

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE AMOSTRAS BACTERIANAS EM
SUPERFÍCIES ABIÓTICAS COM A INFLUÊNCIA DE FLUÍDOS
BIOLÓGICOS

DEIGILAM CESTARI ESTEVES

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE AMOSTRAS BACTERIANAS EM
SUPERFÍCIES ABIÓTICAS COM A INFLUÊNCIA DE FLUÍDOS BIOLÓGICOS

DEIGILAM CESTARI ESTEVES

Dissertação apresentada à Universidade do Oeste Paulista - Unoeste, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional.

Orientador: Prof^o Dr^o Marcus Vinícius Pimenta Rodrigues.

628.35
E79a

Esteves, Deigilam Cestari.

Avaliação da viabilidade de amostras bacterianas em superfícies abióticas com a influência de fluídos biológicos / Deigilam Cestari Esteves. – Presidente Prudente, 2014.
81 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional) -Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2014.
Bibliografia.

Orientador: Marcus Vinícius Pimenta Rodrigues.

1. Viabilidade bacteriana. 2. Superfícies abióticas. 3. fluídos biológicos. 4. Contaminação ambiental. I. Título.

DEIGILAM CESTARI ESTEVES

**AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE AMOSTRAS BACTERIANAS EM
SUPERFÍCIES ABIÓTICAS COM A INFLUÊNCIA DE FLUÍDOS
BIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada à Universidade do Oeste Paulista - Unoeste, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, sob orientação do Profº Drº Marcus Vinícius Pimenta Rodrigues.

Presidente Prudente, 18 de dezembro de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcus Vinicius Pimenta Rodrigues
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Ana Paula Alves Favareto
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. André Martins
Instituto Adolfo Lutz
Marília - SP

DEDICATÓRIA

À minha amada e linda filha Mariana, que suportou todas as ausências e impaciências como uma guerreira, iluminando meu caminho e sendo a minha fortaleza. Te amo!

AGRADECIMENTOS

À CAPES - PROSUP e Unoeste, pela bolsa, que me permitiu levar esse experimento adiante.

Ao meu orientador, Dr. Marcus Vinicius Pimenta Rodrigues, por simplesmente ser o “tudo” desse processo, pela sabedoria para me impulsionar e me cobrar nos momentos exatos, proporcionando aprendizado para a vida, fazendo-me crescer dia a dia juntamente com o trabalho.

À professora Dra. Rogéria Keller, pela gentileza e ensinamentos em todos os momentos em que foi solicitada, e pelas “visitinhas” inesperadas no laboratório só para saber do andamento do experimento.

À professora Dra. Rebeca Delatore Simões, por todo o empenho em nos auxiliar com seus conhecimentos que só fizeram engrandecer esse trabalho.

Aos professores, os quais tive o prazer de conhecer e assistir às aulas, pela dedicação em nos mostrar novas ideias, pela motivação de fazer-me ver o mundo de outra forma e reconhecer a importância do que estávamos fazendo.

Aos funcionários, Joyce e Edson, por toda a dedicação e gentileza.

A Deus por estar presente em minha vida em todos os momentos, sendo meu guia e meu refúgio, por não me deixar fraquejar e por me levar cada vez mais longe.

À minha filha Mariana, que é um ser único nesse mundo, que movimenta tudo e todos a sua volta, que é amor, que é luz, que é vida, que é alegria, que gera um sentimento imensurável de gratidão e que é meu apoio em tudo na vida.

À minha filha Maria Alice, que escolheu vir para esse mundo sob os meus cuidados, enfrentando desde a barriga a vida atribulada da mamãe sendo forte em todos os momentos.

Aos meus pais, por todo incentivo, inclusive nessa jornada, que são o meu alicerce, que acreditam em mim e em meu potencial, que sofreram comigo a cada dia de estrada, a cada semana de ausência em casa, a cada noite sem dormir, a cada estresse, a cada apresentação.

Às minhas irmãs, eu não poderia pedir seres melhores, são as melhores parceiras que eu poderia escolher nesse caminho evolutivo. O carinho, o respeito, a amizade são os laços que nos cercam e o que nos mantêm unidos.

Ao Will, pela paciência, carinho e companheirismo, mas principalmente por ter a coragem de ficar em enfrentar comigo essa jornada.

Aos meus parceiros de experimentos, Heberth, Kerolin e Bruno, presentes que ganhei no decorrer dessa pesquisa, pessoas incríveis, para todas as horas, que se empenharam arduamente como se fosse o "filho" deles também.

Às técnicas do laboratório, "as arrasos", Maria e Vania, por me aguentarem nesses intermináveis e intensos dias, com paciência e diversas histórias.

Aos amigos de Mestrado, cada um que passou por mim só fez acrescentar, mas em especial a Meire e a Garbi, meninas que ocupam um lugar especial em meu coração.

Aos meus alunos, que me apoiaram, torceram e aguentaram minhas ausências.

Ao Gabriel, pelo apoio, cuidado e carinho, em partilhar alguns dias valiosos de estrada, pelas boas ideias, por todas as risadas e frisantes.

“(...) Não creia no que os seus olhos lhe dizem. Tudo que mostram é limitação. Olhe com o entendimento, descubra o que você já sabe e verá como voar”.

