poli tipo I, hepatites A e B, influenza e vírus entéricos, na mesma massa de resíduos. Este estudo revelou patógenos em condições de viabilidade por até 21 semanas durante o processo de decomposição de material orgânico. Entretanto, apesar da sobrevivência destes patógenos, Cussiol (2005) inferiu que a presença de patógenos vivos nos resíduos não quer dizer que possam transmitir doenças a alguém, pois, para que isso aconteça será necessário ter uma dose infectante, um meio de transmissão, uma porta de entrada e condições de saúde propícias, ou seja, deficiência na imunização e susceptibilidade do hospedeiro.

No estudo desenvolvido por Cussiol (2005) são feitas considerações importantes a respeito do perfil de susceptibilidade a antibióticos, dos microrganismos presentes nos RSS. Nessa pesquisa foi avaliado o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos nos resíduos sólidos de hospitais e nos líquidos lixiviados do aterro sanitário que recebem esses resíduos em Belo Horizonte, onde foram encontradas cepas de *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Enterococcus* resistentes e multirresistentes a antibióticos. A pesquisadora ressalta que a presença desses microrganismos, mesmo que em percentual baixo e amostras indicativas (pouca quantidade de análise) é um fator

relevante, pois, podem ser disseminadas no meio ambiente em localidades onde não há aterro sanitário e tratamento de líquidos lixiviados.

Considerando a grande variabilidade dos resíduos de saúde, como descrito anteriormente, observa-se uma controvérsia na literatura quanto à viabilidade e transmissibilidade de patógenos e a possibilidade de disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos. Muitos pesquisadores afirmam não haver fatos que comprovem que os RSS sejam mais perigosos e contaminados que os resíduos domiciliares (ZANON & ENGENHEER, 1991 apud CUSSIOL, 2005; RUTALA & MAYHALL, 1992; FERREIRA, 1997; ANDRADE, 1999).

Foi descrito pela OMS (1999 apud BIDONE et al., 2001) algumas pesquisas que avaliaram o tempo de sobrevivência de alguns microrganismos nos resíduos sólidos (TABELA 3). Silva et al. (2001b) também pesquisou sobre a presença de fatores de risco ambientais relacionados à presença de patógenos no RSS como mostrado na tabela 3.

Tabela 3 – Tempo de sobrevivência de alguns microrganismo no solo e nos RSS.

Microrganismos	Sobrevivência nos resíduos sólidos em dias	Sobrevivência no solo em dias
	OMS	Silva (2001)
Bactérias		
Coliformes fecais	35	-
<i>Enterobacter</i>	-	4-55
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	8-77
<i>Citrobacter</i>	-	4-55
<i>Escherichia coli</i>	-	< 24
<i>Leptospira interrogans</i>	15-43	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	150-180	10-450
<i>Salmonella thyphi</i>	29-70	1-280
<i>Salmonella parathyhi</i>	29-70	-
<i>Salmonella spp.</i>	29-70	-
<i>Shigella</i>	2-7	2-8
<i>Klebsiella</i>	-	4-55

Fonte: Adaptada de OMS (1999 apud BIDONE et al., 2001) e Silva et al. (2001b).

Pouco se sabe sobre a capacidade de sobrevivência dos microrganismos existentes nos resíduos de serviço de saúde e de seu potencial em transmitir doenças, pois as pesquisas sobre esse tema ainda são insuficientes. Para Bidone et al. (2001) os

microrganismos patogênicos possuem uma limitada capacidade de sobrevivência no meio ambiente; e sua resistência às condições de temperatura, umidade, radiações ultravioleta, disponibilidade de predadores e da disponibilidade de matéria orgânica são fatores importantes. Eles ainda mencionam nesta pesquisa, que a alta temperatura do processo de decomposição é responsável pela não sobrevivência desses microrganismos por períodos prolongados. Silva et al. (2001b) constatou que, devido a presença de patógenos nos resíduos é possível associar riscos ambiental e individual relacionados aos patógenos primários como os vírus da hepatite A e B, as bactérias *Clostridium* spp. (*botulinum*, *tetani* e *perfringens*) e *M. tuberculosis*. Já, dentre os patógenos secundários tem-se a *E. coli*, *Enterococcus faecalis* e *S. aureus*.

Os microrganismos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* são grandes causadores de infecção hospitalar e são comumente encontrados em análises microbiológicas dos RSS (BIDONE et al., 2001). Porém, o estudo de Mattoso (1996) avaliou amostras de resíduos provenientes da UTI pediátrica e verificou ausência de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* em 44% das amostras.

Ferreira (1997) e Cussiol (2005) mostraram em seus estudos que a quantidade de microrganismos presentes nos resíduos domiciliares, foi similar àquela encontrada nos resíduos hospitalares, conforme mostrado na tabela 4.

Tabela 4 - Quantidade de microrganismos encontradas em resíduos domiciliares e hospitalares de acordo com autores.

Referência	Microrganismos	Resíduos hospitalares em UFC/g	Resíduos Domiciliares em UFC/g
Ferreira, 1997	Coliformes totais	$1,3 \times 10^8$	$9,1 \times 10^8$
Ferreira, 1997	Coliformes fecais	$3,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$
Ferreira, 1997	Células viáveis	$1,6 \times 10^8$	$8,6 \times 10^9$
Ferreira, 1997	Bactérias e antinomicetos	$1,6 \times 10^8$	$6,2 \times 10^9$
Cussiol, 2005	Coliformes termotolerantes	$1,6 \times 10^5$ a $5,0 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$ a $5,0 \times 10^6$
Cussiol, 2005	<i>Enterococcus</i>	$2,3 \times 10^3$ a $1,1 \times 10^7$	$2,3 \times 10^3$ a $1,1 \times 10^7$
Cussiol, 2005	<i>P. aeruginosa</i>	$2,0 \times 10^2$ a $3,3 \times 10^4$	< 2 a $1,7 \times 10^5$
Cussiol, 2005	<i>S. aureus</i>	$4,3 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^5$	$9,5 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^4$

Fonte: Ferreira (1997); Cussiol (2005).

Bidone (2001) também apresenta dados, os quais mostraram que a concentração de microrganismos patogênicos nos RSS não é maior que aquela encontrada nos resíduos sólidos urbanos, com exceção daqueles que contêm culturas de patógenos e excretas de pacientes.

Atualmente, a implantação de serviços de internação e assistência domiciliar pelos programas de saúde públicos e a incorporação deste tipo de assistência oferecida pelos planos de saúde privados tornam as características físicas dos resíduos domiciliares mais próximas às dos RSS. Esta nova realidade pode indicar uma justificativa para a semelhança no perfil microbiológico encontrada nas pesquisas.

Atualmente, não há metodologia descrita para amostragem de resíduos visando à caracterização microbiológica. As normas e a literatura existentes não apontam ensaios que definam o grau de contaminação que um resíduo deva ter para ser considerado infeccioso, nem quais devem ser os microrganismos mais sugeridos como indicadores. Muitas referências indicam a presença de bactérias do grupo coliforme, de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus spp.* e *C. albicans*. Esses microrganismos podem ser encontrados tanto no lixo hospitalar quanto no domiciliar já que fazem parte da microbiota humana (ANDRADE, 1997; BERTUSSI, 1986; ZANON, 1987 apud MACHADO, 2001).

3.5.2 Aderência de microrganismos na superfície de materiais

A aderência de microrganismos a superfícies tem sido descrita na literatura por várias teorias. Uma delas é a teoria geral da estabilidade de colóides, conhecida como teoria DLVO, por combinação das iniciais dos autores Derjaguin e Landau, Verwey e Overbeek (VAN OSS et al., 1987). A teoria DLVO parte da definição de que os microrganismos seriam partículas quimicamente inertes (CHEN e STREVEIT, 2001 apud ARAÚJO, E. et al., 2010), ou seja, seriam como colóides liofóbicos (que tem pouca afinidade com o meio).

Essa teoria, DLVO, “afirma que a energia potencial total de interação entre dois corpos é resultante da ação combinada entre as forças atrativas de Lifshitz-van der Waals e as forças de dupla camada elétrica, que geralmente são repulsivas, uma vez que a maioria das superfícies adquire carga negativa em solução” (ARAÚJO, E. et al., 2010).

O estudo da aderência das bactérias à superfície do material requer o conhecimento das características das duas superfícies (bactéria e substrato) e da interação entre elas. Chaves (2004) explica o processo de colonização de uma superfície sólida por microrganismos descrito em quatro etapas: transporte até à superfície, adesão inicial, fixação à superfície e colonização.

O transporte dos microrganismos até à superfície pode fazer-se por difusão, devido aos movimentos “brownianos” em fluídos em repouso, ou por convecção num fluido em movimento. Este transporte dos microrganismos pode ainda ocorrer por movimento ativo dos mesmos quando possuem apêndices extracelulares que lhes conferem mobilidade (VAN LOODSDRECHT et al., 1990).

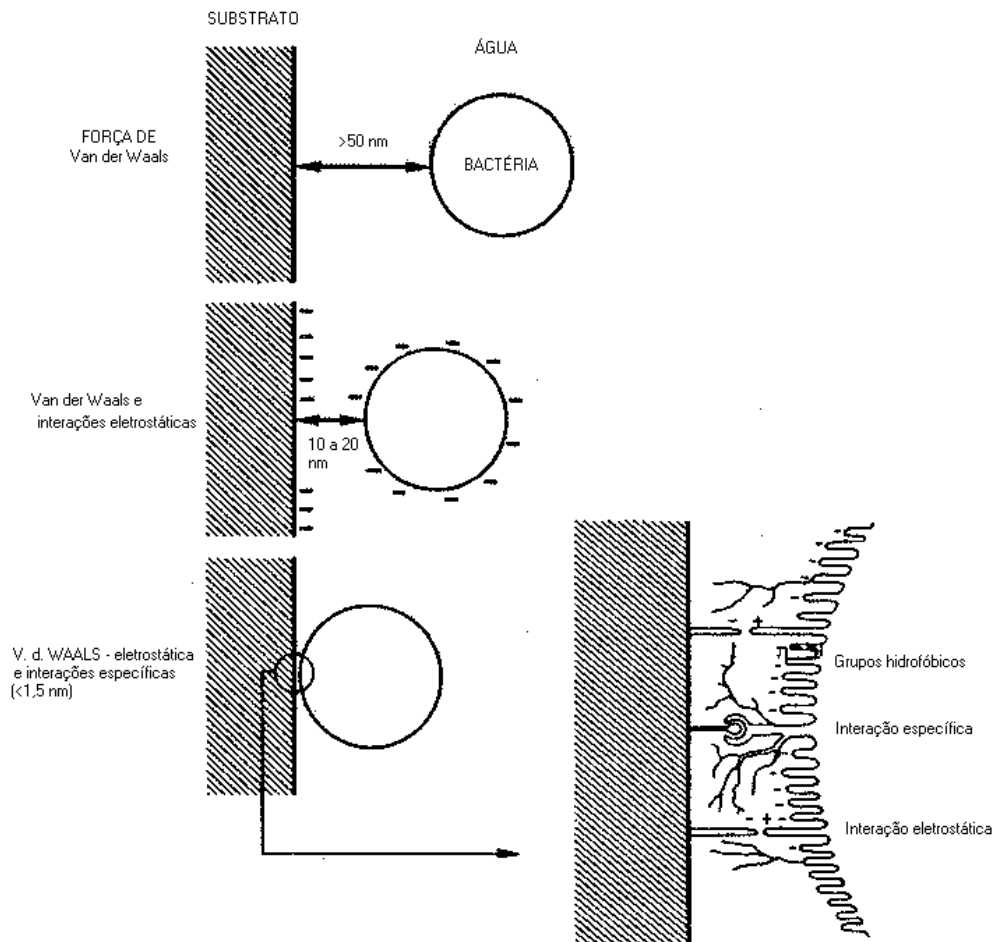
A adesão inicial ocorre devido a interação entre a superfície e a bactéria a uma distância definida como força de curto e longo alcance. Esta interação é explicada por Denyer et al. (1993), em seu estudo sobre aderência de bactérias. Estes autores afirmam que, normalmente, as superfícies do material e da bactéria possuem uma carga global negativa, e para que ocorra a adesão é necessário que a barreira de repulsão eletrostática seja superada pela força atrativa. Assim, o encurtamento entre as distâncias substrato – bactéria facilitado pela presença de apêndices e polímeros extracelulares faz com que as forças atrativas comecem a predominar. A fixação à superfície ocorre pelo contato direto entre bactéria e substrato, estabelecido em nível molecular, por substâncias poliméricas extracelulares (SPE) produzidas pelas bactérias. Essas substâncias não estão sujeitas ao mesmo tipo de repulsão que as bactérias, portanto podem facilitar a adesão entre a bactéria e a superfície (MARSHALL, 1992 apud FIGUEIREDO, 2000). As SPE produzidas desenvolvem um importante papel protegendo a célula da desidratação, já que podem reter água em uma quantidade várias vezes maior que a sua massa e se desidratam lentamente. Então, após o contato inicial com a superfície, os microrganismos iniciam a produção de fibras finas que se tornam mais grossas com o tempo, levando à formação da matriz polimérica (FIGUEIREDO, 2000).

A colonização ocorre quando os microrganismos aderidos à superfície começam a se dividir e as novas células permanecem unidas às iniciais; formam-se microcolônias e posteriormente haverá multiplicação dos microrganismos já aderidos (VAN LOODSDRECHT et al., 1990).

Mosteller e Bishop (1993 apud FIGUEIREDO, 2000) também explicam o processo de aderência de bactérias em superfícies por uma outra teoria descrita em duas etapas: na primeira fase o processo, quando este ainda é reversível, o microrganismo encontra-se aderido à superfície por atração eletrostática e pelas forças de van der Waals. Neste estágio, como forças atrativas são fracas a célula bacteriana pode ser facilmente removida. A segunda fase é irreversível e dependente do tempo, pois o microrganismo produz um material extracelular que envolve a célula aderindo-a à superfície. Forma-se, então, uma estrutura de polímeros extracelulares (polissacarídeos ou proteicos) denominada de matriz de glicocálix. Essa matriz é produzida somente após a adesão superficial e fornece condições para a adesão das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

A teoria proposta por Busscher e Weerkamp (1987) explicam o mecanismo de adesão bacteriana de outra forma. Nessa teoria os autores descrevem que, quando distâncias de separação são maiores que 50 nm, somente as forças atrativas de van der Waals atuam na adesão da bactéria ao substrato. Essa distância é considerada relativamente grande para que haja oposição de forças e para o reconhecimento de componentes específicos de superfície. A uma distância entre 10 e 20 nm ocorrem interações devido à repulsão eletrostática, forças que se opõem às forças de van der Waals. Nesta fase, a adesão ainda pode ser reversível, porém, isto se altera com o tempo para pouco reversível ou essencialmente irreversível, em razão do rearranjo da superfície da célula, o que leva a interações de curta distância. Para que a adesão se torne irreversível o filme de água presente na interface bactéria-superfície precisa ser removido. Portanto, o maior papel da hidrofobicidade e dos componentes de superfície hidrofóbica na adesão bacteriana, provavelmente, é em razão do efeito desidratante nesse filme de água, o que possibilita a ocorrência de interações específicas de curta distância. A uma distância menor que 1,5 nm, onde a barreira da energia potencial já foi superada, interações específicas de forças polares de curta distância podem ocorrer, podendo levar a uma ligação irreversível (FIGURA 10).

Figura 10 - Representação esquemática das interações do mecanismo de adesão bacteriana a um substrato sólido.



Fonte: (BUSSCHER E WEERKAMP, 1987).

Zottola e Sasahara (1994) afirmam que, antes de iniciar o processo de adesão dos microrganismos à superfície, é necessário que haja um fluxo de nutrientes (matéria orgânica e inorgânica) presentes na superfície sólida. E só então, ocorrerá o crescimento celular.

Entretanto, é consenso entre vários autores, que as propriedades do microrganismo, da superfície e as condições do meio estão diretamente relacionadas com a adesão. As condições do meio podem estar relacionadas com: pH, temperatura, tempo de exposição, concentração de microrganismos, tensão superficial e força iônica do meio, podendo transformar as características das superfícies. Além destas condições, existem outros fatores inerentes à morfologia das superfícies que podem ser determinantes no processo de adesão, tais como a sua composição, rugosidade e porosidade do substrato (PEREIRA et al., 2000).

Algumas pesquisas avaliaram o tempo necessário para que haja aderência de bactérias na superfície dos materiais. O estudo da aderência de *Listeria innocua* e *S. aureus* em superfície de polipropileno e policarbonato realizado por Parizzi (1998) mostrou que após 10 a 12 horas de contato apresentou 10^5 a 10^6 UFC/cm² tanto para *Listeria innocua* quanto para *S. aureus*. Costa (1999) pesquisou sobre a aderência de *Pseudomonas fluorescens* em superfície de aço inox e evidenciou que após 8 horas de contato formou-se aproximadamente 10^5 UFC/cm² na superfície do material. Outro estudo mostrou que *Aeromonas hydrophila* aderiu facilmente em superfícies como aço inoxidável, cobre e polibutileno, após um tempo de exposição entre 1 e 4 horas, nas temperaturas de 4 e 20° C (ASSANTA et al., 1998 apud FIGUEIREDO, 2000).

Estes estudos reforçam a idéia de que para haver aderência e proliferação de microrganismos nas superfícies de materiais são necessárias características específicas da superfície associadas a condições ideais.

3.5.3 Análise da aderência

O processo de aderência bacteriana às superfícies é muito complexo, e pode ser influenciado por várias propriedades físico-químicas tanto do microorganismo quanto do substrato. Assim, para analisar a aderência faz-se necessário relacionar os parâmetros que estão envolvidos na adesão com o número de células bacterianas aderidas à superfície das amostras dos polímeros (CAÇADOR, 2009).

Os métodos de contagem de bactérias podem ser classificados em dois tipos: métodos diretos e métodos indiretos. O método direto faz-se pela contagem por observação direta em microscópio ou pela contagem de colônias em placa. Os métodos indiretos relacionam a densidade ótica ou turbidimetria das suspensões com a concentração de bactérias ou substâncias intracelulares. Dentre os métodos já descritos, o que apresenta o maior grau de confiança é a contagem direta por observação ao microscópio. No entanto, esta técnica é demorada e trabalhosa, pois é necessário adquirir um vasto número de observações (AZEREDO, 1998; LOPES, 2002).

De acordo com o método escolhido torna-se necessária a utilização das técnicas de “swab” ou de placas de contato para amostragem de superfícies. A técnica do “swab”, quando comparada a outras técnicas, apresenta maior capacidade de recuperação de microrganismos para áreas ásperas e irregulares. Já a técnica de placas de contato é indicada somente para amostrar superfícies planas, niveladas e impermeáveis (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992) como no caso das superfícies das embalagens das SPGV. De acordo com Jay (2005), o método do “swab” em superfície, trata-se da aplicação de um “swab” umedecido em uma determinada área para posterior contagem dos microrganismos presentes. Utilizam-se moldes para determinar uma área específica e o resultado será dado em número de UFC pela área delimitada.

As placas Petrifilm sempre foram muito utilizadas em pesquisas sobre contagem de aeróbios mesófilos em alimentos. Elas tem sido exaustivamente testadas e comparadas com vários outros métodos de contagem, incluindo o método de plaqueamento convencional. Os resultados destas comparações levaram alguns autores à conclusão de serem uma ótima alternativa ao processo convencional para contagem de microrganismos em alimentos (BASTOS, 2008; CURIALE, 1990; SANT’ANA et al., 2005). A Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) aprovou este método, na sua edição de 2010, do manual de métodos de análise. Assim como o ministério da agricultura, pecuária e abastecimento do Brasil avaliou e aprovou as placas Petrifilm/AC como método alternativo para contagem de aeróbios mesófilos na área de microbiologia de alimentos conforme o certificado do anexo 2.

Hooker et al. (2012), utilizou as placas petrifilm para identificar os níveis de contaminação bacteriana na superfície de camas hospitalares e avaliar uma nova cobertura lavável. O estudo de Dal Maso et al. (1993) comparou o método petrifilm com outros dois métodos muito utilizados para avaliação de contaminação de superfícies, para monitorar a poluição microbiológica em superfícies de um laboratório: o método de “swab” e placas de contato. Nesse estudo, os resultados mostraram que o método Petrifilm é comparável aos outros dois métodos.

As placas Petrifilm/AC 3M, utilizadas para contagem de bactérias mesófilas, são cartões com uma área de 20cm² quadriculados e recobertos com nutrientes desidratados, gel hidrossolúvel e um corante indicador 2,3,5 cloreto de

trifeniltetrazolium (TTC) (FIGURA 11). O TTC é um corante amplamente utilizado em meios de cultura para contagem de bactérias. Os microrganismos vivos reduzem o TTC através de enzimas, originando formazano que se acumula no interior das células e se torna vermelho (BELOTTI et al., 1999 apud BASTOS, 2008).

Figura 11 – Placa Petrifilm/AC 3M com colônias coradas.



Fonte: foto da autora.

A norma ISO 7218/2007 define requisitos gerais de orientação para exames microbiológicos no controle de alimentos. Essa norma cita vários métodos utilizados para enumeração de microrganismos, porém em suas recomendações ela abrange a contagem pela utilização de meios de cultura sólidos e líquidos (ISO, 2007). A contagem em meios sólidos baseia-se na capacidade de muitos microrganismos produzirem colônias no interior de meios ágar. Neste método a contagem das células pode ser feita a olho nu ou com o auxílio de uma lupa. Os métodos destinados a produzir apenas as colônias na superfície de placas de ágar têm certas vantagens em relação ao método de “pour plate” (sob camada de ágar). A morfologia das colônias de superfície é facilmente observada, melhorando a capacidade do analista para distinguir entre diferentes tipos de colônia.

A identificação de uma enterobactéria começa com a análise da morfologia da colônia obtida a partir do material semeado em placa. O meio de cultura ágar sangue

é um meio não seletivo que permite o crescimento dos microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. O ágar *Mac Conkey* permite o isolamento de Bacilos Gram-negativos e verifica a fermentação ou não da lactose. Os Gram-positivos, como regra, não crescem em Ágar *Mac Conkey*, com exceção dos *enterococcus* que poderão crescer, porém as colônias são menores (ANVISA, 2013).

3.5.4 Propriedades das superfícies da célula bacteriana

A carga superficial de microrganismos e substrato, a presença de fímbrias, flagelos, proteínas de superfície, e a produção de substância polimérica extracelular (SPE) por bactérias são recursos envolvidos no processo de adesão (CHAE et al., 2006; GOULTER et al., 2009 apud ZERAIK & NITSCHKE, 2010).