Richard Bach

RESUMO

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE AMOSTRAS BACTERIANAS EM SUPERFÍCIES ABIÓTICAS COM A INFLUÊNCIA DE FLUÍDOS BIOLÓGICOS

As infecções ambientais e hospitalares causadas por bactérias resistentes a um amplo espectro de antibióticos têm índices crescentes nos últimos anos, manifestando-se com alta morbidade e letalidade. Pesquisas recentes evidenciam que as bactérias demonstram um perfil de sobrevivência, em superfícies secas de modo a manter sua virulência quando expostas a fluidos biológicos como urina, saliva e sangue. O objetivo desse estudo foi documentar através de análises laboratoriais a capacidade de sobrevivência das principais bactérias de interesse médico em superfícies abióticas. Os procedimentos foram totalmente realizados no laboratório de microbiologia da Unoeste em Presidente Prudente - SP., utilizando cepas padrão ATCC de *Staphylococcus aureus*(ATCC25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Escherichia coli*(ATCC35218), *Klebsiella pneumoniae*(ATCC700603) e *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC27583), ao qual foram adicionados fluidos biológicos e água. As superfícies utilizadas foram piso, tecido sintético, colchão e tecido algodão. As superfícies foram contaminadas com suspensão composta pelas cepas ATCC, fluidos biológicos e água, além do controle contendo somente as cepas ATCC, armazenadas em placas de petri e mantidas em temperatura ambiente. A cada sete dias as superfícies armazenadas foram mergulhadas em caldo Tripscásina de Soja (TSB), colocadas na estufa por 24h a 37°C. Foram semeados do caldo contaminado em ágar Mueller Hinton e mantidos por 24h em aquecimento a 37° em Estufa. A análise da viabilidade foi realizada através da contagem de unidade formadora de colônias (U.F.C.). Para a análise estatística utilizou o software R, realizando os testes de Friedman e de Kruskal Wallis para comparações múltiplas, analisando dentro de cada fator (solução ou superfície) quais diferem entre si (Teste de Friedman) e, também, quais interações de tratamentos são diferentes (Kruskal-Wallis). Através dessas análises foi possível observar no presente trabalho que *Staphylococcus aureus* manteve a viabilidade por tempo maior que os outros microrganismos em todas as condições testadas, apresentando diferença significativa entre os fluidos e as superfícies, tendo sangue e tecido algodão crescimento de maior número de colônias. A *Klebsiella pneumoniae* apresentou diferença entre os fluidos, sendo a saliva com maior número de colônias. Para as outras bactérias testadas não houve significância isoladamente. Para as análises de comparações múltiplas somente para a *Pseudomonas aeruginosa* não houve diferença significativa entre algum par de tratamentos, as outras bactérias apresentaram diferenças significativas entre as correlações. A necessidade de analisar o impacto ambiental da persistência desses microrganismos em ambientes vulneráveis ao ser humano, norteia o delineamento de medidas para o controle na disseminação de microrganismos patogênicos.

Palavras-chave: viabilidade bacteriana, superfícies abióticas, fluidos biológicos, contaminação ambiental.

ABSTRACT

BACTERIAL SAMPLES OF FEASIBILITY ASSESSMENT SURFACE ABIOTIC WITH INFLUENCE BIOLOGICAL FLUIDS.

The environmental and hospital infections, caused by bacteria which are resistant to a wide variety of antibiotics, have shown increasing records in the last years, manifesting themselves in high mortality and lethality. Recent researches report that the bacteria presents a survival profile on dry surfaces in order to maintain their virulence when exposed to biological fluids such as urine, saliva and blood. The objective of this study was to document - through laboratorial analysis – the survival capacity of the main bacteria of medical interest on abiotic surfaces. The adopted procedures were completely conducted in the microbiology laboratory at Unoeste, in Presidente Prudente – SP. Standard ATCC strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Escherichia coli* (ATCC35218), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700603) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27583) were used, to which biological fluids and water were added. The surfaces were tile, synthetic fabric, mattress and cotton fabric. The surfaces were contaminated with suspension composed by the ATCC strains, biological fluids and water in addition to the control containing only the ATCC strains, which were stored in petri dishes, kept in room temperature. Every seven days the surfaces were dipped in trypticase soy broth and kept in the oven for 24h at 37°C. They were spread from the contaminated broth in Mueller Hinton agar and kept for 24h in the oven at 37°C. The viability analysis was done through the colony-forming unity (CFU) counting. For the statistical analysis, the Software R was used, through the Friedman and Kruskal Wallis tests for multiple comparisons, analyzing within each factor (solution or surface) which differ between one another (Friedman's test) and also which treatments interactions are different (Kruskal-Wallis). Through this analysis it was possible to observe that in the current work that *Staphylococcus aureus* kept its viability for a longer period than other microorganisms under all the tested conditions, presenting significant differences between the fluids and surfaces, with a particular colony growth in blood and cotton. The *Klebsiella pneumoniae* showed differences between fluids, with saliva containing the highest colony number. With regards to the other tested bacteria, there was no isolated significance. For the multiple comparisons analysis, only the *Pseudomonas aeruginosa* presented no significant difference between any pair of treatments, whereas the other bacteria presented significant differences between the correlations. The need to analyze the environmental impact of these microorganisms' persistence in environments, which are vulnerable to human beings, guides the creation of measures in order to control the spread of pathogenic microorganisms.

Key words: Bacterial viability, abiotic surfaces, biological fluids, environmental contamination.

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	<i>S. aureus</i> na superfície tecido algodão.....	34
GRÁFICO 2	<i>S. aureus</i> na superfície piso.....	35
GRÁFICO 3	<i>S. aureus</i> na superfície colchão.....	35
GRÁFICO 4	<i>S. aureus</i> na superfície tecido sintético.....	36
GRÁFICO 5	Variação da viabilidade bacteriana em tecido algodão.....	37
GRÁFICO 6	Variação da viabilidade bacteriana em piso.....	37
GRÁFICO 7	Variação da viabilidade bacteriana em tecido sintético.....	38
GRÁFICO 8	Variação da viabilidade bacteriana em colchão.....	38
GRÁFICO 9	<i>E. faecalis</i> com a superfície tecido algodão.....	40
GRÁFICO 10	<i>E. faecalis</i> com a superfície piso.....	40
GRÁFICO 11	<i>E. faecalis</i> com a superfície colchão.....	41
GRÁFICO 12	<i>E. faecalis</i> com a superfície tecido sintético.....	41
GRÁFICO 13	<i>E. coli</i> com a superfície tecido algodão.....	42
GRÁFICO 14	<i>E. coli</i> com a superfície piso.....	43
GRÁFICO 15	<i>E. coli</i> com a superfície colchão.....	43
GRÁFICO 16	<i>E. coli</i> com a superfície tecido sintético	44
GRÁFICO 17	<i>K. pneumoniae</i> com a superfície tecido algodão	45
GRÁFICO 18	<i>K. pneumoniae</i> com a superfície piso.....	46
GRÁFICO 19	<i>K. pneumoniae</i> com a superfície colchão.....	46
GRÁFICO 20	<i>K. pneumoniae</i> com a superfície tecido sintético.....	47
GRÁFICO 21	<i>P. aeruginosa</i> com a superfície tecido algodão.....	48
GRÁFICO 22	<i>P. aeruginosa</i> com a superfície piso.....	48
GRÁFICO 23	<i>P. aeruginosa</i> com a superfície colchão.....	49
GRÁFICO 24	<i>P. aeruginosa</i> com a superfície tecido sintético.....	50

LISTA DE ABREVIACOES

IACS	Infecções Associadas aos Cuidados em Saúde
R.N.	Recém - nascido
I.H.	Infecção Hospitalar
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
VRE	<i>Enterococcus</i> resistente a vancomicina
ECA	Proteína de ligação do colágeno do enterococo
ESP	Proteína de superfície do enterococo
Cyla	ativador de hemolisina do enterococo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ESBL	Beta Lactamase de Espectro Estendido
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1	As infecções associadas aos cuidados em saúde (IACS).....	16
2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>.....	20
2.3	<i>Enterococcus. faecalis</i>.....	21
2.4.	Enterobacteriaceas.....	22
2.4.1	<i>Escherichia coli</i>	22
2.4.2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
2.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivo geral.....	26
3.2	Objetivos específicos.....	26
4	JUSTIFICATIVA.....	27
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
5.1	Tipo de estudo realizado.....	28
5.2	Considerações éticas da pesquisa.....	28
5.3	Local da pesquisa.....	28
5.4	Caracterização e recrutamento da amostra.....	28
5.5	Procedimentos e instrumentos da pesquisa.....	29
5.6	Análise estatística.....	31
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
	REFERÊNCIAS.....	53
	ANEXOS.....	61
	ANEXO A -FRIEDMAN (COM COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS).....	62
	ANEXO B -KRUSKAL-WALLIS (COM COMPARAÇÕES MULTIPLAS).....	69

1 INTRODUÇÃO

As bactérias são microorganismos procariontes, unicelulares, não apresentam membrana nuclear delimitando o seu material genético (MURRAY; ROSENTHAL; PFAÜER, 2006). Além disso, podem ser encontradas em todos os ambientes, uma vez que dispõem de mecanismos que possibilitam a conservação da sua viabilidade por longos períodos de estresse (THOMAZ, 1999). São capazes de desempenhar diversas funções quando em equilíbrio com os seres vivos que compartilham o mesmo habitat e ainda com os seres que mantém relações. Segundo Trabulsi e Alterthum (2008), são inúmeros os trabalhos que evidenciam o importante papel das bactérias para a saúde do homem, por meio da microbiota normal, ressaltando sua capacidade de evitar a colonização de bactérias patogênicas através da competição por nutrientes e sítios de adesão.

O crescimento bacteriano de um microorganismo no organismo do hospedeiro, sem causar agressão, é chamado de colonização e pode induzir o indivíduo à infecção, podendo ou não apresentar manifestações clínicas, que caracterizam diversificadas patologias, salientando as relações harmônicas ou desarmônicas entre essas populações. As infecções causadas pelos agentes microbianos podem ocorrer por meio de multiplicação bacteriana, de origem endógena, bactérias que constituem a microbiota normal do indivíduo, ou por bactérias de origem exógena, adquiridas no ambiente comunitário ou hospitalar. (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Segundo Santos (2004), análises efetivas da condição ambiental do habitat de bactérias são necessárias, uma vez que esse microorganismo possui a capacidade de adaptação ágil ao meio, diretamente relacionada ao seu tempo de vida, que tornam-nas aptas a responder prontamente à perturbação ou ao estresse. Inserida no ambiente hospitalar, então, as bactérias sofrem várias pressões do ambiente, com destaque para o uso de múltiplos antimicrobianos que tendem a selecionar as cepas mais resistentes.

Infecções relacionadas a ambiente hospitalar são adquiridas, pelos pacientes, no decorrer de sua internação, diretamente relacionadas com o tempo de permanência no hospital e com a alta morbimortalidade, por isso dispõe de um acompanhamento de alto custo, o que se torna oneroso para o paciente, a família e as instituições de saúde. Tal fato reforça a necessidade de evitar a proliferação

desses microrganismos e, conseqüentemente, a contaminação de outros pacientes e, eventualmente, dos trabalhadores. (ROBERTS et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2011).