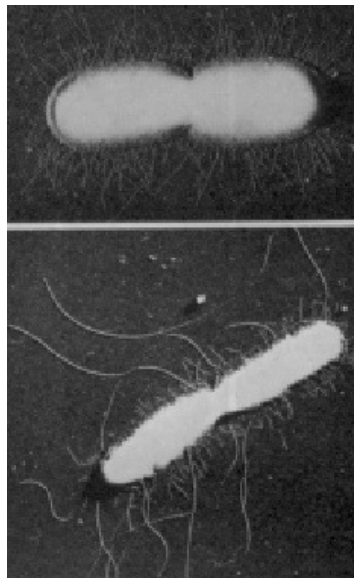
Figueiredo (2000) cita em seu estudo, pesquisas que relacionaram temperatura e tempo à capacidade de adesão de bactérias. Uma destas pesquisas, realizada por Stone e Zottola (1985), avaliou a adesão de *Pseudomonas fragi* em aço inoxidável e concluíram que o microrganismo produz fímbria em 30 minutos, a 25°C, e em 2 horas, a 4°C. Outra pesquisa citada, foi realizada por Zottola e Sasahara (1994) que demonstrou que *Yersinia enterocolitica* aderiu melhor ao aço inoxidável a 21°C do que a 35°C ou 10°C. Estes pesquisadores observaram que a uma temperatura de 35°C as células não possuíam flagelo, o que evidencia que essa estrutura é necessária para que a adesão ocorra. Observou-se, também, o efeito da variação de pH sobre a aderência, verificando que a *Y. enterocolitica* aderiu melhor em pH de 8 a 9,5 do que em pH 6, nas temperaturas de 10, 21 e 35°C. Uma vez que poucos flagelos foram observados em pH 6, este pode ter sido o fator que influenciou na capacidade de adesão do microrganismo (HERALD & ZOTTOLA, 1988 apud FIGUEIREDO 2000).

Os dados das pesquisas citadas sugerem que o aparecimento das estruturas: “fímbrias e flagelos” nos microrganismos estudados estão relacionados com condições de temperatura, pH e também com o tempo que permanecem em condições ideais específicas para cada microrganismo.

3.5.4.1 Flagelos

Os apêndices celulares, como fímbrias, pili e flagelos, ajudam na aderência da bactéria às superfícies, pois facilitam o contato entre superfícies e células (HOOD & ZOTTOLA, 1995). Esses apêndices, mostrados na figura 12, podem servir de ponte entre a célula e o substrato, anulando a repulsão eletrostática.

Figura 12 – Bacilos em divisão com numerosas fímbrias (apêndices mais curtos) e alguns poucos flagelos (apêndices mais longos), em 12.500x.



Fonte: Adaptado de Pelczar et al., 1980 apud Bossolan, 2002.

Esses apêndices também contribuem com a característica de superfície, assim como para a hidrofobicidade, a carga superficial e a energia livre de superfície, além do fato de que muitas substâncias podem estar momentaneamente associadas com a superfície da célula e afetar suas propriedades (BUSSCHER & WEERKAMP, 1987).

Muitas bactérias são móveis em virtude do *peritrichous* ou flagelos polares, e a motilidade é geralmente considerada como um fator de virulência que facilita a colonização de organismos hospedeiros ou órgãos-alvo por bactérias patogênicas (VAN HOUTT & MICHIELS, 2010). Em uma revisão bibliográfica sobre o assunto, estes autores concluíram que a presença de flagelos pode afetar a capacidade de aderência dos microrganismos por meio de diferentes mecanismos, dependendo do

tipo de bactéria. Os flagelos podem ser necessários para se movimentarem ao longo da superfície, permitindo que as forças de repulsão entre célula e superfície sejam superadas e também podem diretamente fazer a fixação nas superfícies.

3.5.4.2 Fímbrias

Alguns estudos relacionaram a presença de fímbria com a capacidade de adesão de microrganismos. A fímbria ou pili é uma estrutura filamentosa formada por subunidades de proteína encontrada em vários tipos de bactérias (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *V. cholerae*, dentre outras).

Poucos estudos correlacionam a presença de fímbrias com a capacidade de adesão à superfícies de materiais. Entretanto, quando se trata de adesão à superfície de células vivas, Dalton e March (1998) afirmam que a interação bactéria-hospedeiro é conseguida devido a existência de uma proteína na ponta ou no corpo da fímbria que a liga a receptores específicos no hospedeiro e ativa os genes hospedeiro-célula com a transdução da sinalização levando ao aumento da adesão ou invasão.

Os tipos de fímbria são classificadas com base na sua adesividade, nas suas propriedades antigênicas e físicas, ou com base em semelhanças na sequência primária de aminoácidos da subunidade da sua proteína principal (LOW et al., 1996 apud VAN HOUTD & MICHIELS, 2010).

3.5.4.3 Polissacarídeos de superfície (LPS)

Segundo van Houdt e Michiels (2010) a camada de lipopolissacarídeo tem uma finalidade na formação de biofilme¹⁰. Quando estas camadas de polilissacarídeos formam camadas externas da célula são definidos coletivamente como glicocálix e quando as camadas são rígidas e organizados em uma matriz chamam-se cápsula. A camada de LPS exterior das bactérias Gram-negativas normalmente consiste de uma superfície exposta ao antígeno, uma estrutura de núcleo e uma molécula de lipídio A que é incorporada na bicamada lipídica da membrana exterior (RUSSELL & FURR, 1986).

A pesquisa realizada por Freitas et al. (2010) estudou a formação *in vitro* de biofilme por *P. aeruginosa* e *S. aureus* na superfície de canetas odontológicas e mostrou que ambos produziram cápsula. Entretanto, o estudo de Locatelli et al. (2004) mostrou que não foi possível estabelecer uma relação entre a produção de cápsula e a adesão bacteriana em material de poli(metacrilato de metila) (PMMA) e silicone. Esse mesmo autor cita diversos estudos sobre a produção de cápsula em estafilococos tentando estabelecer uma relação com aderência bacteriana a materiais. Portanto, as pesquisas existentes não são conclusivas a respeito deste assunto.

3.5.4.4 Hidrofobicidade e hidrofiliçidade

Segundo Denyer et al. (1993), a hidrofobicidade e os componentes da superfície hidrofóbica tem papel importante na adesão bacteriana. Os autores explicam a hidrofobicidade e a carga elétrica da superfície bacteriana como forças físico-químicas envolvidas na aderência de microrganismos às superfícies sólidas.

¹⁰ São películas gelatinosas muito hidratadas constituídas por células microbianas imobilizadas numa superfície e frequentemente embebidas numa matriz constituída por substâncias poliméricas extracelulares produzidas pelos microrganismos (CAÇADOR, 2009).

Possivelmente, isto ocorre em razão da desidratação do filme de água presente na interface célula-substrato, o que possibilita a ocorrência de interações específicas de curta distância.

Segundo Hood e Zottola (1995) a hidrofobicidade também está relacionada com a presença de componentes da membrana externa do microrganismo, os quais podem apresentar variações na hidrofobicidade relacionadas com a condição de cultura. Estes autores afirmam que este fator influencia a aderência microbiana, embora não sejam bem compreendidos, já que não há evidência alguma na literatura de que a hidrofobicidade é determinante na adesão de microrganismos às várias superfícies sólidas. No entanto, a hidrofobicidade pode ser apenas um dos muitos fatores envolvidos na adesão inicial de microrganismos às superfícies.

Ao contrário, Ponsonnet (2003) relata que normalmente, as superfícies hidrofílicas apresentam melhores condições para a adesão celular do que as superfícies hidrofóbicas. Entretanto, outros autores afirmam que a aderência bacteriana envolve interações complexas entre a cepa bacteriana e a superfície do biomaterial.

Schmidt (1998) pesquisou sobre a adesão de *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* na superfície de lentes de contato de PMMA e silicone e concluiu que as bactérias com superfície hidrofóbica teriam menor tendência a colonizarem as superfícies hidrofílicas, mas quando se utilizaram bactérias com superfícies hidrofílicas, os resultados inverteram-se. Neste mesmo estudo, Schmidt (1998) inferiu que as cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis* possuem uma característica hidrofóbica, ao contrário da *P. aeruginosa* que se mostrou hidrofílica.

Após a realização de uma vasta revisão bibliográfica Locatelli (2004) mostra que vários autores sugerem que a hidrofobicidade da superfície da célula bacteriana interfere nos fenômenos de adesão celular. Mas, mesmo assim, ainda existe muita discordância entre os resultados relatados na literatura.

Atualmente existem vários métodos disponíveis para medir hidrofobicidade. Apesar dos resultados diferentes das pesquisas, a molhabilidade da superfície do substrato exerce papel importante no mecanismo de adesão de microrganismos. Assim, segundo Azeredo (1998), a avaliação qualitativa da hidrofobicidade de uma

superfície significa caracterizar o caráter hidrofílico ou hidrofóbico de uma superfície através da medição do ângulo de contato da água com a superfície.

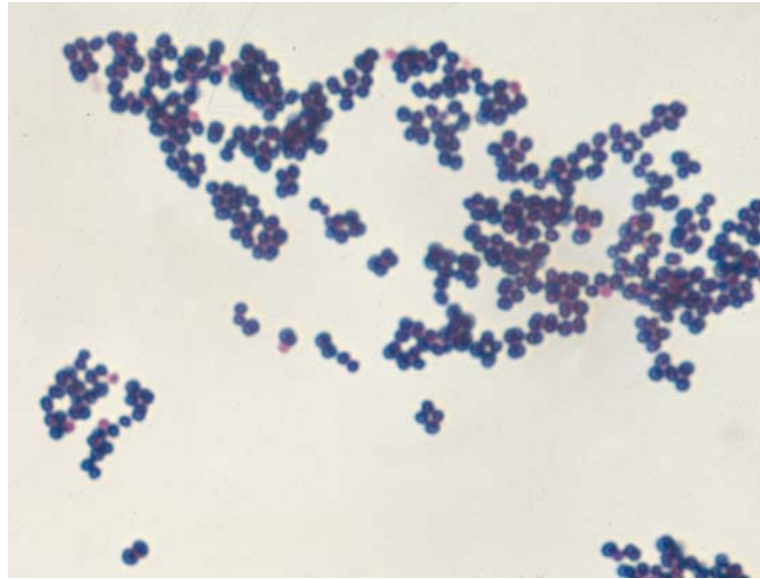
3.5.5 *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* é, sem dúvida, o patógeno humano mais importante entre as espécies de *Staphylococcus*. É encontrado no ambiente externo e em narinas anteriores de 20% a 40% dos adultos. Outros sítios de colonização incluem pregas cutâneas, períneo, axilas e vagina. Embora esse microrganismo possa formar parte da microbiota humana normal, pode produzir infecções oportunistas importantes em condições apropriadas, como em ambiente nosocomial (KONEMANN et al., 2001).

A preocupação com este microrganismo é importante devido ao grande número de cepas de *S. aureus* com perfil de multirresistência. Esses microrganismos possuem fatores específicos de virulência, os quais não se encontram em todas as cepas. Os principais fatores incluem a formação de cápsula (importante propriedade para adesão), proteína A, enzimas, hemolisinas e várias toxinas. (KONEMANN et al., 2001).

De acordo com Konemann et al. (2001) e Tortora (2005) os *Staphylococcus* tem formato de cocos, com coloração Gram-positivos, podem se apresentar isolados ou aos pares, em cadeias curtas ou agrupados e possuem várias propriedades que contribuem para sua virulência, ou seja, sua capacidade de produzir doença (FIGURA 13).

Figura 13 – Fotografia de *S. aureus* visto ao microscópio ótico.



Fonte: (RAKOSY, 2013).

Assim, confirmam os dados do Programa de Vigilância Epidemiológica e de Resistência Antimicrobiana SENTRY, que abrangeu hospitais brasileiros e latino-americanos, quando apontam a prevalência geral de infecções por *S. aureus*, sendo o primeiro em frequência nas infecções de tecidos e partes moles e bacteremias e o segundo em infecções do trato respiratório inferior (SADER et al., 2001; SADER *et al.*, 2004).

O *S. aureus* assim como o *S. epidermidis* não só representam uma proporção significativa de todos os agentes patogênicos responsáveis por infecções ortopédicas-implante, mas eles podem levar à dramática metastática, com risco de complicações e de morte.

3.5.6 Susceptibilidade a antimicrobianos

A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno genético, relacionado à existência de genes do microrganismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos para impedir a ação das drogas, por meio da inativação da droga por enzimas; alteração da permeabilidade bacteriana à droga; alteração de sistema de transporte na célula;

retirada ativa da droga no meio intracelular; alteração do receptor da droga; modificação do sistema metabólico ativo para a droga e síntese de vias metabólicas alternativas (MURRAY, 1999; TAVARES, 2000).

O microrganismo adquire a resistência à antibióticos que poderá ter sua origem, em mutações que ocorrem no microrganismo durante seu processo reprodutivo e resultam em erros de cópia na sequência de bases que formam o DNA cromossômico, responsáveis pelo código genético. A outra origem da resistência é a importação dos genes relacionados a essa característica, chamada de resistência transferível que se dá através dos mecanismos transdução, transformação e conjugação (TAVARES, 2000). A transdução é a transferência de DNA de uma célula bacteriana viva para outra através de bacteriófagos; a transformação é o processo de transferência do DNA de uma célula morta para uma célula bacteriana viva, a qual é transformada; e a conjugação é um processo de recombinação sexual no qual duas bactérias, com fatores sexuais diferentes, entram em contato por meio dos pili, transferindo DNA da célula para a célula (KELLY, 2009).

Alguns microrganismos sofreram grandes modificações na sensibilidade aos antimicrobianos com o passar dos anos. Dentre esses destacam-se os estafilococos, as enterobactérias, a *P. aeruginosa*, o *Acinetobacter baumannii* e, mais recentemente, os hemófilos, gonococos, enterococos e pneumococos. Atualmente, este assunto é motivo de grande preocupação, pois, devido alterações da resistência entre as bactérias Gram-positivas, elas vêm se tornando bactérias problema na terapêutica anti-infecciosa (TAVARES, 2000).

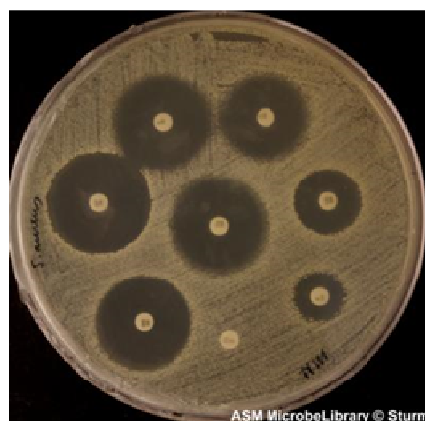
A eficiência destes mecanismos de resistência desenvolvidos pelos microrganismos pode ser percebida no estudo do SENTRY, citado anteriormente, que foi desenvolvido em 12 hospitais brasileiros. Foi avaliado o perfil de resistência bacteriana dos microrganismos encontrados em exames realizados de pacientes: resistência à imipenem entre *P. aeruginosa* (69,8% de sensibilidade) e *Acinetobacter spp.* (88,1% de sensibilidade); produção de beta lactamase de espectro estendido (ESBL) entre *Klebsiella pneumoniae* (48,4%) e *E. coli* (8,9%), resistência às cefalosporinas de terceira geração entre *Enterobacter spp.* (68,1% susceptíveis a ceftazidima) e resistência a oxacilina entre *S. aureus* (34,0%) e *Staphylococcus coagulase negativa (SCN)* (80,1%). Apenas os carbapenêmicos (88,1% para 89,3%

de sensibilidade) apresentaram atividade razoável contra os *Acinetobacter* spp. isolados (SADER et al., 2001).

A escolha dos antibióticos para teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA) deve ser feita através de estudos de vigilância locais e regionais e considerados na escolha da terapêutica antimicrobiana empírica (MORTARI et al., 2008).

Existem vários métodos laboratoriais para medir a sensibilidade *in vitro* das bactérias aos agentes antimicrobianos. Utiliza-se, rotineiramente, o método de disco-difusão em ágar (método *Kirby Bauer*) para testar os patógenos mais comuns, de crescimento rápido e determinadas bactérias fastidiosas (ANVISA, 2004). Esse método fornece resultados qualitativos, por meio do qual as bactérias são categorizadas em: sensíveis, resistentes ou intermediárias. Utiliza-se, também, o teste de ágar-diluição para testar bactérias fastidiosas, que não apresentam bom crescimento em caldo, como por exemplo, as bactérias anaeróbias. Para uma avaliação qualitativa utiliza-se os testes de macrodiluição e microdiluição, os quais possibilitam fazer uma análise da concentração inibitória mínima (CIM) de antimicrobianos capazes de inibir o crescimento bacteriano (ANVISA, 2004; *CLSI*, 2005; 2008) (FIGURA 14).

Figura 14 - Teste de susceptibilidade utilizando método de disco-difusão de *Kirby Bauer*.



Fonte: <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory>. Acesso em: 20/05/2012.

Existem, também, os métodos automatizados que permitem a execução dos testes de susceptibilidade com mais rapidez. O VITEK[®] 2 é um desses sistemas, utilizado

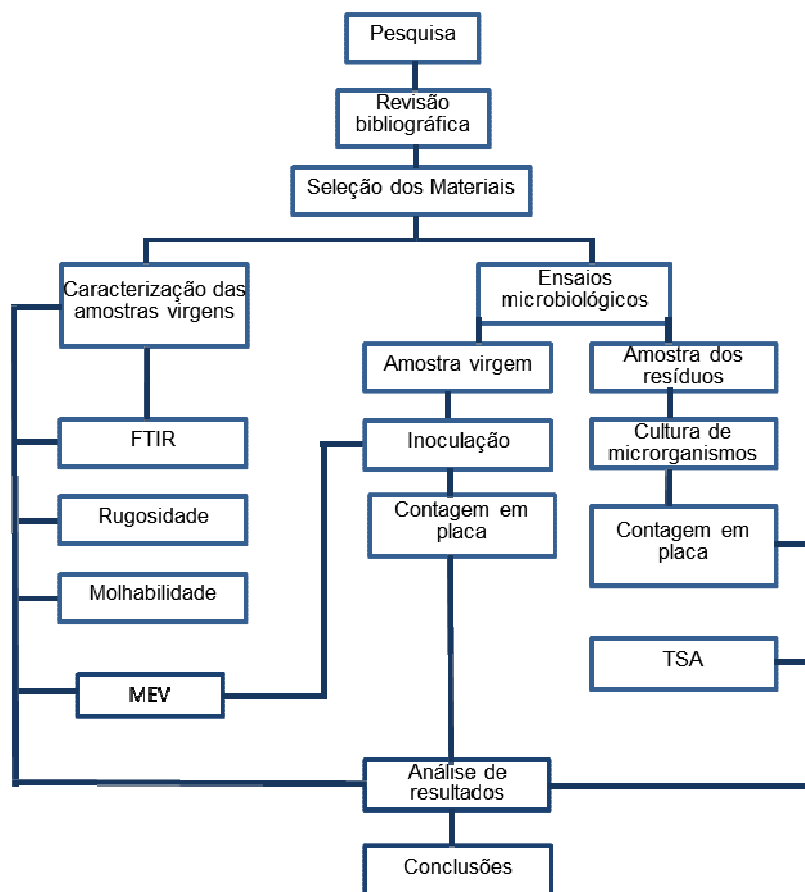
para a identificação da espécie bacteriana após crescimento em meios de cultura sólidos. As determinações são feitas por método colorimétrico. Para a realização de VITEK® 2 é necessário realizar suspensões de bactérias a partir das colônias que vão ser pesquisadas e definir quais cartões de teste será utilizado de acordo com o tipo de microrganismo em estudo, e se é para identificação da espécie ou antibiograma (GOMES, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental de caráter comparativo com a finalidade de verificar a influência do processo de segregação e das características físico-químicas (propriedades) dos polímeros, sobre a aderência de microrganismos na superfície das embalagens de SPGV presentes no RSS.

4.1 FLUXOGRAMA METODOLÓGICO

Figura 15 - Fluxograma do desenvolvimento do estudo.



4.2 LOCAL DO ESTUDO

O local escolhido para a realização deste estudo foi o Centro de Terapia Intensiva-1 (CTI-1) do Hospital Público Regional de Betim (HPRB).

4.3 SELEÇÃO DE AMOSTRAS

As SPGV adquiridas no ano de 2012 pelo Hospital Público Regional de Betim foram de apenas 2 fabricantes, nomeados nesta pesquisa de fabricante X e Y. O fabricante X registra no rótulo de suas embalagens a composição do polímero como sendo PE. O fabricante Y disponibiliza no site da empresa as instruções de uso das soluções de sua fabricação onde consta, também, quais os tipos de polímeros utilizados nas embalagens. Para maior segurança sobre os tipos de polímero utilizados nas embalagens Y, foi feita uma consulta formal ao fabricante. Assim esclareceu-se que a embalagem trilaminada tem na sua camada mais interna (que fica em contato com a solução) um filme de poliéster; na camada intermediária, um filme de PE e na camada mais externa, um copolímero de PP.

Definiu-se como amostra dessa pesquisa as embalagens de PE do fabricante X, embalagens de PE fabricante Y e embalagens trilaminadas do fabricante Y, cuja superfície externa é de filme de PP. Para facilitar a identificação das amostras das embalagens utilizou-se a nomenclatura PEX, PEY e PPY, respectivamente.

4.4 COLETA DE AMOSTRAS

A fim de verificar a hipótese de que embalagens segregadas seriam menos susceptíveis à contaminação por não ter contato com os demais resíduos do hospital e, portanto, poderiam ser mais facilmente recicladas, procedeu-se a coleta das amostras de formas distintas. A coleta de dados para esta pesquisa foi realizada em três tipos de amostras: embalagens antes do uso, as quais foram nomeadas como

“amostras virgens”; embalagens segregadas em lixeira separada após o uso, nomeadas por “amostras segregadas” e; embalagens não segregadas após o uso, isto é, colocadas juntamente com outros resíduos, nomeadas por “amostras não segregadas”. Para as amostras virgens utilizou-se as embalagens de SPGV de PE do fabricante X e embalagens de PE e PP do fabricante Y. Para as amostras segregadas e não segregadas utilizou-se as embalagens de PE dos 2 fabricantes (PEX e PEY), pois, no período destinado a coleta das amostras o fabricante Y não mais fornecia estas soluções ao HPRB, já que as compras desse hospital são feitas através de processos públicos de licitação com livre concorrência.

4.4.1 Período de coleta de dados

As amostras segregadas e não segregadas foram coletadas no CTI, entre os dias 05 e 21 de março de 2013. Os dias da coleta e os tipos de embalagens coletadas foram feitas de forma aleatória, conforme a disponibilidade das amostras no CTI-1. O horário definido para segregação foi de 7h30min até às 12h, devido ao maior número de trocas de soluções injetáveis, conforme a rotina do CTI-1, e também por ser o horário aproximado de troca dos sacos de lixo pelo serviço de limpeza do hospital. As amostras não segregadas foram coletadas no mesmo período, no horário entre 17 e 18h, logo após o transporte dos resíduos para o abrigo externo dos resíduos do hospital. As amostras virgens foram preparadas para os ensaios de caracterização dos materiais e análise da aderência de microrganismos entre os meses de abril e maio de 2013.

4.4.2 Procedimento técnico para coleta e preparação das amostras de resíduos

Com a finalidade de comparar a aderência de microrganismos entre as amostras segregadas e não segregadas utilizou-se uma lixeira de cor diferente para separação das embalagens de SPGV. A lixeira foi preparada para a coleta das amostras, sendo lavada externa e internamente com água e sabão, e seca com

compressas estéreis. Foi friccionado álcool a 70% na parte interna e externa, conforme orientações para higienização de superfícies de acordo com o manual da ANVISA (2010). Foi utilizado saco de lixo branco, específico para coleta de resíduos infectantes, no interior da lixeira (HPRB, 2012). A lixeira foi identificada com rótulo explicativo informando que as embalagens de solução salina, água bidestilada, ringer lactato utilizadas nos pacientes deveriam ser ali depositadas (FIGURA 16). Os profissionais, presentes no CTI nos dias de coleta, foram orientados para o descarte das embalagens de SPGV na lixeira específica. Dessa forma as amostras segregadas foram coletadas imediatamente após o descarte.