Conforme o Ministério da Saúde (M.S.) define, infecção hospitalar é qualquer infecção contraída após 72 horas de internação do doente, manifestada durante a permanência do paciente e até mesmo após alta, se relacionada à internação. Dessa maneira, não há como reduzir totalmente esse tipo de infecção, uma vez que é impossível eliminar as relações ecológicas existentes entre os seres vivos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2004b). Assim, o manejo dessas infecções ainda é desafiador para os controladores de infecção e responsáveis pelas práticas epidemiológicas, devido a frequente contaminação cruzada como grande fator, aproximadamente 40% (FERREIRA et al., 2011).

Dentre as principais bactérias de interesse médico relacionadas à contaminação ambiental estão: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e *Pseudomonas aeruginosa* (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2004a). Dentro do ambiente hospitalar, o correto rastreamento dessas linhagens de bactérias é fator fundamental para a identificação de uma provável fonte de contaminação (RODRIGUES, 2003).

Ressalta-se, ainda, que, em ambiente hospitalar, até mesmo em superfícies secas e aparentemente limpas, podem ser possíveis reservatórios de bactérias, que conseguem manter a capacidade de sobrevivência, através de um estado de bacteriostase (sem multiplicação), sendo capaz de garantir seu potencial patogênico por longos períodos nessa condição (JAWAD et al., 1996; ROSSI; DEVIENNE; RADDI, 2008; OLIVEIRA; DAMASCENO, 2010).

Segundo Hirai(1991), cocos GRAM positivos e bacilos GRAM negativos apresentam alta capacidade de sobrevivência em superfícies abióticas por longos períodos de tempo, dispondo de proteínas derivadas de fluidos biológicos (saliva, sangue e urina). Esse estudo é corroborado por Rossi, Devienne e Raddi (2008) que também verificaram o aumento da adesão bacteriana em superfícies na presença de fluidos biológicos. Ademais, para manter a viabilidade, as bactérias dependem de água, nutrientes e outros fatores para realizar as funções metabólicas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Considerando a relevância da relação da contaminação ambiental por *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, que podem levar a infecções bacterianas de alta morbimortalidade em ambientes hospitalares, o presente trabalho teve como objetivo analisar a viabilidade desses patógenos em superfícies abióticas, com ou sem a influência de fluidos biológicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 As infecções associadas aos cuidados em saúde (IACS)

Conforme o Ministério da Saúde (M.S.) define, na portaria de nº 2616, de 12 de maio de 1998, a infecção hospitalar (IH) é aquela adquirida após admissão do paciente, manifestada durante ou após a internação, quando relacionada à internação ou a procedimentos hospitalares. Neste documento, apresenta ainda fundamentos para amparar a definição de que, quando diagnosticada infecção comunitária por um microrganismo diferente, com agravamento das condições clínicas do doente, ou quando não se conhece o período de incubação do agente e não há evidência laboratorial ou clínica de infecção no momento da internação. Assim, considera-se I.H. as infecções que se apresentam a partir de 72h após a admissão, da mesma forma toda e qualquer infecção manifestada anterior ao período de 72h, se relacionada a procedimentos hospitalares durante esse período. Além disso, as infecções em recém-nascidos (R.N.) são todas consideradas I.H., exceto a transplacentária e relacionadas a bolsa rota superior a 24h. Já pacientes com infecções provenientes de outros hospitais, no hospital atual, são considerados como infecção comunitária (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

As infecções hospitalares são consideradas como evidente problema de saúde pública mundial, devido ao aumento da morbidade, da letalidade e do tempo de internação dos pacientes, pois ocasiona mudança nos padrões de resistência microbiana e, conseqüente, elevação nos custos assistenciais, com importante impacto na economia, no que concerne às políticas públicas de saúde (WOLFE et al., 2009; WEBER, 2010; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Estudos ressaltam a primordialidade de revisão do atual modelo de controle dessas infecções, com vistas a sanar as necessidades de hospitais de diferentes portes, salientando a emergência de aperfeiçoamento nas técnicas (KRAMER et al., 2006).

Atualmente as infecções hospitalares são chamadas de infecções associadas aos cuidados de saúde (IACS) e ainda são uma das principais causas de óbitos de pacientes hospitalizados. Acreditava-se que as infecções provinham da microbiota do paciente (infecção endógena), porém, estudos demonstraram que aproximadamente 40% dessas infecções têm relação com a transmissão cruzada,

por meio das mãos dos profissionais que podem ter sido contaminados pelos próprios pacientes ou ao tocar em superfícies contaminadas. Recentemente, evidências apontam que a contaminação ambiental exerce papel importante na transmissão dessas infecções, voltando à atenção aos reservatórios e meios de transmissão no ambiente nosocomial (WOLFE et al., 2009; WEBER, 2010; OLIVEIRA; DAMACENO, 2010).

O ambiente hospitalar está sujeito à contaminação de agentes patogênicos como as bactérias (CARVALHO et al., 2007; FAIRES et al., 2013), que crescem nas superfícies e podem produzir biofilmes, que são uma associação complexa e estruturada de células bacterianas dentro de uma matriz polimérica, auto-produzida e que se adere a superfícies, como cerâmica, aço inoxidável, vidro e polietileno, viabilizando a persistência dos organismos no ambiente, protegendo-os das pressões do meio, como biocidas e ação de antibióticos (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999).

Diversos outros fatores são relacionados ao desenvolvimento de um biofilme, como quantidade de inóculo, pH, temperatura, ação de antibióticos, forças hidrodinâmicas, presença de nutrientes e oxigênio e concentrações de metabólitos microbianos (CULLER, 2010).