Figura 16 – Recipientes de acondicionamento de resíduos: azul para amostras segregadas e branco para amostras não segregadas.



Fonte: Foto da autora.

Para a organização dos resultados foi elaborada uma ficha de acordo com a ABNT NBR 10007/2004, com os seguintes dados:

- a) nome do técnico de amostragem (a pesquisadora);
- b) data e hora da coleta;
- c) identificação da origem do resíduo;
- d) número da amostra;
- e) descrição do local da coleta;
- f) determinações a serem efetuadas no laboratório;
- g) observações.

As embalagens utilizadas na administração de nutrições enterais ou parenterais ou que tiveram retorno visível de sangue para o interior do frasco foram excluídas do estudo. Também não foram coletadas as amostras provenientes dos leitos onde o paciente encontrava-se com orientações de precauções de contato devido a isolamento de microrganismos multirresistentes, ou com doenças infecto-contagiosas, pois o interesse desta pesquisa é pelo perfil microbiológico habitual do local em estudo.

A pesquisadora usou técnica asséptica para o manuseio das amostras, incluindo como paramentos: gorro, máscara, luvas e capotes estéreis.

4.4.3 Preparação das amostras para os ensaios de aderência dos microrganismos

Para verificação da aderência dos microrganismos na amostra segregada foi definida a contagem de colônias na superfície externa das embalagens, na face oposta ao rótulo, na parte do frasco acima da linha imaginária que divide o frasco ao meio (FIGURA 17).

Figura 17 – Fotografia da coleta de amostras segregadas.



Fonte: Foto da autora.

A região do frasco foi definida para que não se corresse o risco de coletar amostras duas vezes na mesma área do mesmo frasco já que, após esta coleta, ele foi descartado na lixeira de resíduos infectantes, onde serão coletadas as amostras não segregadas. Utilizou-se para amostras não segregadas a região abaixo da linha imaginária.

A preparação destas amostras foi feita no CTI-1, na sala de preparo de materiais para esterilização. A bancada foi higienizada de acordo com o manual da ANVISA (2010) e protegida com campo cirúrgico esterilizado. Foram utilizadas placas de contato Petrifilm para contagem de aeróbios (Petrifilm/AC) do fabricante 3M para análise da microbiota (certificado de conformidade do produto no anexo 3). As placas foram encaminhadas imediatamente ao laboratório de microbiologia do HPRB. A leitura dos resultados foi feita conforme descrito no item 4.5 que trata das análises microbiológicas.

O manuseio das amostras não segregadas foi feito na sala de resíduos recicláveis, sobre uma mesa de aço inox, previamente higienizada de acordo com o manual da ANVISA (2010) e protegida com campo cirúrgico esterilizado. Foram utilizadas placas de contato Petrifilm para contagem de aeróbios (Petrifilm/AC) para análise da microbiota. As placas foram encaminhadas imediatamente ao laboratório de microbiologia do HPRB. A leitura dos resultados foi feita conforme descrito no item 4.5.2 que trata da cultura de microrganismos.

4.4.4 Ensaios de aderência dos microrganismos nas embalagens virgens

Com o objetivo de se avaliar a influência do tipo de polímero na aderência de microrganismo foram simulados ensaios onde diferentes polímeros foram colocados em contato com uma suspensão contendo microrganismos em condições controladas. Foram utilizadas amostras de 2cm² de cada polímero (PEX, PEY e PPY), os quais foram identificados por uma ranhura na superfície interna e lavadas com detergente neutro, enxaguadas em água corrente e secas em papel filtro. Em seguida, as amostras foram enxaguadas novamente com água bidestilada e friccionadas com gaze estéril umedecidas com álcool 70% em todos os lados da

amostra por três vezes. As amostras foram envolvidas com compressa estéril até o início da inoculação por cepa padrão de *S. aureus* ATCC®¹¹ 25923, descrito no item 4.5.5.

4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

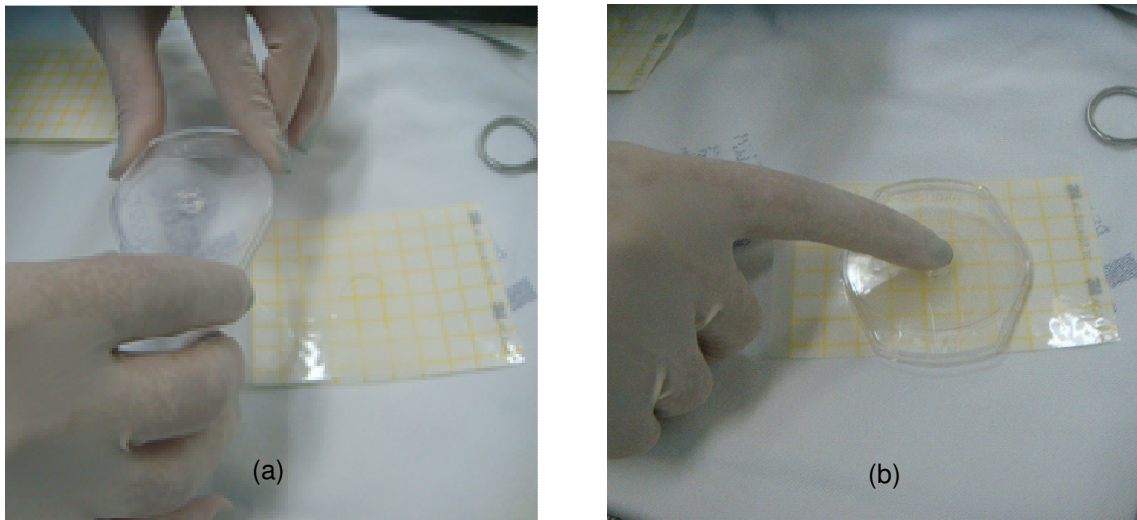
4.5.1 Preparo das placas de contato

As placas de contato Petrifilm/AC 3M utilizadas nos ensaios microbiológicos foram preparadas e conservadas de acordo com as recomendações do fabricante e respeitadas as orientações da ANVISA (2010) para higienização de superfícies. Assim, foram transportadas em caixa térmica até o laboratório de análises microbiológicas e conservadas sob refrigeração à temperatura entre 2 e 8°C. Para geleificação do meio de cultura das placas Petrifilm/AC 3M utilizou-se solução de água peptonada (peptona 0,1% p/v) preparada pelo serviço de farmacotécnica do HPRB (peptona 1,0g e água destilada/deionizada 1000ml). Essa solução foi acondicionada em frasco de vidro estéril, esterilizada em autoclave a 121°C por 15 minutos e utilizada dentro do período de 14 dias. Levantou-se o filme transparente superior das placas Petrifilm e adicionou-se 1 ml de água peptonada 0,1% p/v, lentamente, ao centro da placa, sobre o cartão quadriculado, de forma que se formasse uma única gota. Abaixou-se o filme superior sobre a gota e, em seguida, o difusor foi pressionado levemente sobre a área, com o cuidado de não ser arrastado sobre o filme como mostrado na figura 18a e 18b; removeu-se o difusor e aguardou-se 30 minutos para que ocorresse a formação de gel do meio de cultura. As placas foram armazenadas na geladeira de meios de cultura do laboratório, com controle de

¹¹ ATCC® é uma marca registrada da American Type Culture Collection. É uma coleção americana de tipos de cepas para cultura (ATCC®), ou derivados disponíveis comercialmente destas estirpes, são especificados para execução de procedimentos de controle de qualidade em laboratório (FIOCRUZ, 2013).

temperatura efetivo, entre 2-8°C. O resultado foi dado em número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) pela área do molde, ou seja, n° UFC/20cm² (FIGURA 18).

Figura 18(a) e (b) – Fotografia do preparo das placas Petrifilm/AC



Fonte: Foto da autora

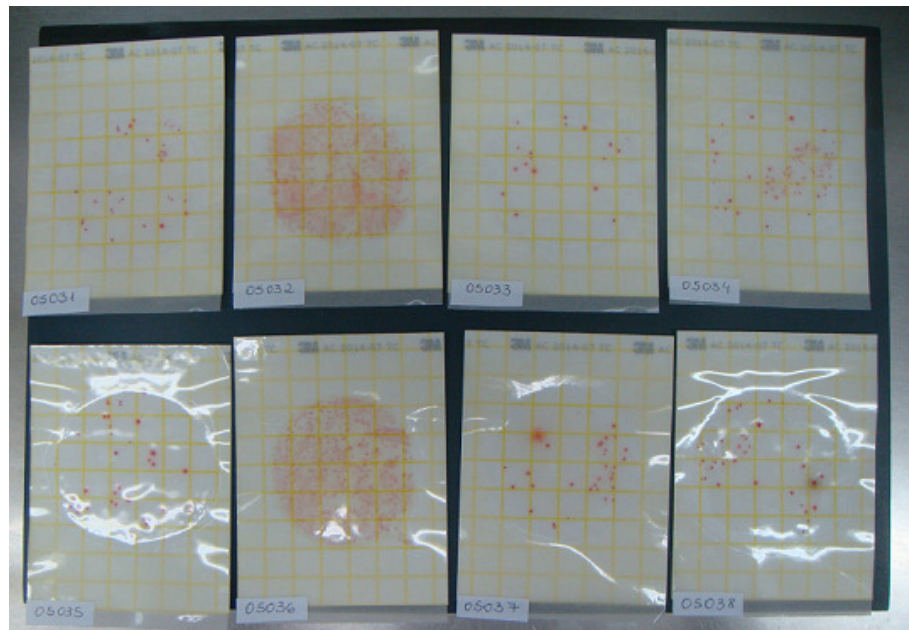
4.5.2 Cultura de microrganismos mesófilos aeróbios

A fim de identificar os microrganismos aderidos às superfícies das amostras segregadas e não segregadas foi realizada cultura e identificação de microrganismos mesófilos aeróbios. A partir desses resultados realizou-se o teste de susceptibilidade a antimicrobianos dos microrganismos identificados.

Para coleta das amostras para cultura pressionou-se o filme transparente da placa Petrifilm/AC sobre a área predefinida da embalagem por alguns segundos, de modo que toda a área demarcada pelo difusor ficasse em contato com a superfície. Em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica (SOLAB – SL 01), com o lado do filme transparente voltado para cima a uma temperatura de (35±1)°C por (48±3) horas. Decorrido o tempo de crescimento bacteriano, com o auxílio de uma lupa, fez-se a contagem de colônias nas placas, pela pesquisadora (FIGURA 19). As placas cujo crescimento das colônias foi incontável, estipulou-se o valor de

500UFC/20cm² para efeito de visualização dos gráficos apresentados no ítem 5.2. As instruções do fabricante para contagem das colônias estão demonstradas no anexo 4. Após a contagem, as colônias foram isoladas em meios de cultura para identificação. Este método foi adaptado ao método recomendado pela AOAC (2000) da metodologia Petrifilm.

Figura 19 – Placas Petrifil/AC para contagem de colônias.

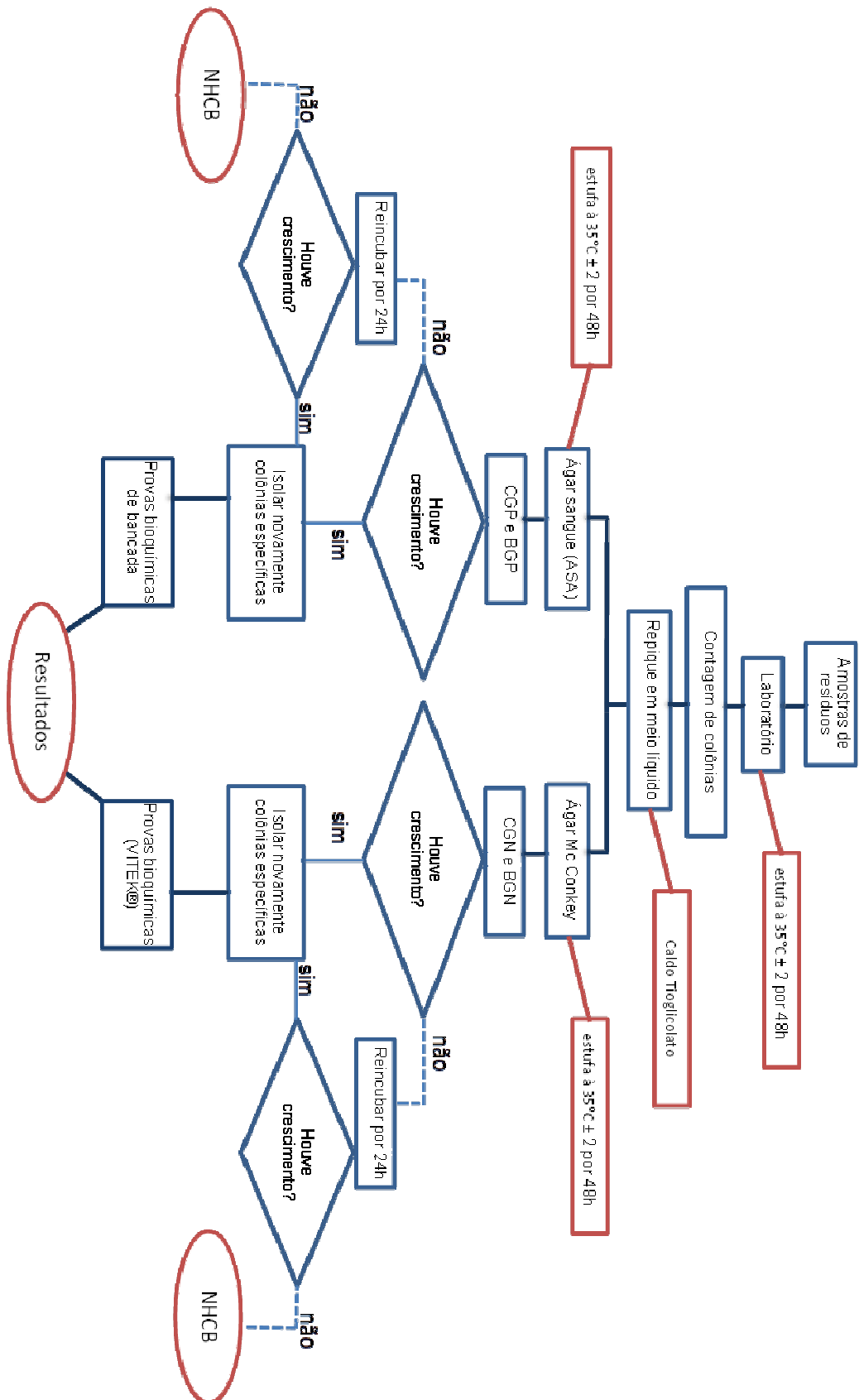


Fonte: Foto da autora

4.5.3 Identificação dos microrganismos

Esta pesquisa pretende relacionar alguns aspectos sobre os riscos inerentes aos RSS associados à aderência de microrganismos patogênicos, assim torna-se necessária a identificação dos principais microrganismos comuns à flora hospitalar do local de estudo, bem como aqueles considerados de importância epidemiológica pela ANVISA (2013). O fluxograma mostrado na figura 20 ilustra o procedimento seguido.

Figura 20 - Fluxograma de identificação dos microrganismos.

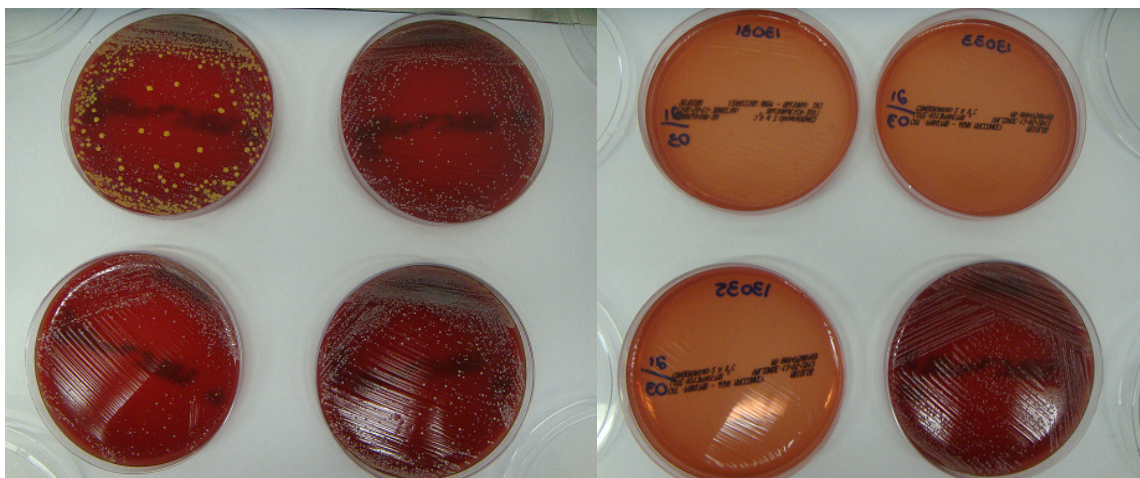


Após a contagem das colônias nas placas Petrifilm/AC, com o auxílio de um “swab”, transferiu-se as colônias para um meio líquido para cultivo das células bacterianas. Para diferenciação entre microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos foram utilizados os meios ágar sangue e ágar Mac Conkey MBiolog®. A sequência de testes para identificação dos microrganismos baseou-se nos protocolos orientados pela ANVISA (2013). Para testes de sensibilidade dos microrganismos Gram-negativos utilizou-se ágar Mueller-Hinton para o cultivo, pois a maioria dos patógenos crescem satisfatoriamente nesse meio.

4.5.4 Testes bioquímicos e fisiológicos

A partir de cada placa Petrifilm/AC fez-se o plantio das colônias em um tubo contendo caldo tioglicolato. Os tubos foram incubados por 24h em estufa a $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ e depois, feito o repique de cada tubo em uma placa de ágar sangue e outra de ágar Mac Conkey, para diferenciação entre *coccus* e bastonetes Gram-positivos dos Gram-negativos (FIGURA 21). Na sequência, foram feitos testes bioquímicos e fisiológicos para identificação das espécies.

Figura 21 - Placas com ágar sangue (escuras) e ágar Mac Conkey (claras)



Fonte: Foto da autora

A primeira prova realizada foi a catalase, para identificação dos coccus Gram-positivos (CGP). Para aqueles que tiveram resultado positivo, ou seja, os CGP-catalase positivos, fez-se a prova de coagulase para diferenciação das espécies: *S. aureus* e *Staphylococcus* spp coagulase negativa. Os *Micrococcus* foram identificados por sua morfologia característica, que ao serem corados no Gram aparecem em formato de tétrades, ou pela coloração de suas colônias (amarelas ou róseas). Os CGP-catalase negativa podem ser os *Streptococcus* ou *Enterococcus*. Os *Streptococcus* foram identificados por sua morfologia característica na placa de ágar podendo apresentar: hemólise total (beta), parcial (alfa, de cor esverdeada) ou nenhuma (gama). Em seguida realizou-se o teste de bile esculina e NaCl 6,5%, onde o resultado positivo para os dois testes sugere que sejam os *Enterococcus*. Para identificação dos enterococcus mais importantes realizaram-se o teste de arabinose e de sorbitol. O teste de arabinose tem resultado positivo para *E. faecium* e negativo para o *E. faecalis*; e o teste de sorbitol tem resultado positivo para *E. faecium*, podendo variar para o *E. faecalis*.

Para identificar as colônias (Gram-negativas) que cresceram no ágar *Mac Conkey* foram utilizados cartões (*AST-N105*) específicos para identificação de bastonetes Gram-negativos (BGN) pelo sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (BioMérieux).

4.5.5 Testes de Susceptibilidade aos Antimicrobianos (TSA)

As metodologias utilizadas para testar a susceptibilidade aos antimicrobianos foram duas: o teste de disco-difusão em ágar, descrito por *Kirby e Bauer (CLSI, 2013)* e os cartões para teste de sensibilidade do sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (*BioMérieux*). Esses testes são definidos como semi-quantitativos, pois fornecem resultados em categorias definidas como: sensível, intermediário e resistente aos antimicrobianos testados. A escolha dos antimicrobianos é feita de acordo com a preconização do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013)* e também, considerando-se a utilização dos agentes antimicrobianos no HPRB conforme relatórios emitidos pela Comissão de Controle de Infecções Hospitalares (CCIH). Os

microbianos definidos para cada microrganismo identificado está demonstrado no quadro da figura 22.

Figura 22 – Quadro: Antibióticos testados em cada microrganismo

Microrganismo	Antibiótico testado
<i>Staphylococcus</i> spp. coag neg	Cefoxetina/Oxacilina
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Meropenem, Imipenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Meropenem, Amicacina, Imipenem, Cefepime
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Meropenem, Imipenem, Ertapenem
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
<i>Enterococcus faecalis</i>	Vancomicina
<i>Enterobacter cloacae</i>	Meropenem, Imipenem, Ertapenem
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Meropenem, Imipenem, Ertapenem

4.5.6 Análise da aderência de bactérias

A inoculação das amostras foi realizada para avaliar a aderência de microrganismos na superfície dos polímeros PEX, PEY e PPY. Esse procedimento foi realizado na área de alcance do bico de Bunsen utilizando paramentação de técnica asséptica e materiais estéreis. O inóculo bacteriano foi transferido para tubos de ensaio contendo 3ml de solução salina 0,9%, com auxílio de uma alça bacteriológica, e agitados veementemente. Foi feita comparação visual entre o tubo contendo o inóculo com o tubo padrão 0,5 da escala *Mc Farland* (ANEXO 5), o qual corresponde a $1,5 \times 10^8$ bactérias/ml, e a partir dessa solução foram feitas mais três diluições em solução salina 0,9%: 1:100ml, 1:50ml e 1:10ml, respectivamente. Para cada diluição foram utilizadas três amostras de cada polímero. Estas soluções foram colocadas em placas de petri estéreis, onde foram depositadas as amostras dos polímeros, e incubadas por 24h a $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ em estufa bacteriológica. Após o período de incubação, as amostras foram retiradas das placas de Petri com auxílio de uma pinça estéril e lavadas com solução salina 0,9% para retirada das células planctônicas e secas em estufa. Sequencialmente, as placas foram manipuladas

com auxílio de pinça estéril e pressionadas levemente sobre a superfície do filme transparente das placas Petrifilm e incubadas novamente a $(35\pm 1)^\circ\text{C}$ por 48 horas. Após este tempo, procedeu-se a contagem das colônias.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS POLIMÉRICOS

Para caracterização dos polímeros foram preparadas 18 amostras cortando-se pedaços de diferentes tamanhos das embalagens, representativos do universo estudado. Uma amostra de cada polímero foi submetida à análise no rugosímetro, goniômetro e FTIR. Imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas de amostras virgens e amostras virgens inoculadas com *S aureus*. Para os ensaios de FTIR e rugosidade as amostras foram cortadas em tamanhos de 2cm^2 . Para ângulo de contato as amostras foram cortadas em tamanhos de 0,5cm para melhor adaptação ao porta amostras do equipamento. Em seguida as amostras foram lavadas com detergente neutro, enxaguadas com água deionizada e secas em papel de filtro antes de cada medida. Após a limpeza, tomou-se o cuidado de não toca-las com as mãos, evitando-se o acúmulo de gordura na superfície e consequente alteração dos resultados. Foram utilizadas luvas e pinças para o manuseio das amostras.

4.6.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

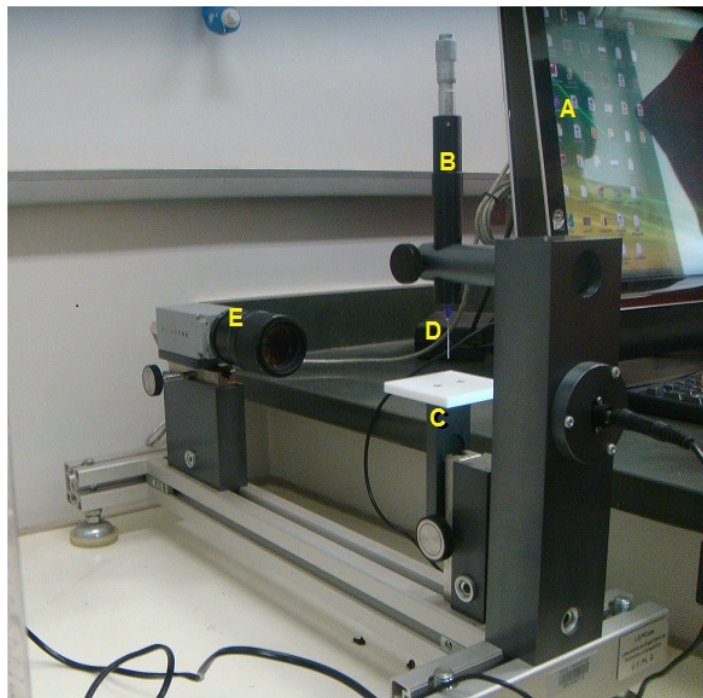
Os polímeros foram caracterizados por FTIR para identificação da composição química do material. Foram preparadas três amostras, sendo uma de cada polímero, PEX, PEY e PPY. O equipamento utilizado foi o modelo IRPrestige-21, Shimadzu, com resolução de 4cm^{-1} , com comprimento de onda na faixa de 4.000 a 400cm^{-1} , de acordo com orientações do fabricante do equipamento, utilizado para filmes finos

<25 mm. As amostras foram colocadas diretamente sobre o cristal de ATR e analisadas na superfície externa das embalagens.

4.6.2 Medida de ângulo de contato

A avaliação da molhabilidade de uma superfície envolve a caracterização do caráter hidrofóbico ou hidrofílico através da medição do ângulo de contato entre a superfície e a água. Estas medidas foram feitas no Laboratório de Engenharia de Polímeros e Compósitos (LEPCOM) do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal de Minas Gerais, utilizando-se o goniômetro Digidrop (FIGURA 23), em temperatura ambiente (20 °C).

Figura 23 – Goniômetro Digitop - UFMG: Ponto A: Computador; ponto B: Dispositivo de ejeção da gota de água; ponto C: Suporte para a amostra; ponto D: Agulha de gotejamento; ponto E: Câmera fotográfica.



Fonte: Foto da autora

A medida do ângulo de contato (θ) foi dada pela média de dez medidas consecutivas em cada amostra. Cada uma destas medidas equivale à média das medidas dos ângulos direito e esquerdo da gota de água com a superfície da amostra. Realizou-se a deposição de uma gota de água deionizada de volume padronizado ($6\mu\text{l}$) por meio de um dispositivo de gotejamento do aparelho. A gota foi ejetada pelo bico gotejador de forma que permanecesse presa à ponta da agulha sem cair sobre a amostra (FIGURA 24). Então, o suporte onde foi colocada a amostra foi levado ao encontro da gota, sem mover a agulha em torno da mesma, para evitar distorções nos resultados.

Figura 24 – Bico gotejador do goniômetro Digitop



Fonte: Foto da autora

Para definição da característica hidrofílica ou hidrofóbica das amostras utilizou-se o parâmetro utilizado por Lima et al. (2011) e van Oss e Giese (1995), segundo os quais uma superfície é considerada hidrofílica quando o ângulo de contacto é inferior a 50° enquanto uma superfície hidrofóbica tem um ângulo de contato acima de 50° .

4.6.3 Rugosidade

Para o ensaio de rugosidade foi utilizado o rugosímetro Mitutoyo, modelo SJ-301 no laboratório de caracterização de materiais (LCM) do CEFET-MG (FIGURA 25). As amostras foram fixadas em lâminas de vidro, com cola epóxi, para facilitar a execução do ensaio. Utilizaram-se os parâmetros de amplitude R_a e R_y de acordo com a norma DIN 4768; e o comprimento de medição (*cut-off*) foi de 0,8mm. Assim, mediu-se a rugosidade em 4 posições distintas e equidistantes em cada amostra.

Figura 25 – Rugosímetro – LCM/CEFET-MG.



Fonte: Foto da autora

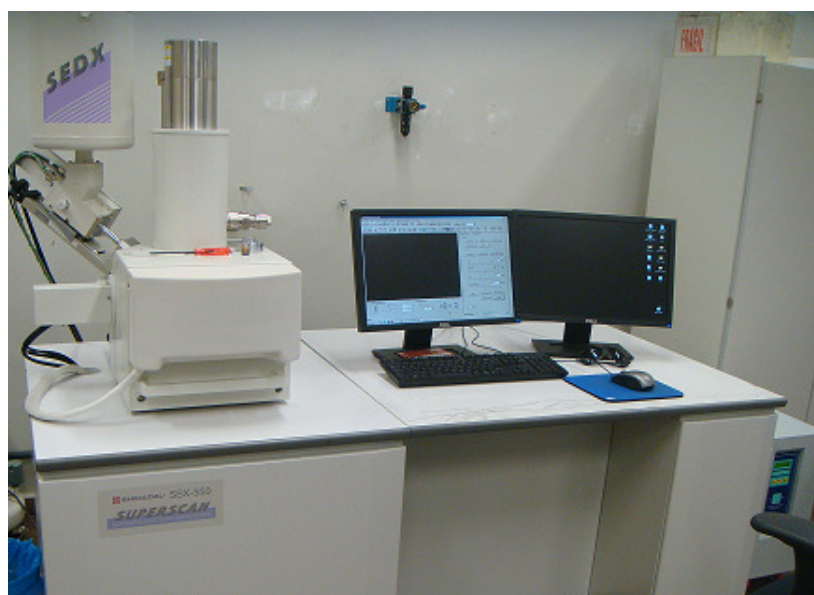
4.6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Uma amostra virgem de cada polímero foi examinada através do MEV, modelo SSX 550, da Shimadzu, no LCM do CEFET-MG. Foram utilizados aumentos de 100 e 300x para observação da morfologia das superfícies. As amostras foram recobertas com ouro visando melhoria da resolução das imagens.

Outras duas amostras dos polímeros (PEX, PEY e PPY) foram inoculadas com *S aureus* (ATCC[®] 25923) e examinadas ao MEV em aumentos de 3000 e 5000x para

visualização das células bacterianas aderidas. A metodologia utilizada para inoculação das amostras foi descrita anteriormente, no ítem 4.5.6. Essas amostras foram preparadas no Centro de Microscopia da UFMG de acordo com o protocolo de processamento de amostras. As etapas são descritas como fixação, desidratação e secagem pelo método do “ponto crítico”. Após a inoculação, as amostras foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato 0,1 M, por 12 horas. Depois foram lavadas com tampão cacodilato 0,1 M para, então, proceder a pó-fixação com tetróxido de ósmio 1% (OsO₄), por 1h, e foram novamente lavadas em solução tampão. As amostras foram imersas em ácido tânico 1%, em tampão cacodilato durante 20min e novamente colocadas em tetróxido de ósmio 1% (OsO₄). Em seguida, as amostras foram lavadas com água destilada e transferidas para o porta amostras do aparelho de ponto crítico para serem desidratadas com soluções crescentes de álcool etílico a 35, 50, 70, 85, 95% e 100%. Para assegurar a remoção completa da água foi efetuada a técnica de ponto crítico em CO₂ (CPD 030 Balzers, Liechtenstein), descrita no apêndice B, e em seguida as amostras foram metalizadas por meio de deposição de íons Au. Concluído o preparo das amostras, elas foram acondicionadas em recipiente fechado contendo sílica gel e levadas ao MEV (FIGURA 26).

Figura 26 – Microscópio de Varredura Eletrônica - LCM/ CEFET-MG



Fonte: Foto da autora

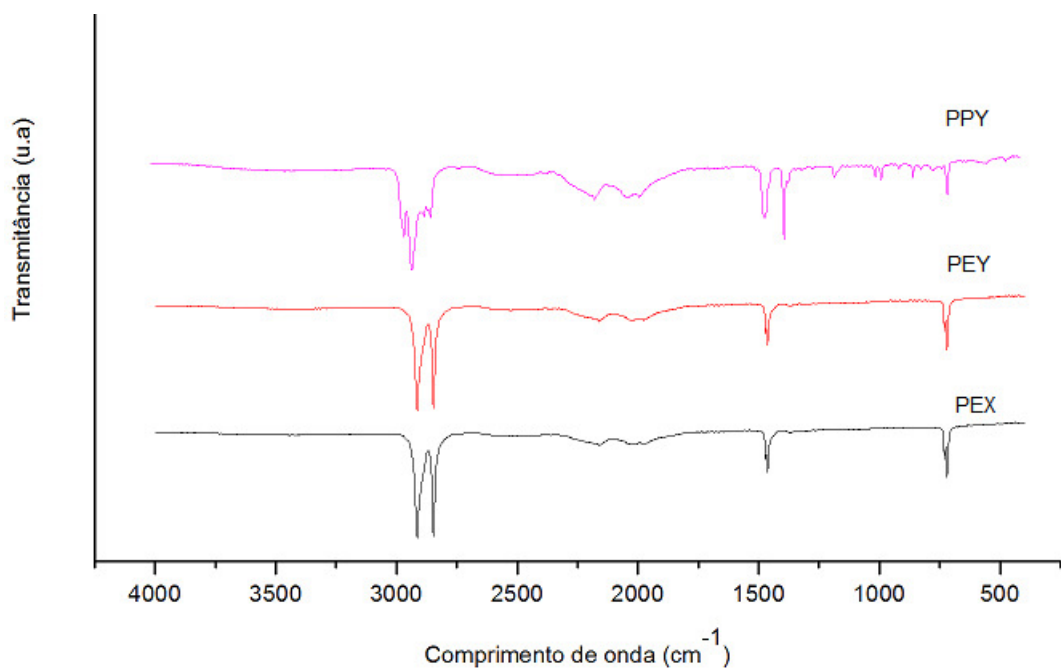
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

Os polímeros avaliados apresentam as seguintes características:

Os resultados dos ensaios de FTIR foram dados em valores de transmitância (u.a). Assim, os gráficos foram plotados e apresentados na figura 27, os quais apresentam espectros da superfície externa das amostras de PEX, PEY e PPY. Esses espectros foram comparados com aqueles dos bancos de espectros demonstrados no item 3.3.1.

Figura 27 – Espectros de FTIR das amostras PEX, PEY e PPY



Após a análise e comparação dos espectros das amostras de PEX, PEY e PPY, conclui-se que as amostras PEX e PEY são de polietileno e as PPY são de polipropileno. Estes ensaios confirmam as informações fornecidas pelos fabricantes X e Y sobre a composição dos polímeros utilizados nas embalagens.

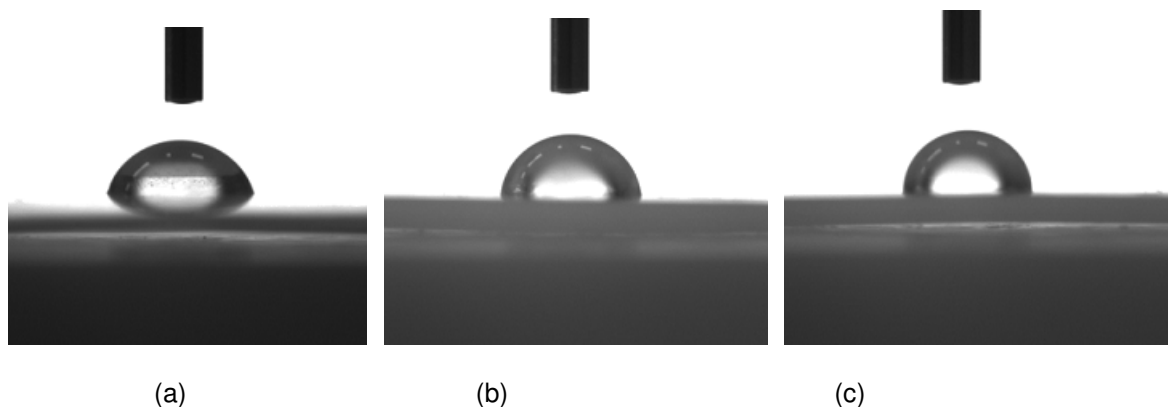
5.1.1 Ângulo de contato

A média das dez medidas de ângulo de contato de cada amostra foram comparadas ao parâmetro de hidrofobicidade utilizado. Observou-se que todas as amostras, PPY, PEX e PEY, apresentaram ângulo de contato acima de 50° e, portanto, apresentam características hidrofóbicas (TABELA 5). Pode-se observar que o PPY foi o material que apresentou menor ângulo de contato, conseqüentemente pode ser considerado como o material menos hidrofóbico. É possível observar esta característica das amostras nas fotografias da figura 27a, b e c, respectivamente. Esse resultado sugere que as embalagens PPY podem apresentar uma tendência a ter menor aderência de bactérias se comparado aos outros dois. Pois, superfícies hidrofóbicas ou menos hidrofílicas, geralmente têm maior adesão de alguns microrganismos como por exemplo, *S. aureus* (BUSSCHER ET AL., 1990; CHAVES, 2004).

Tabela 5 – Medidas de ângulo de contato.

Amostra	Ângulo	Desvio padrão
(a) PPY	71,80	0,07
(b) PEX	83,32	0,07
(c) PEY	89,10	0,03

Figura 28 - Fotografia da gota de água sobre as superfícies dos polímeros PPY(a), PEX(b) e PEY(c)



Fonte: Foto da autora

Teixeira e Oliveira (1999) pesquisaram sobre a aderência de bactérias em PP, PVC, PEAD e PMMA. Esses autores realizaram medidas de ângulo de contato dos materiais estudados e encontraram o valor de $(83,0 \pm 2,5)^\circ$ para o PP. Já, Peli, (2004) encontrou ângulo de 90° . E ainda, de acordo com o estudo Schneider et al. (2012), o valor mensurado do ângulo de contato do PP foi de 75° . Esse último foi o que mais se aproximou do valor obtido nesta pesquisa. Teixeira e Oliveira (1999) também analisaram o PEAD e encontraram medidas de ângulo de contato de $(79,2 \pm 3,1)^\circ$. Machado (2007) encontrou o ângulo de contato de $(55,2 \pm 1,8)^\circ$ e Kunita (2001) encontrou valores de $(90,0 \pm 3,0)^\circ$. A diferença dos valores encontrados pelos autores com os deste estudo pode estar relacionada com o método de processamento das embalagens (GUERRINI, 2004).

5.1.2 Rugosidade

Diversos autores têm sugerido que a rugosidade da superfície dos materiais pode desempenhar um papel importante na aderência de microrganismos devido à proteção que oferece contra forças de cisalhamento e aumentando a área disponível na superfície (BAKER, 1984).

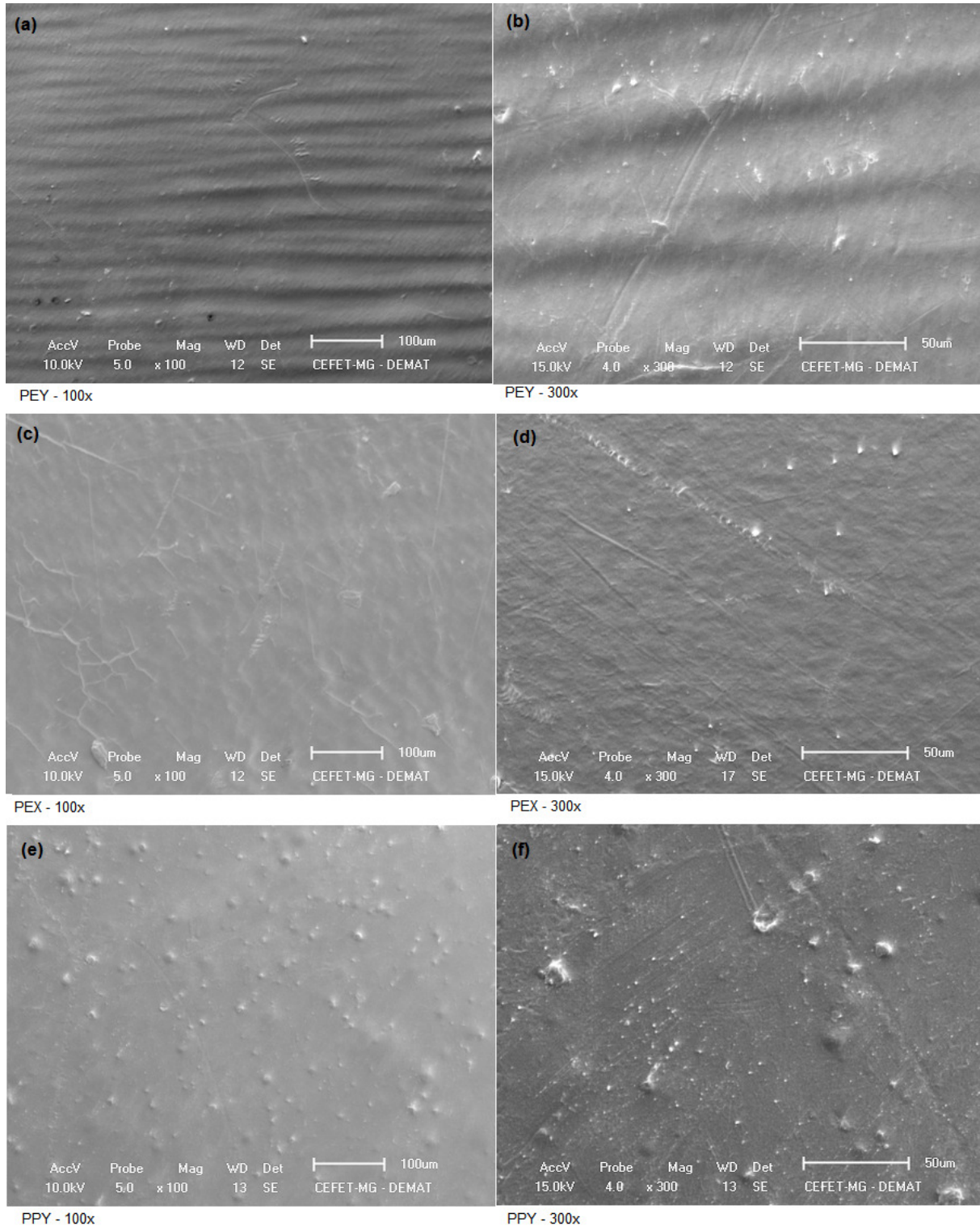
Assim, de acordo com os parâmetros R_a e R_y , utilizados no ensaio de rugosidade, observou-se que o material que apresentou maior rugosidade foi o PEY, seguido pelo PEX, e o menos rugoso foi o PPY (TABELA 6).

Tabela 6 – Medidas de rugosidade R_a e R_y das amostras PPY, PEX e PEY.

Material	Medidas em μm	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Média em μm	Desvio Padrão
PPY	R_a	0,24	0,21	0,22	0,22	0,22	0,01
	R_y	2,49	1,65	2,24	1,92	2,08	0,37
PEX	R_a	0,36	0,23	0,40	0,27	0,32	0,08
	R_y	3,39	1,25	3,67	1,52	2,46	1,25
PEY	R_a	1,07	0,78	0,46	0,53	0,71	0,28
	R_y	5,31	6,07	5,29	3,28	4,99	1,19

As micrografias das amostras virgens examinadas no MEV confirmam as medidas de rugosidade feitas no rugosímetro como mostra a figura 29.

Figura 29 – Micrografias das amostras de polímeros virgens (PEY, PEX e PPY) em aumentos de 100 e 300x.



Fonte: Foto da autora

O PEY apresentou o valor de R_y de 4,99 μm . Como pode-se perceber nas micrografias da figura 28a e b, existem sulcos mais profundos e em maior quantidade do que nas outras amostras, PEX e PPY (FIGURA 28 c,d,e,f). A olho nu, o PPY apresenta-se menos rugoso que as outras duas amostras analisadas. Porém, percebe-se no PPY a presença de descontinuidades (FIGURA 28e e 28f) ao longo de toda a superfície da amostra, o que pode ter colaborado para um valor de R_a e R_y , de 0,22 e 2,08 μm que são bem próximos dos valores do PEX, onde R_a e R_y foram 0,32 e 2,46 μm respectivamente

Katsikogianni e Missirlis (2004) citaram em sua pesquisa, o estudo de Boyd et al. (2002) o qual analisou três tipos de superfícies de aço. Na superfície de aço polido, a rugosidade foi aumentada de 0,04 μm para 0,30 μm tornando-o um aço abrasivo, e isso fez com que aumentasse a força de adesão bacteriana mais do que um aumento de 0,04 μm para 0,96 μm na rugosidade no aço inoxidável não polido. Isso significa que mais células aderiram no aço inoxidável abrasivo mais do que no aço não polido e, especialmente, no aço polido, mesmo com maior aumento da rugosidade do aço não polido. Os autores explicaram que não há uma dependência linear da aderência bacteriana com a rugosidade da superfície, e que ainda são necessários mais estudos sobre esse assunto, pois existe uma variedade de parâmetros de rugosidades de superfície relacionados com a medida da área superficial e a configuração da superfície.

Foram apresentados alguns estudos anteriormente, que afirmaram que as bactérias aderem mais às superfícies mais rugosas em comparação com as lisas, em parte, devido à aumento da área de superfície (MERRITT et al. 2000; COUTINHO, 2007). No entanto, segundo Katsikogianni e Missirlis (2004) as bactérias aderem, preferencialmente, a irregularidades que estejam em conformidade com o seu tamanho desde que aumentem a área de contato superfície-bactéria. Os estafilococos e estreptococos, por exemplo, têm diâmetros que variam de 0,2 e 2,0 μm e de comprimento 2,0 a 8,0 μm (TORTORA, 2005). Isso nos leva a crêr que esses microrganismos teriam maior aderência em superfícies que tivessem uma faixa ideal de rugosidade onde possa acomodar essas células bacterianas.

5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para análise microbiológica foram realizadas culturas das superfícies das embalagens segregadas e não segregadas para contagem de colônias e especificação e também foi realizada a inoculação de *S aureus* nas amostras virgens, com controle positivo e negativo.

A proposta inicial para amostragem desta pesquisa foi utilizar embalagens de PE dos fabricantes X e Y; e PP do fabricante Y de SPGV coletadas como resíduos do CTI-1, já que, no início do estudo, estas eram as embalagens utilizadas pelo serviço de saúde escolhido para o estudo. Porém, no período destinado a coleta de amostras houve dificuldade em adquirir embalagens de PP, pois o fabricante Y não mais fornecia estas soluções ao HPRB. Havia ainda um número reduzido de soluções em embalagens de PP no estoque da farmácia, as quais foram utilizadas para os ensaios de caracterização e inoculação.