Os biofilmes bacterianos podem aparecer em 65% dos casos de I.H., são impactantes com relação aos cuidados na área da saúde, o que exacerba a importância de limitar a contaminação das superfícies hospitalares e equipamentos, cujo objetivo seja a eliminação desses reservatórios (SMITH; HUNTER, 2008). Os biofilmes sésseis, que são aderidos, podem originar bactérias não sésseis, estas não se aderem, multiplicam-se e dispersam muito rápido, conseqüentemente, podem operar como o foco central de infecção aguda, alterando as defesas do hospedeiro fazendo com que sofra a ação das bactérias não sésseis liberadas em qualquer momento (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999).

Segundo Tortora, Funke e Case (2012), as infecções nosocomiais são favorecidas pela interação de algumas condições como: a ocorrência de microrganismos no ambiente hospitalar, hospedeiros imunocomprometidos e a cadeia de transmissão do hospital, constituindo a tríade ecológica, sendo uma interação equilibrada que ocorre entre agente, ambiente e hospedeiro. Tendo para o fator ambiente dentro das instituições de saúde considerado estrutura e

profissionais. Para o fator agente são considerados diversos microrganismos como as bactérias.

Como a interação constante entre seres humanos e ambiente inanimado é frequente, esses ambientes podem estar contaminados por potenciais patógenos. Sabe-se que fluidos e equipamentos contaminados podem favorecer a contaminação por microrganismos, e que, eventualmente, levam a surtos nesse ambiente (TRILLIS et al., 2008; NWANKWO, 2012). Somado a isso, ainda há a dificuldade em conter a propagação desses microrganismos o que eleva a morbidade, a mortalidade e os custos assistenciais nos serviços de saúde (ALMEIDA; SIMÕES; RADDI, 2007; PINA et al., 2010).

Para redução nas taxas de IACS são necessários a realização de monitoramento no ambiente de microrganismos e estudos sobre a associação desses fatores componentes da tríade ecológica (ambiente, agente e hospedeiro). Ambientes com menor risco de contaminação implicam no estabelecimento de medidas como limpeza, desinfecção, esterilização de materiais, equipamentos, superfícies e higiene dos profissionais da saúde.

As IACS apresentam características que levam os programas de controle de saúde a uma situação alarmante, devido a sua disseminação ser complexa e multifatorial (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2010). Isso porque a abordagem sobre as IACS tem sido relacionada ao aumento de custos, letalidade, riscos, frequência e gravidade. Considera-se a prevalência de 5 a 10% de infecções em pacientes hospitalizados, tendo as infecções urinárias como as de frequência maior, porém as mais letais são as ocorridas na corrente sanguínea e pneumonias (PINA et al., 2010).

Mesmo com as modernas técnicas de limpeza, desinfecção e esterilização, as infecções nosocomiais aumentaram cerca de 30% nos últimos 20 anos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Os primeiros relatos de infecções hospitalares foram por *S. aureus*, sendo ainda, o microrganismo mais frequente nas infecções hospitalares. Outros relatos apontam *E. coli* e *P. aeruginosa* com alguma relevância. Posteriormente, surgiram relatos de *Stafilococcus coagulase negativa* e *Enterococcus sp* como as bactérias Gram positivas relacionadas a esse tipo de infecção. Alguns desses microrganismos oportunistas tornaram-se resistentes a diversos antibióticos devido a vários fatores, dentre eles suas características

genéticas e a constante pressão seletiva do meio (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Vale ressaltar que algumas Enterobactérias têm apresentado multirresistência a antibióticos, entre elas a *Klebsiella pneumoniae*, o que reforça um grave problema de saúde pública mundial, com opções terapêuticas reduzidas e alta taxa de mortalidade (30 dias em 40% a 50%). O controle desses agentes patogênicos necessita de ações multidisciplinares, como a detecção de pacientes colonizados, prática de precaução de contato e tratamento apropriado (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2013).

A persistência bacteriana consiste em microrganismos sem característica genética, tornando-os resistentes a diversos antimicrobianos e compreendendo uma subpopulação de bactérias que tornam-se altamente tolerantes a antibióticos com características epigenéticas. (KUSSEL et al., 2005).

Outra estratégia, são as células em biofilme, que podem ser responsáveis pela perseverança das infecções crônicas e as células persistentes tendem a repovoar esses biofilmes e, não permitem a ação de antibióticos, resultando em tolerância, morte lenta e ausência de crescimento (KUSSELL et al., 2005; HONG et al., 2012). Essas bactérias não são geneticamente determinadas para resistência bacteriana, elas sobrevivem porque não ocorrem processos genéticos específicos, como nas persistentes, mas continuam a originar novas populações com a mesma vulnerabilidade aos antibióticos que os ancestrais, podendo ocorrer por parentesco ou por competição entre as populações (GARDNER; WEST; GRIFFIN, 2007). Há ainda como exemplo de estratégia para a persistência desses microrganismos a plasticidade fenotípica, ou seja, a capacidade que organismos têm de alterar a morfologia e a fisiologia de acordo com as condições ambientais. Esta desempenha papel crucial na modulação da variação ambiental como influência na população dinâmica, porém pouco se sabe sobre como a plasticidade interage com a magnitude e previsibilidade da variação ambiental para afetar a dinâmica e persistência da população (aptidão) (REED et al., 2010).