Para realização da cultura microbiológica foram coletadas 55 embalagens de PE conforme consta na tabela 7.

Tabela 7 – Amostras de embalagens coletadas para cultura microbiológica.

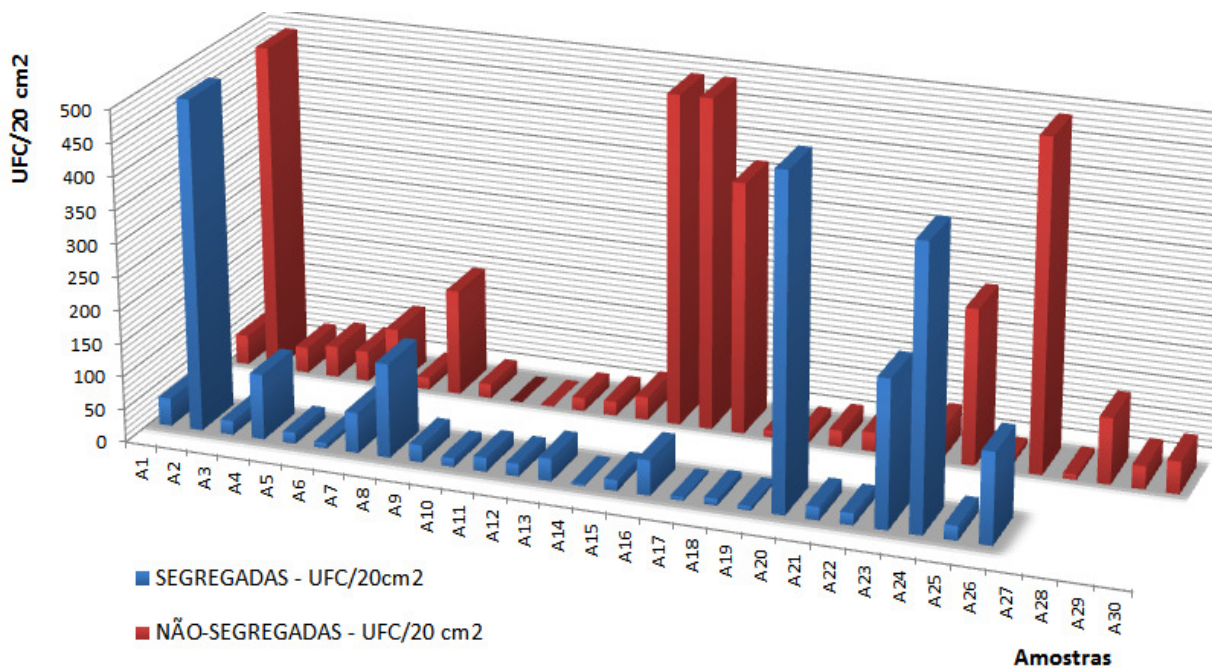
Tipo de resíduo	PEX	PEY	Total
Segregado	20	6	26
Não-segregado	21	8	29
Total	41	14	55

Conforme mostra a tabela 7, dentre as amostras coletadas, 26 foram segregadas e 29 não-segregadas. Das 26 amostras segregadas, 20 são de PE do fabricante X, 6 do fabricante Y. Das 29 amostras não-segregadas, 21 são de PE do fabricante X e 8 do fabricante Y

A média da quantidade de colônias contadas na área de 20cm² da placa de contato das amostras segregadas foi de 93,8 e das não segregadas foi de 120,4UFC/20cm².

A contagem das colônias nas amostras não segregadas apresentaram número médio de colônias 28% superior às amostras segregadas (figura 30). Isso sugere a possibilidade de aceitação da hipótese inicial de contaminação das embalagens no processo de descarte de resíduos sem segregação. Entretanto, a análise de uma amostragem maior, em diferentes instituições, seria importante para ampliar a discussão dos resultados encontrados. A reduzida quantidade de publicações de estudos similares dificulta a comparação.

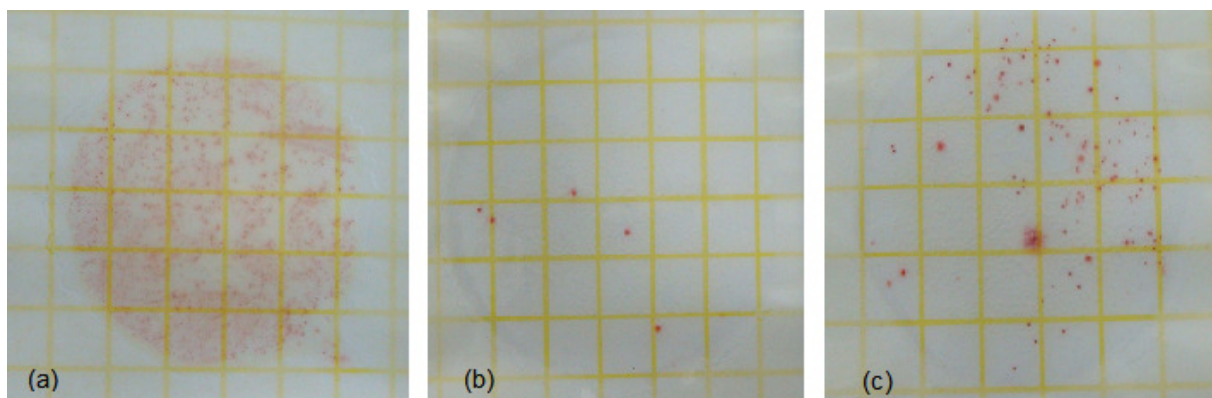
Figura 30 – Gráfico da contagem de colônias nas placas de cultura da superfície das amostras segregadas e não segregadas



Não obstante, em ambos os grupos de amostras (segregadas e não segregadas) observou-se grande variabilidade da quantidade de colônias. Algumas placas apresentaram número incontável de colônias ($>500\text{UFC}/20\text{cm}^2$), outras apresentaram uma contagem inferior a $10\text{UFC}/20\text{cm}^2$.

A figura 31 exemplifica a variabilidade da contagem de colônias nas placas Petrifilm/AC.

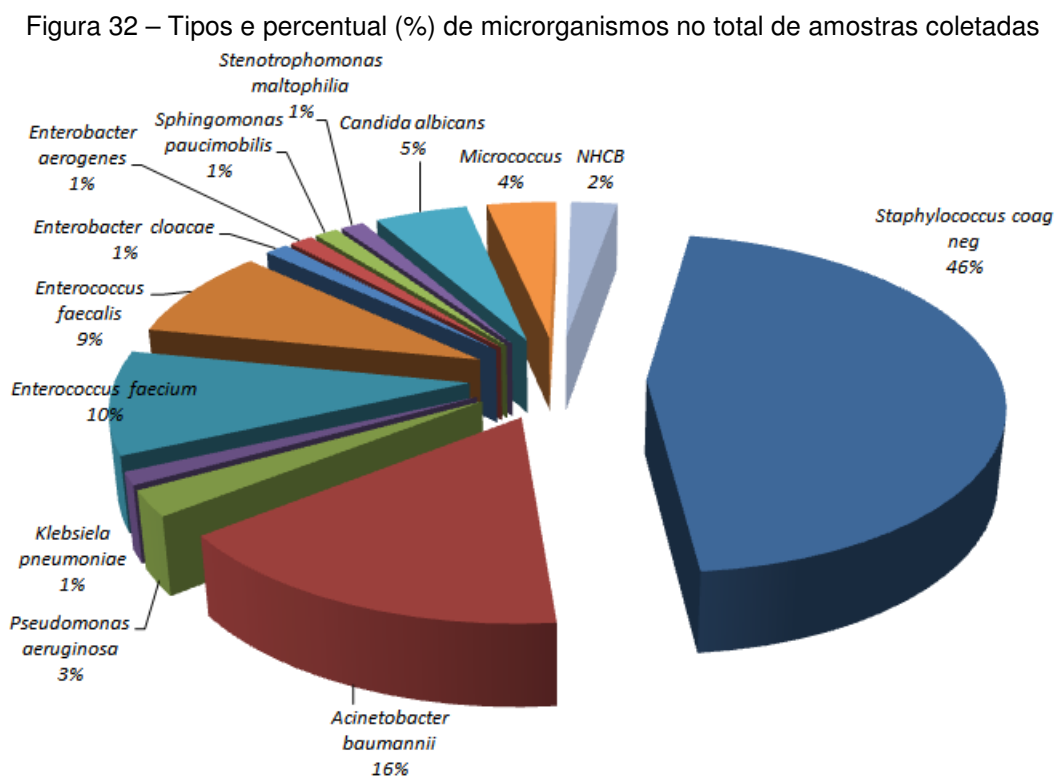
Figura 31 - Placas Petrifilm/AC: (a) n° incontável de colônias, (b) 5 colônias e (c) 142 colônias



Fonte: Foto da autora

Na figura 31, (a) mostra um número incontável de colônias, (b) mostra 5 colônias e (c) 142 colônias.

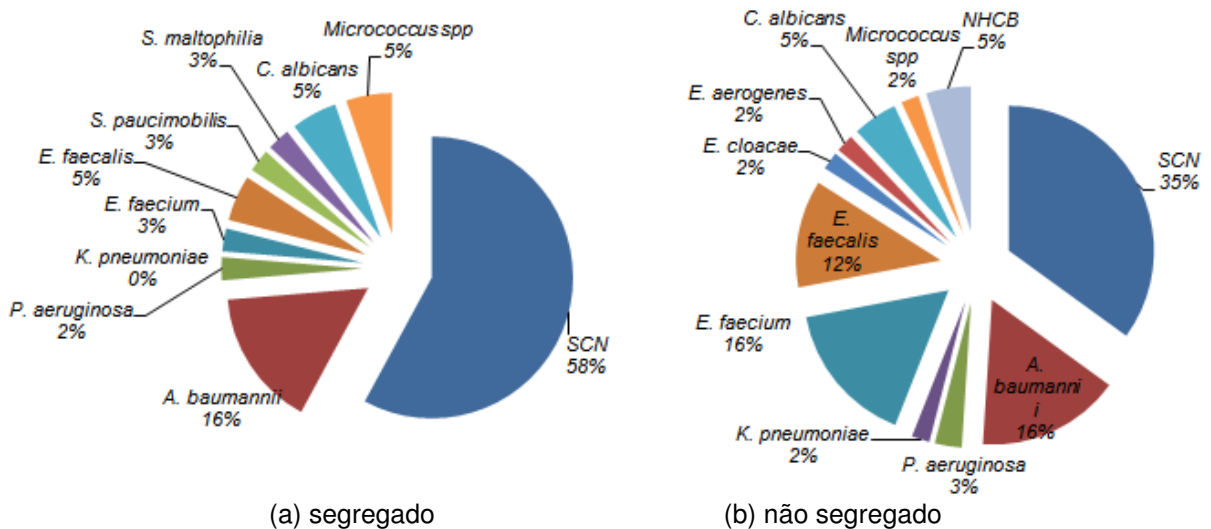
As colônias aderidas foram isoladas para avaliação da diversidade de microrganismos presentes. Nas amostras coletadas nos resíduos segregados e não segregados foram identificados 12 espécies de microrganismos, como mostrado na figura 32. Em 19 amostras houve crescimento de mais de uma espécie.



O microrganismo mais frequente foi o *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) o qual foi encontrado em 46% das amostras. O *A. baumannii* foi encontrado em 16%, o *E. faecium* em 10% e o *E. faecalis* em 9%. Com menor expressividade, o *Micrococcus* spp. foi encontrado em 4%, a *P. aeruginosa* em 3%; e a *K. pneumoniae*, o *E. cloacae*, o *E. aerogenes*, a *Sphingomonas paucimobilis* e a *Stenotrophomonas maltophilia* em 1% das amostras cada microrganismo. Em 2% das amostras não houve crescimento de bactérias (NHCB) (FIGURA 32). Em 2 amostras houve crescimento de *Cândida* spp.

Nos resíduos segregados o microrganismo mais frequente foi o SCN encontrado em 58% das amostras, seguido pelo *A. baumannii* que apareceu em 16%. Nos resíduos não segregados o SCN cresceu em 35% das amostras e o *A. baumannii*, em 16%, o *E. faecium* e o *E. faecalis* apareceram em 16 e 12% das amostras, respectivamente, como mostrado na figura 33.

Figura 33 – Microrganismos presentes nos resíduos segregados e não segregados



A partir das colônias destes microrganismos foi feito teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) os quais foram selecionados de acordo com o *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013)* e com a utilização dos agentes antimicrobianos usados no HPRB.

Em 22 amostras de resíduos segregados onde cresceu o *SCN*, esse microrganismo mostrou-se resistente ao antibiótico testado em 20 delas, ou seja, em 91% das amostras. *A. baumannii* mostrou-se resistente em todas as 6 amostras de resíduos segregado nas quais cresceu, ou seja, em 100% das amostras. Todos os outros microrganismos identificados nos resíduos segregados mostraram-se sensíveis aos antibióticos testados (TABELA 8).

Nas amostras de resíduos não segregados, o *SCN* mostrou-se resistente em 13 do total de 15 amostras, o que corresponde a 87%; e o *A. baumannii* em 5 das 7 amostras, ou seja a 71% (TABELA 8).

Tabela 8 - Resultados de TSA para as amostras segregadas e não segregadas.

Microrganismo	Resíduos				Antibiótico testado
	Segregado		Não-segregado		
	Sensível	Resistente	Sensível	Resistente	
<i>SCN</i>	2	20	2	13	Cefoxetina/Oxacilina
<i>A. baumannii</i>	0	6	2	5	Meropenem, Imipenem
<i>P. aeruginosa</i>	1	0	1	0	Meropenem, Imipenem, Amicacina, Cefepime
<i>K. Pneumoniae</i>	0	0	1	0	Meropenem, Imipenem, Ertapenem
<i>E. faecium</i>	1	0	7	0	Vancomicina
<i>E. faecalis</i>	0	0	7	0	Vancomicina
<i>E. cloacae</i>	0	0	1	0	Meropenem, Imipenem, Ertapenem
<i>E. aerogenes</i>	0	0	1	0	Meropenem, Imipenem, Ertapenem

O aparecimento do *A. baumannii* em 16% das amostras é uma preocupação a ser considerada, visto que esse microrganismo tem grande importância nos casos de infecção hospitalar. Juntamente com a *P. aeruginosa*, o *A. baumannii* está entre as bactérias mais isoladas em hemoculturas e amostras do trato respiratório nos pacientes de grandes hospitais (ANVISA, 2013; NASCIMENTO, 2009).

Os *Enterococcus* também apresentam importância crescente como causadores de infecção hospitalar, pelo surgimento de resistência quase total aos antibióticos tradicionalmente utilizados para tratamento dessas infecções. Os *Enterococcus* mais comumente isolados são: *E. faecalis* (90% dos casos) e *E. faecium*, com grande

capacidade de colonização de pacientes e de contaminação de superfícies ou equipamentos utilizados em hospitais (ANVISA, 2013).

A presença significativa dos *SCN* nas amostras pode ser explicada pela presença habitual desses microrganismos na pele e membranas de mucosas humanas. Geralmente, o *SCN* não causa dano algum ao seu hospedeiro, no entanto, poderá tornar-se patogênico se tiver acesso aos tecidos através de trauma da barreira cutânea, inoculação por agulhas ou implante de materiais médico-hospitalares (HEIKENS, 2005).

Nos achados desse estudo corroboram resultados de outras pesquisas, cujos resultados mostraram que a presença do *SCN* resistente a oxacilina é bastante comum no ambiente hospitalar. Na pesquisa de Custódio et al., (2009) foi avaliada a microbiota das mãos dos profissionais de saúde de um hospital em Goiás e verificaram que os *SCN* apareceram em 44,5% do total dos microrganismos isolados, sendo 75% resistentes a oxacilina. Assim também foi demonstrado na pesquisa de Barreto (2008), onde verificou-se a prevalência de estafilococos em um hospital de Porto Alegre (RS), sendo que 81,4% dos *SCN* apresentavam resistência a oxacilina.

As bactérias do gênero *Acinetobacter* ao qual pertence o *A. baumannii* tornaram-se importantes em todo o mundo, nos últimos anos. Essa relevância é devida à sua multirresistência às drogas e aos agentes antimicrobianos, além de sua implicação em infecções hospitalares (ANVISA, 2013).

Os *Enterococcus* resistentes a vancomicina (ERV) são um problema global e tem sido isolados com alta frequência nos hospitais brasileiros. O emprego de muitos antibióticos ou classes de antibióticos tem sido associado à infecção ou colonização por *Enterococcus* resistentes a vancomicina (ERV) em estudos clínicos, o que coincide com a realidade do HPRB. Porém, nesse estudo, todos os *Enterococcus* isolados foram sensíveis à vancomicina.

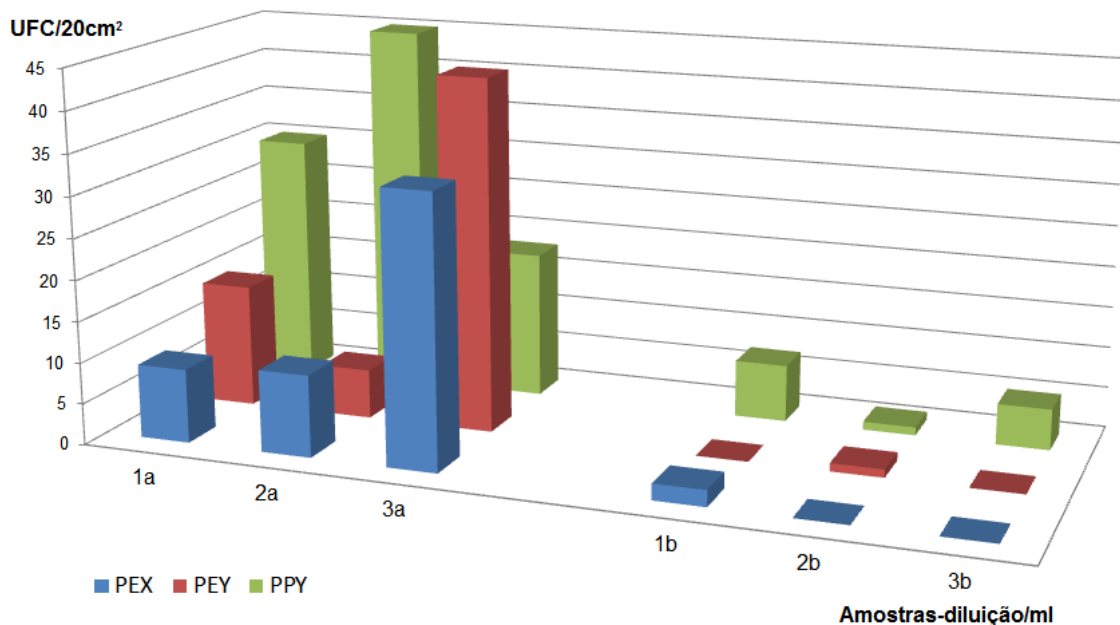
A partir dos resultados das análises microbiológicas dos resíduos, optou-se por ampliar esta pesquisa fazendo uma análise da aderência através de inoculação de bactérias nas embalagens virgens de PEX, PEY e PPY. Esses ensaios possibilitaram a avaliação da embalagem de PP, já que no período em que se

coletou as amostras houve dificuldade em encontrar esse tipo de embalagem nos resíduos do CTI-1.

5.2.1. Inoculação das amostras de polietileno (PE) e polipropileno (PP)

Inicialmente foi feita inoculação de *S. aureus* nas amostras de PEX, PEY e PPY, com a suspensão de bactérias a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (padrão 0,5 da escala Mc Farland), sem diluição. Os resultados mostraram um número incontável de colônias nas três amostras. Sequencialmente, diluiu-se a suspensão inicial para 1:100ml havendo crescimento de colônias em apenas uma das amostras de PPY. Assim, esses resultados contribuíram para adequação da metodologia, mas não foram considerados no gráfico da figura 34. Fez-se, mais duas diluições da suspensão de bactérias inicial: para 1:10ml e 1:50ml conforme mostrado na série b do gráfico da figura 34.

Figura 34 – Contagem de *S. aureus* inoculados em amostras virgens de embalagens de PP e PE, em UFC/20cm²: amostra(a) com diluição de 1:10 e amostra(b) com diluição 1:50ml



Os resultados dos ensaios de inoculação com estas diluições mostraram uma tendência maior de aderência do *S. aureus* ao PPY, percebida mais claramente nas amostras (a) inoculadas com a suspensão de bactérias com diluição de 1:10ml como especificado no gráfico (FIGURA 34).

Os resultados da contagem em placa Petrifilm/AC foram descritos na tabela 9, na qual podemos observar que a média dos resultados das 3 amostras de PEX foi de 17,3 UFC/20cm², do PEY foi de 21,3 e do PPY 31,0, ou seja, as embalagens em que o *S. aureus* teve maior aderência foram as de PPY, seguidas pelas de PE do fabricante Y e em menor quantidade as de PE do fabricante X.

Tabela 9 - Número de UFC/20cm² em amostras virgens: em diluições de 1:10 e 1:50ml, média da contagem de bactérias e percentual de crescimento de colônias por tipo de material.

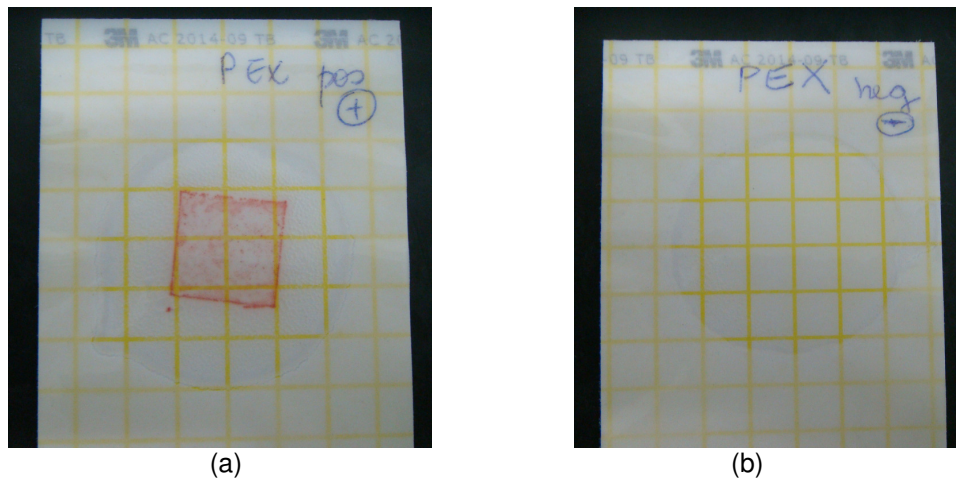
	Diluição 1:10ml				Diluição 1:50ml			
	UFC/20cm ²				UFC/20cm ²			
Amostras virgens	1 ^a	2a	3a	Média	1b	2b	3b	Média
PEX	9	10	33	17,3	2	0	0	0,7
PEY	15	6	43	21,3	0	1	0	0,3
PPY	30	45	18	31,0	7	1	5	4,3

Alguns autores encontraram resultados similares aos encontrados neste estudo. Teixeira e Oliveira (1999) pesquisaram a aderência de *Alcaligenes denitrificans* na superfície de polímeros e mostraram que o tipo de substrato em que houve maior aderência de microrganismos foi o PP, seguido pelo PVC, PEBD e PMMA. Entretanto, a aderência de bactérias nas superfícies poliméricas é bastante complexa, e controversa, pois envolve muitos fatores que precisam ser considerados.

Para verificação das condições dos ensaios, ao controle positivo foi adicionado caldo tioglicolato na suspensão 1:10ml e feito inoculação de 3 amostras de PEX, PEY e PPY. Esse teste teve como resultado um número incontável de colônias por placa (FIGURA 35a). O controle negativo foi feito repetindo-se todas as etapas do ensaio

porém, sem transferir o inóculo para o tubo contendo solução salina 0,9%; e o resultado dessa contagem foi igual a zero (FIGURA 35b). Assim pode-se assegurar que os ensaios foram realizados em condições ideais.

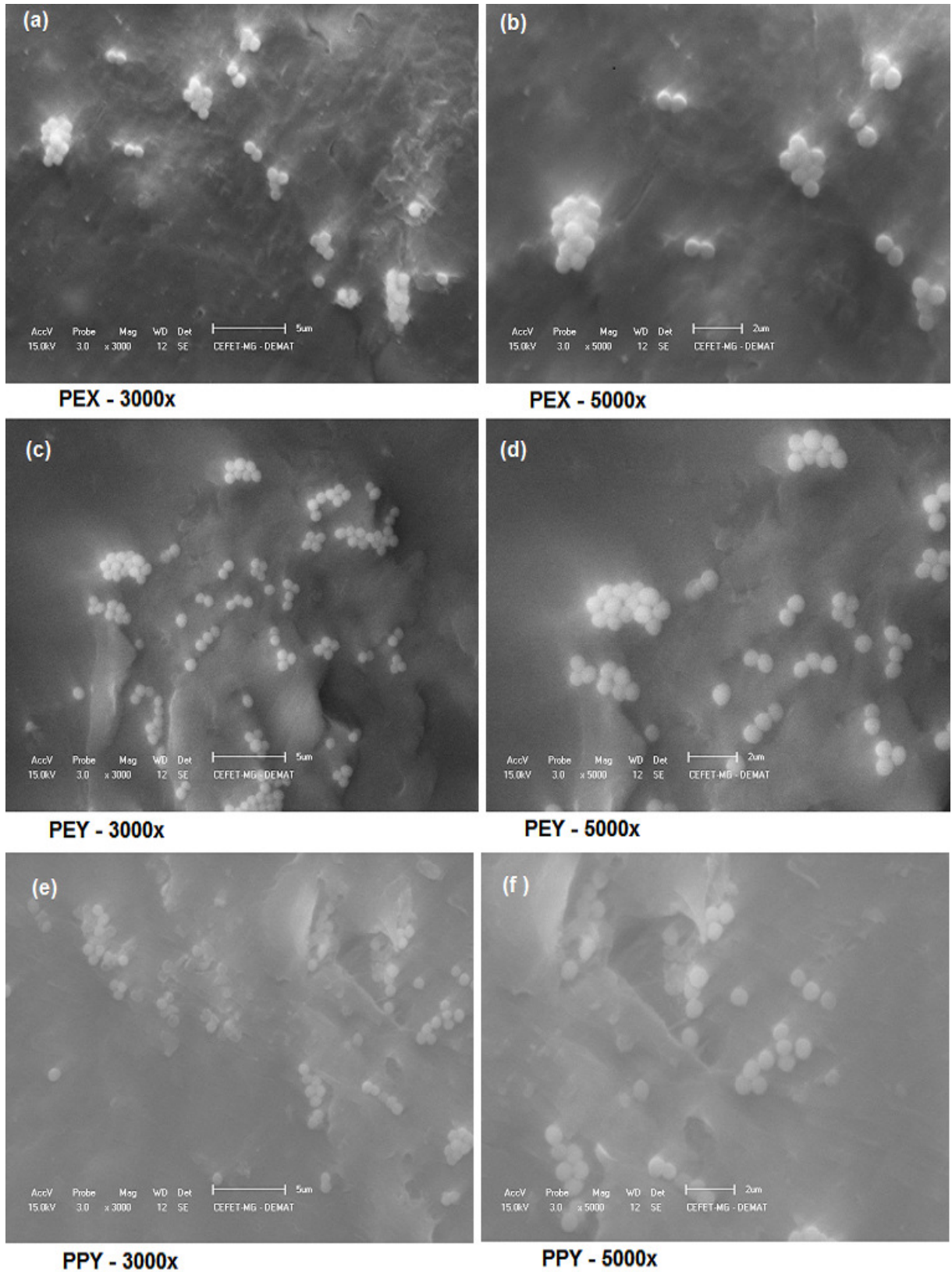
Figura 35 – Placas de cultura com controle positivo (a) e controle negativo (b).



5.3 RELAÇÃO ENTRE ADERÊNCIA MICROBIOLÓGICA E AS CARACTERÍSTICAS DOS POLÍMEROS

As amostras inoculadas com a suspensão de bactérias foram analisadas no MEV. Observou-se uma heterogeneidade na aderência das bactérias ao se fazer uma varredura sobre a área da amostra, ou seja, percebeu-se maior quantidade de bactérias em algumas regiões da amostra e menos em outras. Entretanto, as micrografias mostraram a predominância de aderência dos cocos de *S. aureus*, preferencialmente, em sulcos e saliências da superfície dos polímeros de todas as amostras analisadas (FIGURA 36). Isso sugere a influência da rugosidade na aderência de microrganismos. Entretanto, a medição da micro-nanorugosidade ofereceria resultados mais precisos, que não foi possível devido ao tempo reduzido para conclusão deste estudo. Outro fator limitante dessa avaliação a ser considerado é que a área visível em cada campo fotografado é bastante reduzida, haja vista a necessidade de grandes aumentos (3000 a 5000x) para se obter uma imagem satisfatória das colônias de microrganismos.

Figura 36 – Micrografias das amostras dos polímeros inoculadas com *S. aureus* (3000x e 5000x).



Nos ensaios de caracterização todos os polímeros apresentaram propriedades que propiciaram a aderência de microrganismos como mostra a tabela 10.

Tabela 10 - Propriedades dos polímeros avaliados e contagem de colônias.

Polímeros	Ângulo de contato		Rugosidade		UFC/20cm ²
PEX	83,32	±0,07	R _a - 0,32	±0,08	17,3
			R _y - 2,46	±1,25	
PEY	89,10 ↑	±0,03	R _a - 0,71	±0,28	21,3
			R _y - 4,99 ↑	±1,19	
PPY	71,80	±0,07	R _a - 0,22	±0,01	31,0 ↑
			R _y - 2,08	±0,37	

Comparando os polímeros analisados, não se observou diferenças significativas na quantidade de colônias aderidas na superfície das amostras entre o PEX e PEY, também não foi observada diferença significativa das medidas de ângulo de contato e rugosidade. Entretanto observou-se que a amostra PPY apresentou menor rugosidade e menor ângulo de contato, o que sugere menor tendência à aderência, mas no ensaio de inoculação foi o polímero que teve maior número de colônias aderidas (TABELA 10).

Em um outro estudo também foram encontrados resultados controversos quando foram relacionadas as propriedades de rugosidade e hidrofobicidade à capacidade de aderência bacteriana à superfícies poliméricas. Lima et al. (2011) verificou que não houve relação direta entre a hidrofobicidade e aderência de *S. aureus* nos dois polímeros analisados em seu estudo. Pois, a superfície de tubos de poliuretano (PU) classificada como hidrofílica, em comparação com a superfície dos tubos de silicone classificado como hidrofóbico, não apresentou diferença significativa nas análises de aderência de microrganismos. Lima et al (2011) ainda afirma que, embora a superfície do PU fosse mais hidrofílica do que a do silicone, a sua superfície foi mais rugosa, o que pode ter contribuído para o aumento da aderência bacteriana.

6 CONCLUSÃO

Os ensaios de caracterização mostraram diferenças nas propriedades de hidrofobicidade e rugosidade entre as superfícies das embalagens de PE e PP, entretanto, essas características não foram determinantes no processo de aderência bacteriana nas amostras segregadas e não segregadas..

Nos ensaios de inoculação observou-se que o *S. aureus* teve maior aderência nas embalagens de PPY, seguidas pelas de PE do fabricante Y e em menor quantidade nas de PE do fabricante X. Assim percebeu-se que o *S aureus* apresentou maior tendência a aderência na superfície das embalagens de PP nas amostras virgens.

A análise da contagem de colônias nos resíduos segregados e não segregados não apresenta diferença significativa na aderência de microrganismos. A expectativa inicial de que o resíduo poderia estar aumentando a sua carga bacteriana aderida quando descartado nas lixeiras juntamente com resíduos infectantes não pode se confirmou. Provavelmente há variáveis que não foram controladas neste estudo, potencialmente capazes de interferir na aderência dos microrganismos às superfícies das embalagens. Uma variável importante, porém de difícil controle no ambiente hospitalar, é o processo de trabalho, desde a dispensação das embalagens, o manuseio efetivo até o descarte. Também seria importante a avaliação da aderência de microrganismos monitorando condições ambientais e tempo de contato do microrganismo com a superfície do substrato.

A estratificação dos resultados mostrou que o microrganismo predominante, tanto nas amostras segregadas quanto nas amostras não segregadas, foi o *SCN* resistente a oxacilina. Porém, a presença do *A. baumannii* resistente ao meropenem e imipenem chama a atenção pelo risco potencial de causar infecções devido à patogenicidade desse microrganismo no ambiente hospitalar. Vale ressaltar que não foi encontrado resultado semelhante em nenhum trabalho da literatura, portanto este constitui uma contribuição importante deste trabalho de pesquisa.

Partindo do pressuposto inicial desta pesquisa, de que a separação das embalagens na origem poderia reduzir a quantidade de microrganismos aderidos, conclui-se que a segregação não foi suficiente para minimizar riscos de infectividade associados

aos RSS, contrariando a expectativa inicial. Assim, para ampliar as discussões sobre a reciclagem de RSS são necessários estudos mais abrangentes.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Repetição desta pesquisa utilizando-se um n-amostral maior.
- Controle das variáveis do processo de trabalho, desde a dispensação e manuseio das embalagens, até o descarte
- Avaliação da aderência com diferentes espécies de microrganismos.
- Avaliação da aderência monitorando condições ambientais, como temperatura, umidade, pH, tempo de contato do microrganismo com a superfície do substrato.
- Repetição do trabalho de análise microbiológica e antibiograma em amostras coletadas diretamente na rua ou em cooperativas de catadores e recicladores de resíduos, a fim de comparar os resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3M Produtos para microbiologia – Divisão de saúde. Placas Petrifilm para contagem de aeróbios. Folheto de instrução de uso. Brasil, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS. **Panorama dos resíduos sólidos no Brasil - 2010**. São Paulo, 2011. 200 p. Disponível em: <http://www.abrelpe.org.br/downloads/Panorama2011.pdf>>. Acesso em: 10 de julho de 2011.

AN, Y. H.; SKOWRONSKI P. General considerations for studying bacterial adhesion to biomaterials. In: AN, Y. H.; FRIEDMAN, R. J. **Handbook of bacterial adhesion: principles, methods and applications**. Totowa, NJ: Humana Press, 2000, v. 8. p. 121-131.

ANDRADE, J. B. L. de. Determinação da composição gravimétrica dos resíduos de serviços de saúde de diferentes tipos de estabelecimentos geradores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20., 1999, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 1999, p. 1666-72.

ANDRADE, C.T.; COUTINHO, F.M.B.; DIAS, M.L.; LUCAS, E.F.; OLIVEIRA, C.M.F.; TABAK, D. **Dicionário de polímeros**. Rio de Janeiro: Interciência, 2001. 256p.

Association of Official Agricultural Chemists - AOAC. **Method 990.12**: Official methods of analysis of AOAC International. 17 ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000, p. 22-23.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde. 2004. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf. Acesso em: 12 jun. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006. 182p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies**. Brasília: ANVISA, 2010. 116 p.

ARAÚJO, E. A. et al. Aspectos coloidais da adesão de micro-organismos. **Química Nova**, v. 33, p. 1940-1948, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-0422010000900022&script=sci_arttext>. Acesso em 2 Jun. 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**: Resíduos Sólidos: Classificação. São Paulo, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10007**: Amostragem de Resíduos Sólidos. Rio de Janeiro, 2004.

AUSTIN ASIS. **Austin Setorial: plásticos**. São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://simpep.com.br/wp/wp-content/uploads/2011/04/pesquisa-Austin-II.pdf>> Acesso em: 20 de abr. 2012.

HOSPITAL PÚBLICO REGIONAL DE BETIM - HPRB. Plano de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde (PGRSS). Betim, Comissão de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, 2012.

AZEREDO, J.C.V.R. **Adesão de microrganismos e composição da matriz de bioagregados-desenvolvimento de técnicas e estudo da influência de exopolímeros**. 1998. 186 f. Tese (D.Sc. Dissertation. Departamento de Engenharia Química e Biológica. U.Minho). – Engenharia Química e Biológica, Universidade do Minho, Braga, Portugal, 1998.

BAKER, J. H. Factors affecting the colonisation of various surfaces in a river. **Can. J. Microbiol.**, v. 30, p. 511–515, 1984. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/m84-076#.UzDPhvldVzQ>. Acesso em: 20 de abril de 2011.

BARNES, L. M.; LO, M. F.; ADAMS, M. R., CHAMBERLAIN, A. H. L. Effect of milk proteins on adhesion of bacteria to stainless steel surfaces. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, p. 4543-48, 1999. Disponível em: <<http://epubs.surrey.ac.uk/1248/1/fulltext.pdf>>. Acesso em: 20 abr. de 2011.

BARRETO, M. F.; PICOLI, S. U. *Staphylococcus* em um Hospital de Porto Alegre (RS). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40. Porto Alegre, 2008.

BASTOS, C. C. B. **Condições higiênico-sanitárias no preparo de refeições em creches comunitárias de Belo Horizonte, Minas Gerais**. 2008. 112f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

BIDONE, F.R. (Org.). **Resíduos sólidos provenientes de coletas especiais: eliminação e valorização**. Rio de Janeiro: RiMa, ABES, 2001, 240p. Projeto PROSAB.

BIDONE, F. R. A.; POVINELLI, J. **Conceitos Básicos de Resíduos Sólidos**. São Carlos: EESS/USP, 1999. 120p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Lei Federal nº 12.305, de 02 de agosto de 2010a. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de ago. de 2010. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso: 21 abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de dez. de 2007.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução nº 358 de 29 abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 04 mai. 2005.

BRASIL. Ministério do meio ambiente (MMA). **Plano nacional de resíduos sólidos – versão preliminar, 2011**. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/sobre/meio-ambiente/residuossolidos>>. Acesso em: 4 abr. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 17, de 16 de abril de 2010, dispõe sobre Boas Práticas de fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 de abr. 2010b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 49, de 23 de novembro de 2010, aprova a Farmacopéia Brasileira, 5ª edição e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 nov. 2010c.

BRITO, M.A.G.M. **Considerações sobre resíduos sólidos de serviços saúde**. Revista Eletrônica de Enfermagem, Goiânia, v.2, n.2, jul-dez. 2000. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/fen>>. Acesso em: 20 abr. 2011.

BOSSOLAN, N. R. S. **Introdução à microbiologia**. IFSC-LCE-disciplina biologia 3. 2002. 14 p., il.

BUSSCHER, H.J.; WEERKAMP, A.H. Specific and non-specific interactions in bacterial adhesion to solid substract. **FEMS Microbiology.**, Amsterdam, v. 46, n.2, p.165-173, jun., 1987.

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

CAÇADOR, M. P. **Controle de Biofilmes Indesejáveis – Utilização de Biocidas em meios Hospitalares**. 2009. 92 f. Dissertação. (Mestrado em biotecnologia). Escola de engenharia, Universidade do Minho, Portugal, 2009.

CÂNDIDO, C. V. L. et al. **Plano de gerenciamento integrado de resíduos plásticos - PGIRP - Belo Horizonte**. Fundação estadual do meio ambiente: fundação Israel Pinheiro, 2009. 32 p.

CANEVAROLO, S. V. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 3 ed. São Paulo: Artliber Ltda, 2010.

CHAVES, L. C. D. **Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contato com água potável**. 2004. 186 f. Dissertação. (Mestrado) – Escola de engenharia, Universidade do Minho, Portugal, 2004.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE/NCCLS. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI/NCCLS M100-S15. Wayne, Pennsylvania, USA, v. 25, n. 1, p. 177, 2005.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; Approved Standard**. USA: CLSI/NCCLS M100-S18. Wayne, Pennsylvania ,USA,. v. 28, n.1, p. 168, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-third informational supplement**. CLSI/NCCLS M100-S23. Wayne, Pennsylvania, USA, v. 33, n. 1, p. 199, 2013.

COUTINHO, M.P. **Influência da morfologia da superfície na molhabilidade do titânio comercialmente puro**. 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em ciências dos materiais) - Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2007.

COUTINHO, F. M. B., MELLO, I. L., SANTA MARIA, L. C., Polietileno: Principais tipos propriedades e aplicações, **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2003.

COSTA, G. F. M.et al. Preliminary evaluation of adherence on abiotic and cellular surfaces of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from catheter tips. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 10, n. 5, Out. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-6702006000500009&script=sci_arttext>. Acesso em: 22 nov. 2011.

COSTA, E.T.R. **Desenvolvimento de metodologia para detecção da adesão microbiana em superfície de aço inoxidável**. 81f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1999.

CURIALE, M. S.; SONS, T.; MCALLISTER, J. S. Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: collaborative study. **Journal of AOAC**, v. 73, n. 2, p. 242-248, 1990.

CUSSIOL, N. A. M. **Disposição final de resíduos potencialmente infectantes de serviços de saúde em célula especial e por co-disposição com resíduos sólidos urbanos**. 2005. 334f. Tese (Doutorado em saneamento e Meio Ambiente). Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia (DESA/DRH), Belo Horizonte, MG, 2005.

CUSSIOL, N. A. M.; ROCHA, G. H. T.; LANGE, L. C. Quantificação dos resíduos potencialmente infectantes presentes nos resíduos sólidos urbanos da regional sul de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 6. 2006.

CUSTODIO et al. Avaliação microbiológica das mãos de profissionais da saúde de um hospital particular em Itumbiara, Goiás. **Revista de Ciências Médicas**, Campinas, SP,v.18, n.1p. 7-11, 2009.

DAL MASO, G.; ADAMI, S.; DAL BON, V. Microbiological validation of a film system for monitoring total aerobic bacteria on surfaces and laboratory garments in controlled areas. **Bollettino Chimico Farmaceutico** n.132, p.23-28, 1993.

DALTON, H.M.; MARCH, P.E. Molecular genetics of bacterial attachment and biofouling. **Current Opinion in Biotechnology**, v.9, p.252-255, 1998. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166998800554>>. Acesso em: 22 nov. 2011.

DAMIAN, R.; ALMENDRA, E. Físico-Química: uma Aplicação aos Materiais, Editora da COPPE/UFRJ, 2002.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores [recurso eletrônico]**. – Porto Alegre : EDIPUCRS, 2007. 60p. Disponível em: <http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia/microscopia.pdf>. Acesso em: 01 de jun. 2013.

DENYER, S.P.; GORMAN, S.P.; SUSSMAN, M. **Microbial biofilms: formation and control**. Londres: Blackwell Scientific Publications, 1993. 333p.

DIAS, S. M. F.; FIGUEIREDO, L. C. A educação ambiental como estratégia para a redução da geração de resíduos de serviços de saúde em hospital de Feira de Santana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20., 1999, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 1999. p. 3608-17.

FERREIRA, A. B. H. **Minidicionário Aurélio da Língua Portuguesa**. 2. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2010. 895p.

FERREIRA, J. A. **Lixo Hospitalar e Domiciliar: Semelhanças e Diferenças - Estudo de Caso no Município do Rio de Janeiro**. 1997. 218f. Tese (Doutorado em Saúde pública)- Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1997.

FERREIRA, J. P. M. Tensão superficial – sua natureza e efeitos. **Química- Boletim da SPQ**, v. 93, p. 43-48, 2004.

FIGUEIREDO, H. M. **Adesão bacteriana em modelo de circuito de processamento de leite**. 2000. 85 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 2000.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis: uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422006000400031&script=sci_arttext. Acesso em: 23 de maio de 2013.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. A importância das propriedades físicas dos polímeros na Reciclagem. **Química Nova Escola**, n. 18, nov., 2003. Disponível

em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc18/A09.PDF>>. Acesso em: 23 de maio de 2013.

FREITAS, V.R.; VAN DER SAND, S.T.; SIMONETTI, A.B. Formação in vitro de biofilme por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* na superfície de canetas odontológicas de alta rotação. **Revista de odontologia da UNESP**, v. 39, n.4, p. 193-200, jul-ago 2010. Disponível em <http://rou.hostcentral.com.br/PDF/v39n4a02.pdf>. Acesso em 20 de dez. 2011.

FRUET, G. **Dissipação de energia em estruturas com utilização de polímeros termoplásticos**. 2005. 95 f. Dissertação (Mestrado) -Programa de pós graduação em engenharia civil, Escola de engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

GARCIA, L. P.; ZANETTI-RAMOS, B. G. Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde: uma questão de biossegurança. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, mai-jun, 2004.

GOMES, M. M. M. **Estudo da colonização por *Streptococcus agalactiae* em grávidas do Hospital Geral de Santo António**, 2009. Dissertação (Mestrado) - Análise Clínicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2010.

GUERRINI, L. M. et al. Correlação entre as propriedades reológicas, óticas e a morfologia de filmes soprados de LLDPE/LDPE. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, SP, Brasil, vol. 14, n° 1, p. 38-45, 2004.

HEIKENS, A.F. et al. Comparison of genotypic and phenotypic methods for species level identification of Clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 5, p. 2286-2290, 2005.

HOOD, S. K.; ZOTTOLA, A. Biofilms in food processing. **Food Control**, v. 6, p. 9-18. 1995.

HOOD, S. K.; ZOTTOLA, A. Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems. **International Journal of Food Microbiology**, Minnesota, USA, v. 37, n. 2/3, p. 145-153, 1997.

HOOVER, A. E. et al. A randomized trial to evaluate a launderable bed protection system for hospital beds. **Antimicrob Resist Infect Control**, v.1, n. 27, p. 2047-2994, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Divisão Territorial do Brasil e Limites Territoriais**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=310670>>. Acesso em: 10 dez. 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Populacional 2010**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/populacao_por_municipio.shtm>. Acesso em: 10 dez. 2011.

ISO 7218 (2007). **Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations**. ISO. FIOCRUZ/IOC. Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=194>>. Acesso em: 10 jun. 2013.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. Trad. Eduardo César Tondo et al., 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JASSE, B. Fourier transform infrared spectroscopy of synthetic polymers. In: DAWKINS, J.V. (Ed.) **Developments in polymer characterization-4**. London, **Applied Science Publishers**, 1983, v.4, p.91-129.

KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. **European Cells and Materials**, 2004, v. 8, p. 37-57.

KELLY, B.; VERPERMANN, A.; BOLTON, D. The Role of Horizontal Gene Transfer in the evolution of selected food borne Bacterial pathogens. **Food and Chemical Toxicology**, 2009, v. 47, p 951-968, 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/02786915/47>. Acesso em: 22 de abr. 2013.

KIRBY-BAUER TESTING. Disponível em: <<http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/2716-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test>>. Acesso em: 20 maio de 2012, somente il.