Ressalta-se que as superfícies presentes em ambientes de saúde podem ser veículos de contaminação transversal para diversos microrganismos, que frequentemente são encontrados em ambientes de saúde. A relevância de se detectar as fontes de transmissão e possíveis reservatórios desses microrganismos

persistentes tem aumentado as pesquisas na área. Estudos sobre a melhoria nas condições de limpeza do ambiente e higienização são realizados constantemente no intuito de demonstrar redução na disseminação bacteriana nesses ambientes de cuidados em saúde. (HAYDEN et al., 2006; PIMENTA RODRIGUES, 2008)

2.2 *Staphylococcus aureus*

Entre os microorganismos mais comumente associados à etiologia das infecções da saúde está o gênero *Staphylococcus*. Estes são bactérias gram positivas, esféricas (cocos), que formam agrupamentos irregulares em cachos de uva, aeróbias ou anaeróbias facultativas, imóveis, não produzem esporos, pertencente à família *Micrococcaceae*, apresentam parede revestida por peptidoglicano e ácido teicóico (KONEMAN et al., 2001). Constituem ainda, a microbiota residente ou transitória do homem e são responsáveis por diversas infecções, frequentemente relacionados a um amplo espectro de manifestações clínicas, podendo apresentar multirresistência a antimicrobianos, além de possuírem mecanismos que viabilizam a sua sobrevivência em períodos/ambientes de estresse (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2004c; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Segundo Trabulsi e Alterthum (2008), os principais fatores de virulência do *Staphylococcus aureus* são componentes da superfície celular e toxinas que auxiliam o patógeno a fugir do sistema imune do hospedeiro, além de possibilitar a adesão a células epiteliais e formação de biofilmes - relacionados às 65% das infecções nosocomiais (SMITH; HUNTER, 2008). Dessa forma, a responsabilidade pelo agravamento dos sintomas e das infecções, em parte, pode ser atribuída aos fatores de virulência.

O *Staphylococcus aureus* apresenta componentes de superfície como moléculas de adesão, proteína A e peptidoglicano, que conferem a capacidade de evadir-se do sistema do hospedeiro, assim como produzem várias enzimas extracelulares, tais como a catalase, nucleases, hialuronidases, lipase, fibrinolisinases que hidrolisam diferentes proteínas e outras moléculas, geram nutrientes utilizáveis pelo *S. aureus* e, ao mesmo tempo, facilitam a sua disseminação pelos tecidos (ARCHER; CLIMO, 1998; LADHANI et al., 1999; DINGES; ORWIN; SCHLIEVERT, 2000; FOSTER, 2005).

Relatos de resistência aos betalactâmicos foram descritos logo que começaram a ser utilizadas na prática clínica (LOWY, 2003). Menegoto e Picole(2007), em um estudo avaliando *Staphylococcus aureus*, relataram que o ambiente hospitalar passou a ser um reservatório de cepas resistentes à oxacilina, as quais são responsáveis por infecções hospitalares no mundo todo, e que exigem um alto investimento e com consequências ao paciente devido à toxicidade terapêutica.

Staphylococcus aureus resistentes a meticilina(MRSA) podem ser isolados de ambientes hospitalares e de trabalhadores da área da saúde, mas são de difícil erradicação e exercem papel importante no aumento de infecções cruzadas, em especial em pacientes imunocomprometidos, como queimados (RATTI; SOUSA, 2009; CAFUNDÓ et al., 2012; PIMENTA RODRIGUES et al., 2013).

2.3 *Enterococcus faecalis*

O *Enterococcus faecalis* tem apresentado crescentes índices de disseminação hospitalar pelo mundo todo. Pertence à família *Enterococcaceae*, a partir de 1980, teve sua taxonomia alterada para o gênero *Enterococcus*, sendo o *Enterococcus faecalis* o mais comum, constituindo de 85 a 90% das infecções relacionadas a este gênero. São cocos gram-positivos de formato esférico ou cocobacilar, pode apresentar arranjos em pares ou pequenas cadeias. Em sua maioria, são anaeróbias facultativas, não formam endósporos e podem mover-se por raros flagelos, fazem parte da microbiota intestinal, habitando o cólon e podendo colonizar o trato genital feminino e a uretra e, ainda, a cavidade bucal, sendo um patógeno oportunista (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003; JAWETZ; BUTEL; MORSER, 2005; LEVINSON, 2010; PREETHEE et al., 2012;).

Estes microrganismos podem apresentar-se resistentes a diversos antibióticos. Normalmente são catalase negativa, não hemolíticos, crescem na presença de bile, hidrolisam a esculina, apresentam crescimento em NaCl, a 6,5 (MORETTI et al., 2004; JAWETZ; BUTEL; MORSER, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). É uma bactéria comum em solos, água e plantas, porém algumas cepas têm presença frequente em infecções nosocomiais, responsável por infecções em feridas cirúrgicas, trato urinário e endocardites e em infecções

neonatais (MUSSI-PINHATA; NASCIMENTO, 2001; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Persiste em ambientes hospitalares, em tecidos utilizados em leitos de pacientes e nas mãos de profissionais da saúde.

O *Enterococcus* apresenta fatores de virulência como enzimas líticas, citolisinas, ácido lipoteicoico, fatores de agregação e adesinas (STUART, 2006), proteína de ligação de colágeno (ECA), proteína de superfície de enterococos (ESP) e ativador de hemolisina (Cyla), adquirindo resistência contra fagócitos, anticorpos e antimicrobianos. Desempenham um papel significativo na adesão de enterococos à matriz extracelular, podendo aderir-se a parede, acumular-se e formar biofilmes. Possui, ainda, habilidade de se adaptar aos ambientes com intensa pressão seletiva, tais como: pH baixo, nutrição deficiente, baixo teor de oxigênio e baixas temperaturas (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003; PARADELLA et al., 2007).