KONEMANN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico**. Medsi Editora Médica e Científica Ltda., 2001. 1466p.

KUNITA, M. H. **Impregnação de superfície de polímeros com sulfeto de cobre para a obtenção de compósitos de baixa resistência elétrica**. 2001. 114 f. Dissertação (Mestrado) Departamento de química da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 2001.

LABORATÓRIO SANOBIOLOG. Disponível em: <http://www.sanobiol.com.br/>. Acesso em: 23 jan. 2012, somente il.

LIMA, J.C. et al. The hydrophobicity and roughness of a nasoenteral tube surface influences the adhesion of a multi-drug resistant strain of Staphylococcus Aureus. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 42, n. 2, jun. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822011000200013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 19 jun. 2013.

LOCATELLI, C. I. et al. Aderência bacteriana in vitro a lentes intra-oculares de polimetilmetacrilato e de silicone. **Arq. Bras. Oftalmol.** 2004, vol.67, n.2, p. 241-248.

LOPES, I. T. **Aplicação de surfactantes no controlo da formação de biofilmes de Pseudomonas fluorescens**. 2002. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2002.

MACÊDO, M. O. C. et al. O uso do plasma de nitrogênio para modificação superficial de membranas de quitosana. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, On-Line, 2010. Disponível:

<<http://www.periodicos.ufrn.br/index.php/reb/article/view/1499>>. Acesso em: 20 de abr. 2012.

MACÊDO, M.O.C. et al. Perfil da molhabilidade em membranas de quitosana tratadas por plasma de hidrogênio. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, América do Sul, v. 5, 2010. Disponível em:

<http://www.sbvacu.org.br/rbav/index.php/rbav/article/viewFile/850/874>. Acesso em: 20 de abr. 2012.

MACHADO, T.R.M. **Avaliação da aderência ao aço inoxidável e ao polietileno de três sorovares de *Salmonella* e da capacidade de desinfecção dessas superfícies**. 2007. 146 f. Dissertação (Mestrado) - Microbiologia do ambiente, Faculdade de agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2007.

MACHADO, V. M. P.; AMBRÓSIO, R. A.; MORENO, J. Diagnóstico dos resíduos dos serviços de saúde no município de botucatu. Proposta de segregação In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS HOSPITALARES, 1993, Cascavel. **Anais...** Cascavel, PR: 1993. p.91-108.

MACHADO, N. L., MORAES, L. R. S. Sistemas de tratamento e destino final de resíduos sólidos de serviços de saúde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21., 2001, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, Paraíba: ABES. 2001.

MANO, E.B. e MENDES, L.C. **Introdução a polímeros**. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.

MAGNABOSCO, A. Consumo de polietileno impulsiona demanda por resina. **Jornal hoje em dia**. Belo Horizonte, 18 de mar. 2013. Disponível em: <http://www.hojeemdia.com.br/noticias/economia-e-negocios/consumo-de-polietileno-impulsiona-demanda-por-resina-1.102781>. Acesso em: 02 de jun. 2013.

MANSUR, H.S. **Técnicas de Caracterização de Materiais** - capítulo 7. 2010. Disponível em: <<http://www.biomaterial.com.br/capitulo7part01.pdf>> Acesso em 08/12/2012.

MARTINS, G. A. S. **Informações sobre Manuseio e Estocagem de Polietilenos e Polipropilenos**. – Boletim Técnico nº14 – OPP Petroquímica S.A. Ago. 1999.

MATTOSO, V.D.B. **Classificação, quantificação e análise microbiológica dos resíduos de serviço de saúde da Santa Casa de Misericórdia de São Carlos**. 1996. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1996.

MERRITT, K.; AN, Y.H. Factors influencing bacterial adhesion. In: AN, Y.H.; FRIEDMAN, R.J., ed. **Handbook of bacterial adhesion: principles, methods and applications**. Totowa, N.J.: Humana Press; 2000, p. 53-98.

MICHAELI, W. et al. **Tecnologia dos Plásticos**. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 1995.

MONTEIRO, M.; GOTARDO, M.A. Ftalato de di-(2-etilexila) (DEHP) em bolsas de PVC para soluções parenterais de grandes volumes. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 9-18, 2005. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewArticle/393. Acesso em: 20 de abril 2012.

MOREL, M.M.O.; BERTUSSI FILHO, L.A. Resíduos de Serviços de Saúde. In: RODRIGUES, E.A.C.et al. **Infecções hospitalares – prevenção e controle**. São Paulo: Sarvier, 1997. p.519-534.

MORTARI, A. P.et al. Prevalência de Pseudomonas aeruginosa produtoras de β -lactamases do tipo AMP-C em isolados clínicos de Santa Maria – RS. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 2, p. 147-149, 2008.

MURRAY, P.R.et al. **Microbiologia Médica**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

NAGATANI, T.et al. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. **Scanning Microscopy**. v.11, 901-909, 1987. Disponível em: [http://www.ieeeghn.com/wiki/images/9/90/5b_Nagatani\(1987\).pdf](http://www.ieeeghn.com/wiki/images/9/90/5b_Nagatani(1987).pdf). Acesso em: 03 de jun. de 2013.

NASCIMENTO, T. C., JANUZZI, W. A., LEONEL, M., SILVA, V. L., DINIZ, C. G. Ocorrência de bactérias clinicamente relevantes nos resíduos de serviço de saúde em um aterro sanitário brasileiro e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2009, v. 42, n. 4. p. 415-419.

NORMA DIN 4768 (1990). Determination of values of surface roughness parameters Ra,Rz, Rmax, using electrical contact (stylus) instruments.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Centro Pan-Americano de Engenharia Sanitária e Ciências do Ambiente. Divisão de Saúde e Ambiente. **Guia para o manejo interno de resíduos sólidos em estabelecimentos de saúde**. Brasília, 1997. 64 p.

PARIZZI, S. Q. F. **Adesão bacteriana em superfície de serviços de alimentação hospitalar avaliada pela microscopia de epifluorescência**. 1998. 57p. Dissertação (Mestrado) -Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 1998.

PELOI, L. S. et al. Oxidação da superfície de polipropileno por KMnO₄; análise por ângulo de contato, FTIR, FTIR-ATR e AFM. In: 56^o reunião da SBPC, Livro de Resumos, Cuiabá, 2004.

PEREIRA, R. B. **Caracterização por técnicas de análises de superfícies de misturas asfálticas com adição de ácido polifosfórico**. 2010. 42 p. (Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2010.

PEREIRA, M.A. et al. Influence of physico-chemical properties of porous microcarriers on the adhesion of anaerobic consortium. **Journal of the Industrial Microbiology and Biotechnology**, Minho, Portugal, v. 24, p.181–186. 2000.

PERKINELMER - Polymer Identification Using Mid Infrared Spectroscopy. Waltham, MA, EUA, 2011. Disponível em: <http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-132015APP_PolymerIdentificationMidInfraredSpectroscopy.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2013.

PILGER, R. R.; SCHENATO, F. Classificação dos resíduos de serviços de saúde de um hospital veterinário. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, mar. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141341522008000100004&script=sci_arttext> Acesso em: 26 out. 2010.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO (PNUD). **Atlas do desenvolvimento humano. (2000)**. Disponível em: <[http://www.pnud.org.br/atlas/ranking/IDH-M%2091%2000%20Ranking%20decrecente%20\(pelos%20dados%20de%202000\).htm](http://www.pnud.org.br/atlas/ranking/IDH-M%2091%2000%20Ranking%20decrecente%20(pelos%20dados%20de%202000).htm)>. Acesso em: 10 dez. 2011.

PONSONNET, L.; REYBIER, K.; JAFFREZIE, N.; COMTE, V.; LAGNEAU, C.; LISSAC, M.; MARTELET, C. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour. **Materials Science and Engineering C- Biomimetic and Supramolecular Systems**. v.23, ed 4, jun. 2003, p. 551-560. 2003

RAKOSY, A. W. Enciclopédia Britannica, 2013. Disponível em: <http://www.britannica.com/EBchecked/media/100174/Gram-positive-cocci-Staphylococcus-aureus-in-a-laboratory-culture>. Acesso em 03 de jun. 2013, somente il.

ROSA, D. S.; PANTANO FILHO, R.; **Biodegradação, um ensaio com polímeros**. 1 ed. S.P. Editora Universitária São Francisco, Bragança Paulista, S.P. 112 p. 2003.

RUSSELL, A.D.; FURR, J.R. Susceptibility of porin- and lipopolysaccharide-deficient strains of Escherichia coli to some antiseptics and disinfectants. **J Hosp Infect**, v. 8, p. 47–56, 1986.

RUTALA, W.A.; MAYHALL, C.G.; Medical waste: Society for Hospital Epidemiology of America. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.13, n. 2, p. 38-48, jan. 1992.

RUTALA, W.A.; ODETTE, R.L.; SAMSA, G.P. Management of infectious waste by us hospitals. **JAMA**, v. 262, n.12, p.1635-1640. Oct. 1989.

SADER, H. S.et al. Pathogen frequency and resistance patters in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 5, n. 4, p. 200-214, 2001.

SADER, H. S. et al. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p. 25-79, 2004.

SANT'ANA, A.S.; CONCEIÇÃO, C.; AZEREDO, D.R.P. Comparação entre os métodos rápidos Simplate TPC-CI e Petrifilm AC e os métodos convencionais de contagem em placas para enumeração de aeróbios mesófilos em sorvetes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 60-64, 2005.

SCHNEIDER, V.et al. **Manual de Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde**. São Paulo: CLR Balieiro, 2001,175p.

SCHNEIDER, J. O. et al. Estudo do ângulo de contato em polímeros após irradiação com radiação gama e feixe de elétrons. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DE MATERIAIS, 20, 2012.Joinvile. **Anais...** Joinvile, CBECIMAT, 2012. ref. 402-037.

SILVA, C.H.P.M. **Bacteriologia**: um texto ilustrado. Rio de Janeiro: Eventos, 1999, 531p.

SILVA, J. S. P. da. **Estudo das características físico-químicas e biológicas pela adesão de osteoblastos em superfícies de titânio modificadas pela nitretação em plasma**. 2008a. 119 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

SILVA, A. L. N.; ROCHA, M. C. G.; GUIMARÃES, M. J. O. C.; LOVISI, H.; COUTINHO, F. M. B.; SANTA MARIA, L. C. Desenvolvimento de Materiais à Base de Poliolefinas e Elastômeros Metalocênicos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 11, n. 3, p. 135-141, set 2001a. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/po/v11n3/6998.pdf>>. Acesso em: 16 mai. 2012.

SILVA, A. V. F. G.; **Inserção das instituições públicas de saúde de Betim na gestão dos riscos de acidentes industriais ampliados na área da refinaria Gabriel Passos - Petrobras**. 2008b. 181 f. Dissertação (mestrado) - Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.

SILVA, A.C.N.; REIS, J.D.P.; BERNARDES, R.S.; MORAES, L.R.S. Estudo de fatores de riscos ambientais relacionados aos microrganismos patogênicos presentes nos resíduos sólidos de serviços de saúde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21, 2001b, Paraíba, **Anais...** Paraíba, Brasil: ABES, 2001.

SOARES, S. R. et al. Avaliação da evolução microbiológica em resíduos hospitalares infecciosos. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27, 2000. Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre, ABES, 2000. CD-ROM.

SOARES, S.R.; CASTILHOS, A.B.; MACEDO, M.C. de. Diagnóstico da produção de resíduos de serviços de saúde: estudo de caso Hospital Universitário: Florianópolis-SC. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: UFSC, 1997, p. 1783-89. CD-ROM.

SOUZA, E. L. **Medidas para prevenção e minimização da contaminação humana e ambiental causadas pelos resíduos de serviços de saúde gerados em estabelecimento hospitalar – estudo de caso**. 2005. 145 f. Tese (Programa de pós-graduação em engenharia de ciências ambientais). Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada – CRHEA, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2005.

STOETERAU, R. L. (Org.). **Tribologia**. Santa Catarina: Universidade federal de Santa Catarina - departamento de engenharia mecânica. 2004. 179 p.

TAVARES, W. Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 33, p. 281-301, mai-jun. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v33n3/2477.pdf>. Acesso em: 22 de abr. 2013.

TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R. Influence of surface characteristics on the adhesion of *Alcaligenes denitrificans* to polymeric substrates. **J. Adhesion Sci. Technol.**, 1999, v. 13, p. 1287–1294. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000123&pid=S1517-8382200700020002600032&lng=en>. Acesso em: 20 de dez. 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

TRUONG, V.K. et al. Effect of ultrafine-grained titanium surfaces on adhesion of bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 83, n.5, p. 925-37, jul. 2009. Disponível em: <<http://astronomy.swin.edu.au/~dbarnes/gary/amb2009.pdf>>. Acesso em: 20 de dez. 2011.

WEISZFLÖG, W. 2007. **Michaelis: Moderno Dicionário da Língua Portuguesa**. São Paulo: Companhia Melhoramentos. Editora Melhoramentos Ltda. 1998-2007. Disponível em: <<http://michaelis.uol.com.br/moderno/portugues/index.php>>. Acesso em: 16 de mai. 2012.

WIEBECK, H.; PIVA, A.M. **Reciclagem mecânica do PVC: Uma oportunidade de negócio**. 1.ed. São Paulo: Instituto do PVC, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0104-1428200400030000700002&lng=en&pid=S0104-14282004000300007>>. Acesso em: 10 dez. 2011.

WIEBECK, H.; PIVA, A.M. **Reciclagem do plástico**. Sao Paulo: Editora Artliber, 2004.

WHITE, J.L.; CHOI, D.D. “**Polyolefins: Processing, Structure Development and Properties.**” Hanser Publishers, Munich – Hanser Gardner Publications. Cincinnati, 2005. . Disponível em: <<http://www.knovel.com/web/portal/browse/display>>. Acesso em: 16 de abr. 2012.

VALCARCE, M. B.; BUSALMEN, J. P.; SÁNCHEZ, S. R. The influence of the surface condition of the adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to copper and aluminium brass. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v 50, n. 1, p. 61-66, jul. 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830502000689>. Acesso em: 12 de abr. de 2012.

VAN HOUTT, R.; MICHIELS, C.W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, p. 1117-1131, apr. 2010.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of Methods for the microbiological examination of foods.** American Public Health Association – APHA. 3 ed. Washington, DC., 1992. 1219p.

VAN OSS, C. J.; GIESE, R. F. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. **Clay minerals**, v. 43, n.4, p. 474-477, 1995.

VAN OSS, C. J.; CHAUDHURY, M. K.; GOOD, R. J. **Advances in Colloid and Interface Science.** n. 28, p.35-64, 1987.

VAN LOODSDRECHT, M. C. et al. Influence of interfaces on microbial activity. **Microbiol Rev.** n. 54, p. 75–87, 1990.

VIEIRA, C. D. et al. **Count, identification and antimicrobial susceptibility of bacteria recovered from dental solid waste in Brazil.** v. 31, p. 1327-1332, jun. 2011.

ZANON, U. Riscos infecciosos imputados ao lixo hospitalar: realidade epidemiológica ou ficção sanitária? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 23, p. 163-170, 1990.

ZERAIK, A.E.; NITSCHKE, M. Biosurfactants as agents to reduce adhesion of pathogenic bacteria to polystyrene surfaces: Effect of temperature and hydrophobicity. **Current Microbiology**, v.61, n.6, p.554-559, 2010.

ZOTTOLA, E.A., SASAHARA, K.C. Microbial biofilms in the food processing - should they be a concern? **Int. J. Food Micro.**, v.23, p.125-148, 1994.

APÊNDICE A**QUANTITATIVO ANUAL DE SPGV ADQUIRIDAS NO HPRB EM 2011.**

Tipos de SPGV	Quantidade anual - unidades
Soro fisiológico 1000ml	60.000
Soro fisiológico 500ml	330.000
Soro fisiológico 250ml	150.000
Soro fisiológico 100ml	100.000
Soro glicosado 500ml	25.000
Soro glicosado 250ml	12.000
Soro glicosado 100ml	Não adquirido neste ano
Ringer lactato 500ml	4.200
Ringer simples 500ml	480
Solução de diálise 1000ml	63.000 (ácidas e básicas)
Água bidestilada 500ml	55.000

Fonte: Relatório de compras de 2011 – Farmácia HPRB

APÊNDICE B

MÉTODO DO PONTO CRÍTICO

Método do Ponto Crítico descrito por Dedavid et al. (2007) em: Microscopia eletrônica de varredura - Aplicações e preparação de amostras - Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores.

Após a fixação e desidratação das amostras, elas são transferidos para a câmara do equipamento de secagem ao ponto crítico do CO₂ (CPD - critical point drying). Com a câmara isolada, em um volume de etanol absoluto ou acetona, injeta-se o CO₂ líquido, fazendo-se várias substituições até remoção total do etanol ou acetona, esta troca ocorre entre 0 e 5°C. A amostra permanece sempre imersa na fase líquida. Eleva-se a temperatura dentro da câmara entre 40 e 45 °C e, conseqüentemente, a densidade da fase líquida diminui. O aumento da pressão (de aproximadamente 73 atm) causa o aumento da densidade na fase gasosa, pois devido ao aumento gradual da temperatura, as moléculas adquirem energia cinética e se convertem em gás, o que aumenta a pressão interna na câmara. Quando estamos próximos da temperatura crítica significa que as densidades da fase gasosa e líquida estão próximas. Logo, quando o ponto crítico é excedido, a fase gasosa e líquida apresentam a mesma densidade, garantindo que a temperatura está em torno de um valor crítico onde não há limites entre as fases, ou seja, o menisco de transição de fases desaparece. Nesta situação, a tensão superficial é igual a zero e todo o líquido se converteu em gás, assim se evita o efeito da tensão superficial sobre a amostra. A câmara é, então, despressurizada até pressão atmosférica, e a amostra é removida da câmara. A amostra pode então ser montada em um suporte metálico e metalizada para ser observada no microscópio eletrônico de varredura.

ANEXO 1 - Parte da RDC/anvisa, n° 306 de 7 de setembro de 2004**CLASSIFICAÇÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE**

I - GRUPO A: Resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características de maior virulência ou concentração, podem apresentar risco de infecção.

a) A1

1. culturas e estoques de microrganismos; resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os hemoderivados; descarte de vacinas de microrganismos vivos ou atenuados; meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de manipulação genética;

2. resíduos resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação biológica por agentes classe de risco 4, microrganismos com relevância epidemiológica e risco de disseminação ou causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido;

3. bolsas transfusionais contendo sangue ou hemocomponentes rejeitadas por contaminação ou por má conservação, ou com prazo de validade vencido, e aquelas oriundas de coleta incompleta;

4. sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, contendo sangue ou líquidos corpóreos na forma livre.

b) A2

1. carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais submetidos a processos de experimentação com inoculação de microorganismos, bem como suas forrações, e os cadáveres de animais suspeitos de serem portadores de microrganismos de relevância epidemiológica e com risco de disseminação, que foram submetidos ou não a estudo anátomo-patológico ou confirmação diagnóstica.

c) A3

1. peças anatômicas (membros) do ser humano; produto de fecundação sem sinais vitais, com peso menor que 500 gramas ou estatura menor que 25 cm ou idade gestacional menor que 20 semanas, que não tenham valor científico ou legal e não tenha havido requisição pelo paciente ou familiares.

d) A4

1. kits de linhas arteriais, endovenosas e dialisadores, quando descartados;

2. filtros de ar e gases aspirados de área contaminada; membrana filtrante de equipamento médico hospitalar e de pesquisa, entre outros similares;
3. sobras de amostras de laboratório e seus recipientes contendo fezes, urina e secreções, provenientes de pacientes que não contenham e nem sejam suspeitos de conter agentes Classe de Risco 4, e nem apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação, ou microrganismo causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido ou com suspeita de contaminação com príons;
4. resíduos de tecido adiposo proveniente de lipoaspiração, lipoescultura ou outro procedimento de cirurgia plástica que gere este tipo de resíduo;
5. recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, que não contenha sangue ou líquidos corpóreos na forma livre;
6. peças anatômicas (órgãos e tecidos) e outros resíduos provenientes de procedimentos cirúrgicos ou de estudos anátomo-patológicos ou de confirmação diagnóstica;
7. carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de microorganismos, bem como suas forrações; e 8. bolsas transfusionais vazias ou com volume residual pós-transfusão.

e) A5

1. órgãos, tecidos, fluidos orgânicos, materiais perfurocortantes ou escarificantes e demais materiais resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação com príons.

II - GRUPO B: Resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.

- a) produtos hormonais e produtos antimicrobianos; citostáticos; antineoplásicos; imunossuppressores; digitálicos; imunomoduladores; anti-retrovirais, quando descartados por serviços de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de medicamentos ou apreendidos e os resíduos e insumos farmacêuticos dos medicamentos controlados pela Portaria MS 344/98 e suas atualizações;
- b) resíduos de saneantes, desinfetantes, desinfestantes; resíduos contendo metais pesados; reagentes para laboratório, inclusive os recipientes contaminados por estes;

- c) efluentes de processadores de imagem (reveladores e fixadores);
- d) efluentes dos equipamentos automatizados utilizados em análises clínicas; e
- e) demais produtos considerados perigosos, conforme classificação da NBR-10.004 da ABNT (tóxicos, corrosivos, inflamáveis e reativos).

III - GRUPO C: Quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de eliminação especificados nas normas da Comissão Nacional de Energia Nuclear-CNEN e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista.

a) enquadram-se neste grupo quaisquer materiais resultantes de laboratórios de pesquisa e ensino na área de saúde, laboratórios de análises clínicas e serviços de medicina nuclear e radioterapia que contenham radionuclídeos em quantidade superior aos limites de eliminação.

IV - GRUPO D: Resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares.

a) papel de uso sanitário e fralda, absorventes higiênicos, peças descartáveis de vestuário, resto alimentar de paciente, material utilizado em anti-sepsia e hemostasia de venóclises, equipo de soro e outros similares não classificados como A1;

b) sobras de alimentos e do preparo de alimentos;

c) resto alimentar de refeitório;

d) resíduos provenientes das áreas administrativas;

e) resíduos de varrição, flores, podas e jardins; e

f) resíduos de gesso provenientes de assistência à saúde.

V - GRUPO E: Materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: lâminas de

barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas; tubos capilares; micropipetas; lâminas e lamínulas; espátulas; e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares.

**ANEXO 2 - Certificado de avaliação e aprovação do método Petrim pelo MAPA
(Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) do Brasil**



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA
Coordenação Geral de Apoio Laboratorial - CGAL



Ofício nº 40 MICRO/CGAL/2010

Bsb, 28/04/2010

Ao Gerente de Negócios – Food Safety- 3M do Brasil
Dr. Marcelo Leonardo
Via Anhanguera Km 110- Sumaré/SP
CEP: 131.81-900 – (Interno: 23400)

Assunto: Métodos alternativos aprovados.

Prezado Senhor,

A Coordenação Geral de Apoio Laboratorial – CGAL comunica á Vossa Senhoria, que o Lanagro de Pernambuco, avaliou e aprovou para a área de microbiologia de alimentos os seguintes métodos:

- Placas de Petrifilm para Contagem de Coliformes e *E. coli* – (EC)
- Placas de Petrifilm para Cotagem de Coliformes Termotolerantes (CC)
- Placa de Petrifilm para Contagem de Aeróbios Mesófilos (AC)

Estes métodos estão autorizados para as análises oficiais do Ministério.