2.4 Enterobacteriaceas: *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*

As enterobactérias compreendem bactérias GRAM-negativas, da Família Enterobacteriaceae, que apresentam a forma de bacilos curtos (JAWETZ; BUTEL; MORSE, 2005). São isoladas em rotina laboratorial com frequência, apresentando colônias secas ou mucóides grandes (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2004a). Apresentam, em quase totalidade, fermentação da glicose, citocromo oxidase negativa e redução de nitrato a nitrito. A esse grupo de bactérias, pertencem a *Escherichia coli* e a *Klebsiella pneumoniae*, as quais, segundo Vieira et al. (2007), estão entre as principais responsáveis por infecções do trato urinário (ITU), podendo tornar-se resistente aos antibióticos, com perfil Betalactamase de Espectro Estendido – ESBL, cada vez mais frequentes (PAI et al., 2004; KIM et al., 2002).

2.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli faz parte da microbiota entérica de mamíferos e aves, são anaeróbios facultativos, fermentadores de lactose e manitol, podem ser produtores de betalactamases e outras enzimas (KONEMAN et al., 2001; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). É o organismo mais abundante no cólon e nas fezes e demonstram

heterogeneidade antigênica. Exibe os tipos O (cadeia lateral do lipopolissacarídeo), H (flagelar) e K (cápsula), gera mais de 1000 tipos antigênicos de *E. coli* e apresenta relação com a natureza clonal. Estão associados às infecções do trato urinário em mulheres jovens, à diarreia infantil e meningite neonatal (JAWETZ; BUTEL; MORSER, 2005; CARNEIRO, 2008; LEVINSON, 2010).

A infecção urinária é a segunda infecção humana mais comum, tendo a etiologia acometida por bactérias GRAM-negativas, sendo a *E. coli* o microrganismo invasor mais frequente, em 90% dos casos (PIRES *et al.*, 2007). Além disso, a *E. coli* pode estar envolvido em casos de septicemias, choque induzido por endotoxinas e pneumonias (KONEMAN *et al.*, 2001; JAWETZ; BUTEL; MORSER, 2005). Nas últimas duas décadas, muitos métodos têm sido aplicados para comparar cepas de *E. coli* na tentativa de identificar os mecanismos de transmissão e as fontes de contaminação (ZADOKS *et al.*, 2002).

2.4.2 *Klebsiella pneumoniae*

A *Klebsiella pneumoniae* é um microrganismo imóvel, encontradas no ambiente natural, solo e água, podem colonizar o homem no trato gastrointestinal, genitourinário e respiratório. Isolados, rotineiramente em ambiente hospitalar e em infecções nosocomiais, apresentam taxa significativa de mortalidade e podem estar relacionadas a algumas manifestações clínicas como pneumonia, infecção urinária, septicemia precoce ou tardia, infecções no local da cirurgia, atingindo pacientes com sistema imunológico enfraquecido, como recém-nascidos, pacientes idosos e imunocomprometidos (GUPTA *et al.*, 2003; PIMENTA RODRIGUES, 2008; MEYER; PICOLI, 2011; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Uma característica importante desse microrganismo é a sua capacidade de se tornar resistente às drogas de escolha para os quadros infecciosos a que, usualmente, está relacionado, como os carbapenêmicos, por meio da produção de enzimas que podem degradar essa classe de antibióticos, como por exemplo as carbapenemase, dificultando o tratamento de infecções graves (MEYER; PICOLI, 2011; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Por isso, o conhecimento dos mecanismos relacionados à virulência é de interesse e auxiliam na compreensão da causa e no agravamento da doença.

As *K. pneumoniae* apresentam plasmídeos epidêmicos, estruturas de resistência móveis, podendo ser transmitidos entre bacilos gram-negativos de diferentes espécies *in vivo* (GUPTA et al., 2003; MEYER; PICOLI, 2011; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Surtos destas espécies infecciosas têm sido associados com uma ampla variedade de fontes e reservatórios como pias, refletores e equipamentos de proteção individual (EPIs) (PIMENTA RODRIGUES et al., 2008). Segundo Meyer, Picoli (2011), de 30% a 60% de cepas de *Klebsiella* isoladas de unidades de terapia intensiva apresentam perfil de resistência a betalactâmicos.

2.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Ainda no grupo das bactérias GRAM-negativas, encontramos as não fermentadoras (Bacilos Gram Negativos Não Fermentadores), que são encontrados livremente na natureza, como habitantes do solo e água, e tendo sido isolados em leite cru, soluções desinfetantes e peixes. Pertencente à família Pseudomonadaceae, um representante desse grupo que apresenta-se com frequência, é a *Pseudomonas aeruginosa*. Esta, mesmo com a vasta distribuição no ambiente e capacidade de contaminação, raramente coloniza seres humanos (PAVIANI; STADNIK; HEINEK, 2004; HOTA, 2004; TUON; GORTZ; ROCHA, 2012). Em seres humanos são considerados parasitas inofensivos de membranas das mucosas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2013), pois degrada carboidratos por via oxidativa e pode ser encontrado em todos os ambientes, contribuindo para o ubiquitarismo dessa bactéria (POLLACK, 2000; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2004a).

A multiplicação ocorre sem muita exigência nutricional e não necessita de fatores orgânicos de crescimento (POLLACK, 2000). A *P. aeruginosa*, dentre os bacilos Gram-negativos, mostra desenvoltura à resistência antimicrobiana (FIGUEIREDO et al., 2007; YAKUPOGULLARI et al., 2008). É um patógeno primariamente hospitalar e habita lugares com presença de líquidos e fluidos (PAVIANI; STADNIK; HEINEK, 2004; JAWETZ; BUTEL; MORSER, 2005).