Atenciosamente,

FFA-Josinete Barros de Freitas
Responsável pela Micro/Físico/CGAL

ANEXO 3 - Certificado de conformidade das placas Petrifilm/AC 3M**CERTIFICADO DE CONFORMIDADE DO PRODUTO**

Este documento certifica que o produto descrito abaixo, comercializado pela 3M do Brasil Ltda., foi produzido de acordo com os requisitos de especificação e qualidade atualmente em vigor e, em alguns casos, requisitos acordados com o cliente. Este lote de produto atende seus requisitos de especificações.

A Manufatura de Health Care da 3M do Brasil é certificada em ISO 9001, ISO14001 e RDC59 (27/06/2000) através de organismos certificadores independentes e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Este certificado não altera quaisquer informações técnicas do produto e suas condições para venda.

CÓDIGO DO PRODUTO: H0001522830 e H0001544057

DESCRIÇÃO: PETRIFILM 6400 e 6406 P/AEROB - PLACAS PARA CONTAGEM TOTAL

VALIDADE: Julho/2014

Nº LOTE: 2014-07 TC

EMITIDO POR:

DATA: 23/1/2013

3M do Brasil Ltda.

Controle de Qualidade de Mercados de Saúde

E-mail: 3Mcertificadosaude@mmm.com

Telefone: 55-19-38386890

(assinado eletronicamente)

**CERTIFICADO DE CONFORMIDADE DO PRODUTO**

Este documento certifica que o produto descrito abaixo, comercializado pela 3M do Brasil Ltda., foi produzido de acordo com os requisitos de especificação e qualidade atualmente em vigor e, em alguns casos, requisitos acordados com o cliente. Este lote de produto atende seus requisitos de especificações.

A Manufatura de Health Care da 3M do Brazil é certificada em ISO 9001, ISO14001 e RDC59 (27/06/2000) através de organismos certificadores independentes e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Este certificado não altera quaisquer informações técnicas do produto e suas condições para venda.

CÓDIGO DO PRODUTO: H0001522830 e H0001544057

DESCRIÇÃO: PETRIFILM 6400 e 6406 P/AEROB - PLACAS PARA CONTAGEM TOTAL

VALIDADE: Julho/2014

Nº LOTE: 2014-07 TK

EMITIDO POR:

DATA: 8/2/2013

3M do Brasil Ltda.
Controle de Qualidade de Mercados de Saúde
E-mail: 3Mcertificadosaude@mmm.com
Telefone: 55-19-38386890
(assinado eletronicamente)

Product Manufacturing Certificate**Certificate of Analysis**

Product: 6400 or 6403 or 6406 or 6442 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates
 Lot: 2014-07 TK
 Stock #: 70-2005-7212-4 or 70-2006-7784-0 or 70-2005-7215-7 or 70-2007-7071-

Organism Tested	Minimum growth*	Result
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i> ATCC 19257	≥ -3.0	Passes
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	≥ -3.0	Passes
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	≥ -3.0	Passes

*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar media

ISO 11133-2 Performance Testing

Organism Tested	Criteria	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	PR** ≥ 0.7	Passes
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	PR** ≥ 0.7	Passes
<i>Bacillus spizizenii (subtilis)</i> ATCC 6633	PR** ≥ 0.7	Passes

**Productivity Ratio

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency and is an FDA registered drug and device site.

Created by Authorized Quality Personnel:
 JANELL KEPPEL
 01/23/2013

MANUFACTURE DATE: JAN 2013 EXPIRATION DATE: JUL 2014

3M Health Care
 PO Box 5227
 Brookings, SD 57006-5227
 1-800-328-1671

Version 6
 08/16/2011



CERTIFICADO DE CONFORMIDADE DO PRODUTO

Este documento certifica que o produto descrito abaixo, comercializado pela 3M do Brasil Ltda., foi produzido de acordo com os requisitos de especificação e qualidade atualmente em vigor e, em alguns casos, requisitos acordados com o cliente. Este lote de produto atende seus requisitos de especificações.

A Manufatura de Health Care da 3M do Brasil é certificada em ISO 9001, ISO14001 e RDC59 (27/06/2000) através de organismos certificadores independentes e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Este certificado não altera quaisquer informações técnicas do produto e suas condições para venda.

CÓDIGO DO PRODUTO: H0001522830 e H0001544057
DESCRIÇÃO: PETRIFILM 6400 e 6406 P/AEROB - PLACAS PARA CONTAGEM TOTAL
VALIDADE: Setembro/2014
Nº LOTE: 2014-09 TB

EMITIDO POR:

DATA: 11/4/2013

3M do Brasil Ltda.
Controle de Qualidade de Mercados de Saúde
E-mail: 3Mcertificadosaude@mmm.com
Telefone: 55-19-38386890
(assinado eletronicamente)

Product Manufacturing Certificate**Certificate of Analysis**

Product: 6400 or 6403 or 6406 or 6442 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates
 Lot: 2014-09 TB
 Stock #: 70-2005-7212-4 or 70-2006-7784-0 or 70-2005-7215-7 or 70-2007-7071-0

Organism Tested	Minimum growth*	Result
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i> ATCC 19257	≥ -3.0	Passes
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	≥ -3.0	Passes
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	≥ -3.0	Passes

*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar media

ISO 11133-2 Performance Testing

Organism Tested	Criteria	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	PR** ≥ 0.7	Passes
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	PR** ≥ 0.7	Passes
<i>Bacillus spizizenii (subtilis)</i> ATCC 6633	PR** ≥ 0.7	Passes

**Productivity Ratio

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency and is an FDA registered drug and device site.

Created by Authorized Quality Personnel:

TYLER HOLDERBY

03/11/2013

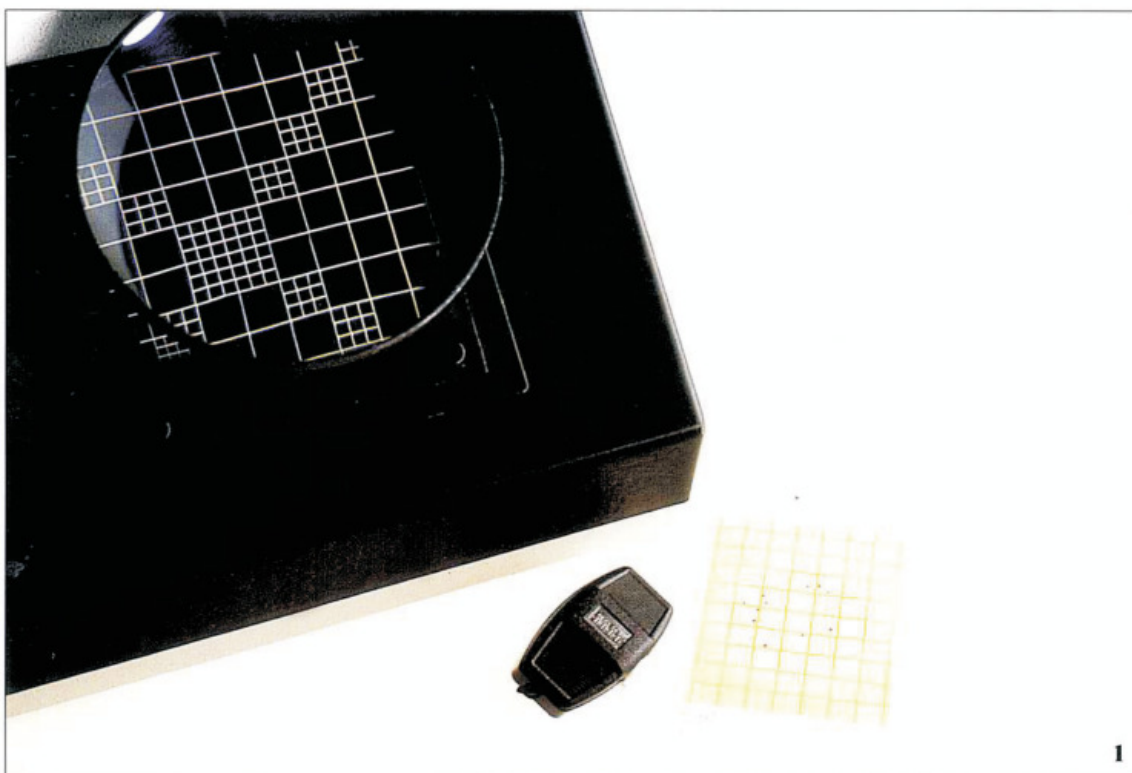
MANUFACTURE DATE: MAR 2013 EXPIRATION DATE: SEP 2014

3M Health Care
 PO Box 5227
 Brookings, SD 57006-5227
 1-800-328-1671

Version 6
 08/16/2011

ANEXO 4 - Guia de interpretação Petrifilm para contagem de colônias de aeróbios**Guia de Interpretação****Petrifilm™****Placa para Contagem de Aeróbios**

Esse guia apresenta resultados de placas Petrifilm para Contagem de Aeróbios. Para obter mais informações, contate o representante de produtos microbiológicos da 3M do Brasil Ltda.

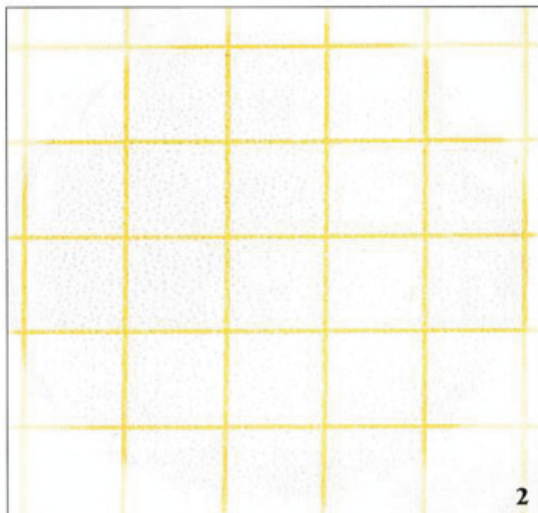


1

3M *Inovação*

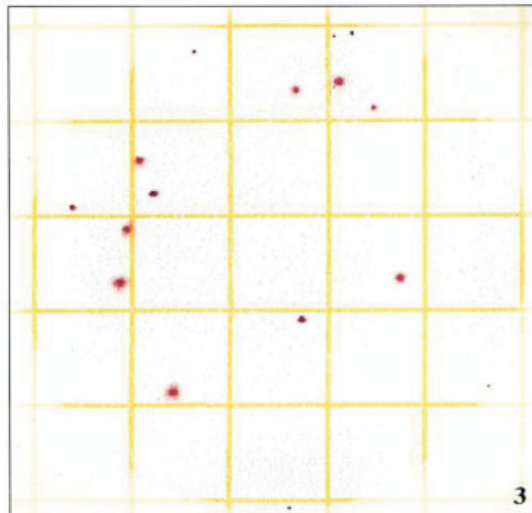
Petrifilm™

Placa para Contagem de Aeróbios



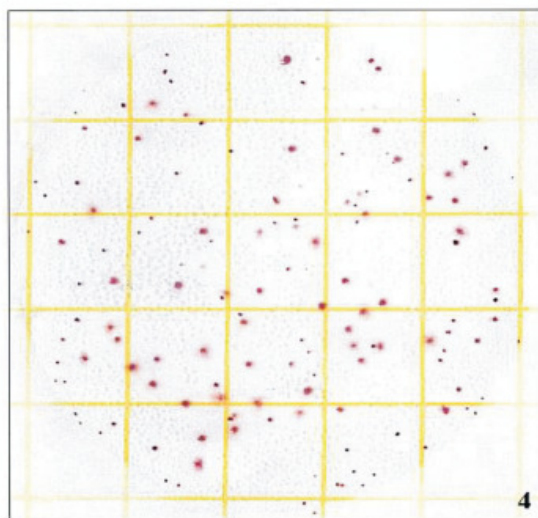
Contagem = 0

A interpretação das placas Petrifilm para Contagem de Aeróbios é muito fácil. A figura mostra uma placa Petrifilm para Contagem de Aeróbios sem nenhuma colônia.



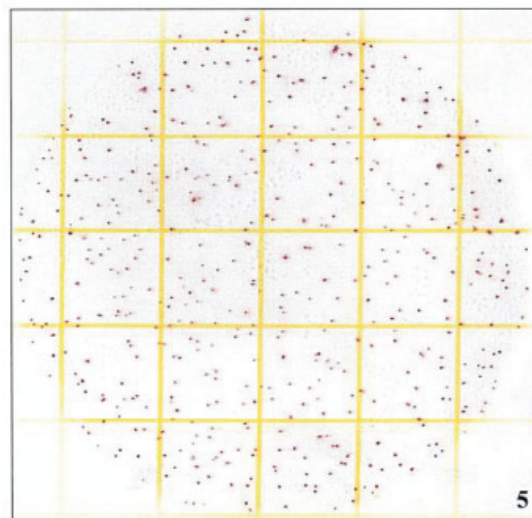
Contagem = 16

A figura 3 mostra uma Placa Petrifilm para Contagem de Aeróbios com algumas colônias. Um corante indicador vermelho na placa dá cor às colônias. Conte todas as colônias vermelhas independentemente de seu tamanho ou da intensidade de cor. Use um contador de colônias tipo Quebec para a leitura da placa Petrifilm.



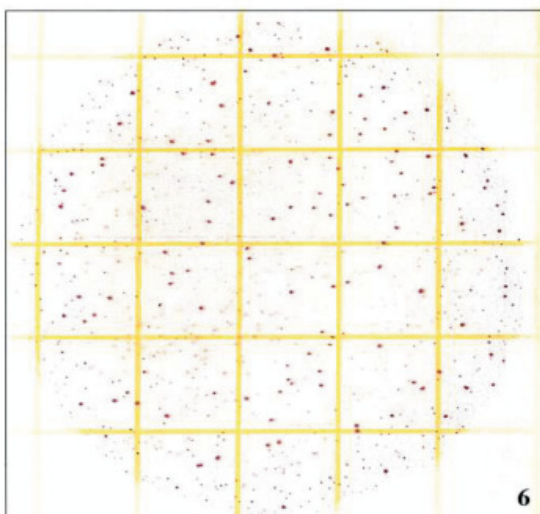
Contagem = 143

Como ocorre com as placas convencionais, a faixa de contagem de colônias nas placas Petrifilm para Contagem de Aeróbios é 25 a 250 colônias. Observe a figura 4.



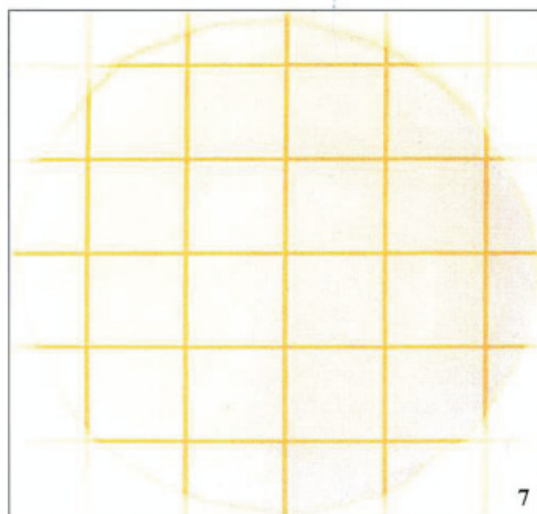
Contagem = 420

Quando o número de colônias é superior a 250, como na figura 5, a contagem deve ser estimada. Determine o número médio de colônias em um quadrado (1 cm²) e multiplique por 20 para obter a contagem total em uma placa. A área inoculada em uma placa Petrifilm é de aproximadamente 20 cm².



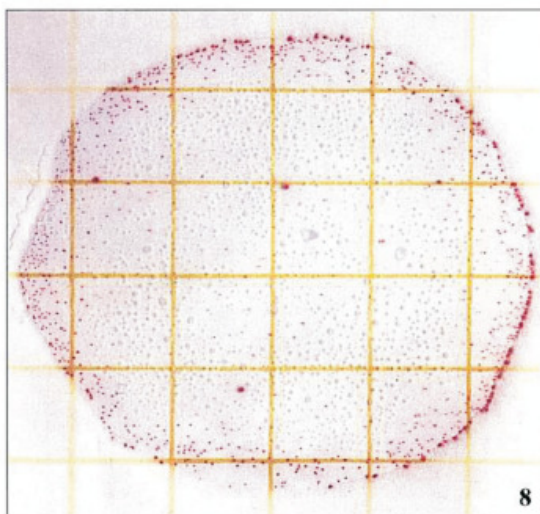
Contagem = incontável

A figura 6 mostra uma placa Petrifilm para Contagem de Aeróbios com um número incontável de colônias.



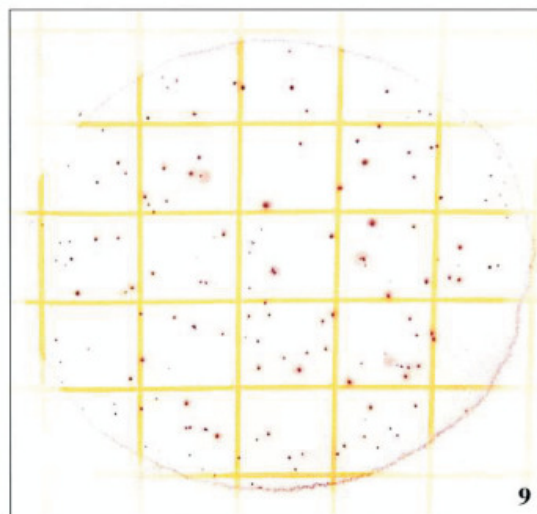
Contagem = incontável

Quando as contagens são muito altas, toda a área de crescimento fica avermelhada, como mostra a figura 7. Colônias individuais podem ser observadas nas bordas da área de crescimento. Esse resultado deve ser considerado como incontável.



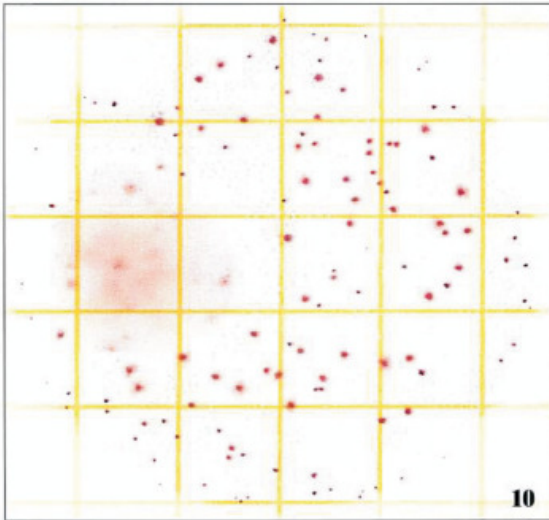
Contagem = incontável

Ocasionalmente, pode haver uma distribuição irregular de colônias como mostrado na figura 8. Nesses casos, o resultado também deve ser considerado incontável.



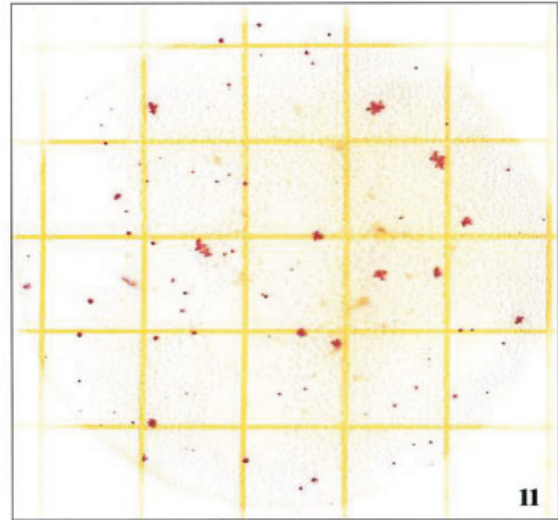
Contagem = incontável

Na figura 9, as colônias na placa Petrifilm para Contagem de Aeróbios parecem contáveis à primeira vista. Entretanto, um exame mais cuidadoso das bordas da placa mostra uma concentração muito elevada de colônias. Esse resultado também deve ser considerado incontável.



Contagem estimada = 160

Algumas espécies bacterianas liquefazem o gel das placas Petrifilm para Contagem de Aeróbios, como mostrado na figura 10. Quando isso acontecer, determine a média de contagem em quadrados não afetados e estime a contagem total. Manchas vermelhas na área afetada não devem ser contadas.



Contagem = 83

Nas placas Petrifilm para Contagem de Aeróbios é fácil fazer a distinção entre partículas de alimentos (opacas) e colônias (vermelhas). Observe a figura 11.

3M

Microbiologia
3M do Brasil Ltda.
Caixa Postal 123, Campinas - SP
CEP 13001-970

CRC
Centro de Relacionamento com o Cliente

Linha Aberta 3M: 0800-132333
Home Page: www.3M.com.br
e-mail: faleconosco@3M.com.br

ANEXO 5 - Escala nefelométrica de Mc Farland



ESCALA NEFELOMÉTRICA DE MC FARLAND

NEFELOBAC

Indicações:

A escala nefelométrica de Mc Farland é o padrão de turvação mais frequentemente utilizado nos laboratórios de microbiologia, para determinar a intensidade da multiplicação em meios de cultivo líquidos.

Esta multiplicação se manifesta nos meios líquidos por um aumento das partículas (bactérias) que se opõem a livre passagem da luz, provocando turvação ou opacidade no meio. Quanto maior o número de bactérias, maior será a opacidade do meio de cultura.

Característica dos componentes:

O NEFELOBAC é preparado de acordo com a fórmula nefelométrica de Mc Farland. Consiste em uma série de 11 tubos numerados de 0,5 a 10, com diferentes quantidades de cloreto de bário e ácido sulfúrico para se obter diferentes concentrações de sulfato de bário, que correspondem a diferentes contagens bacteriana. A equivalência destas contagens está expressa na tabela abaixo:

Tubo nº	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nº aprox. bac (x 10 ⁸)	1,5	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

Assim o tubo nº 5 corresponde a 150 milhões de bactérias por mL de meio e o tubo nº 10 corresponde a 3 bilhões de bactérias por mL de meio.

Procedimento:

Comparar a olho nu os tubos de NEFELOBAC com o tubo de cultura bacteriana. Antes, agitar vigorosamente os tubos do NEFELOBAC, pois em repouso o sulfato de bário tende a precipitar. Também homogeneizar o tubo com a cultura bacteriana, para ter uma suspensão (turvação) uniforme.

Recomendamos fazer as leituras comparativas dos tubos, colocando-os contra um texto impresso, de forma que a maior ou menor claridade das letras vistas através dos tubos indique maior ou menor turvação.

Observação: Não romper o lacre, abrir o frasco ou transferir para outro recipiente, pois tal prática não assegura transferência e manutenção da correta concentração de sulfato de bário.

Precauções: Após a validade deve ser descartado conforme as recomendações vigentes para resíduos de serviços de saúde.

Apresentação: Caixa com 11 frascos.

Conservação: Manter o produto em temperatura ambiente (10°C-30°C).

Validade: 12 meses.

Referências Bibliográficas:

1. Lennette, EH; Balows, A.; Hausler, WJ; Shadomy, HJ – Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1985.

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 01

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.
 Rua Jaguaribe, 35 – Sta.Cecília - São Paulo – SP - CEP: 01224-001
 Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368
 CNPJ 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111
 Site: www.probacbrasil.com E-mail: probac@probac.com.br