De acordo com Trabulsi e Alterthum (2008), a *Pseudomonas aeruginosa* torna-se importante na clínica por apresentar um perfil de multirresistência a antimicrobianos e desinfetantes que estão relacionados a diversos fatores como a produção de biofilmes, a diminuição da permeabilidade celular, a perda do canal de

porinas, a alteração nos mecanismos de efluxo e a produção de enzimas de espectro estendido de betalactamases, metalobetalactamases e carbapenemases (PAVIANI; STADNIK; HEINEK, 2004; YAKUPOGULLARI et al., 2008). Dessa forma, superfícies do ambiente hospitalar podem apresentar importância variável na disseminação da *Pseudomonas aeruginosa*. (WEINSTEIN; HOTA, 2004).

Estudo realizado por Paviani, Stadnik e Heinek (2004) apresentou que a *Pseudomonas aeruginosa* foi encontrada entre os patógenos mais frequentes de pacientes em unidades de terapia intensiva, de recém-nascidos, em pacientes imunodebilitados e idosos, fomentando a necessidade de controle dos possíveis reservatórios (SILVA et al., 2002, JAWETZ; BUTEL; MORSER, 2005; CRIVARO et al., 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Analisar a viabilidade de amostras bacterianas em superfícies abióticas, com ou sem a influência de fluidos biológicos (sangue, urina e saliva).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o tempo de viabilidade bacteriana em superfícies abióticas, com ou sem fluidos biológicos (saliva, urina e sangue).
- Analisar a viabilidade bacteriana em diferentes materiais como: tecido fibra sintética, tecido fibra de algodão, piso cerâmica e colchão caixa de ovo.
- Analisar as possíveis relações entre os materiais, fluidos corporais e tempo de viabilidade.

4 JUSTIFICATIVA

As relações entre os indivíduos são parte da vida de todos os seres vivos, quando analisamos o meio ambiente como um conjunto de fatores naturais que envolvem as relações entre os seres vivos e as influências que exercem uns sobre os outros, é indispensável a realização de pesquisas, com o objetivo de avaliar a capacidade de sobrevivência de seres que sofrem interferência do meio em que vivem e que podem causar algum tipo de impacto no ambiente, sobretudo nos indivíduos que compartilham esse mesmo habitat.

A análise da relação entre homens e microrganismos nos proporcionou a compreensão de que seu mutualismo é harmonioso quando em equilíbrio e deve ser preservado, fato esse que pode ser corroborado através dos conceitos relacionados à microbiota normal do homem. Da mesma maneira, esta análise nos expõe a vertente que, eventualmente, exista algum tipo de interferência sobre essas relações, sendo elas de origem intrínseca (depressão de sistema imunológico) ou extrínseca (uso de antibióticos e outros fatores), podendo ocorrer perturbações em ambas as populações.

Considerando que o sucesso do estabelecimento dos processos infecciosos esteja condicionado aos fatores relacionados ao agente infeccioso, ao hospedeiro e ao meio ambiente, a morbidade das infecções pode ser causada por desequilíbrios morfofisiológicos e ambientais em uma ou mais condições da Tríade Ecológica. Dessa forma, faz-se necessário analisar o impacto ambiental da persistência dos potenciais agentes infecciosos em ambientes de alta vulnerabilidade ao ser humano, como em hospitais.

Sabendo-se que a transmissão de agentes infecciosos bacterianos em ambientes hospitalares possui uma relação direta com a contaminação de superfícies ou materiais abióticos e bióticos na dinâmica da transmissão cruzada desses potenciais agentes infecciosos com os hospedeiros, o presente estudo avaliou a manutenção da viabilidade desses agentes em ambientes desfavoráveis, com ou sem a presença de fluidos biológicos. Assim, a presente pesquisa está pautada no conhecimento desses aspectos, podendo auxiliar em medidas taxativas de controle da contaminação ambiental e na escolha de materiais com menor susceptibilidade à disseminação patogênica em ambientes de alta vulnerabilidade.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo a ser realizado

O tipo de estudo que subsidia este trabalho é a investigação quali-quantitativa, por meio do levantamento bibliográfico, das pesquisas documentais e experimentais da observação direta intensiva e da pesquisa descritiva, com estudo de corte transversal.

5.2 Considerações éticas da pesquisa

Essa pesquisa foi realizada exclusivamente em laboratório, com cepas padronizadas e adquiridas comercialmente. Não utilizou-se animais, nem indivíduos de nenhuma etnia.

5.3 Local da pesquisa

Todos os procedimentos da pesquisa experimental foram realizados no Laboratório de Microbiologia, situado à rua José Bongiovani, nº 700, Bloco G no Campus I da Unoeste, Presidente Prudente-SP.

5.4 Caracterização da amostra

Para caracterização da amostra, foram utilizadas cepas controle, a saber: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), que apresenta como características não ser produtora de β -lactamase; *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), por apresentar-se sensível à vancomicina e ampicilina e altos níveis de aminoglicosídeos; *Escherichia coli* (ATCC 35218), por caracterizar-se como produtora de β -lactamase; *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), produtora de β -lactamase de espectro ampliado; e *Pseudomonas aeruginosa* sensível a antibióticos anti-pseudomonas. (ATCC27583)¹.

¹Dados obtidos através do certificado e disponíveis no site da ANVISA.

5.5 Procedimentos e instrumentos da pesquisa

Os procedimentos laboratoriais foram realizados conforme esquematizado na Figura 1, em triplicata. As cepas bacterianas foram cultivadas utilizando caldo BHI - Caldo Infusão de Cérebro e Coração (B.D. Becton Dickinson GmbH, Alemanha), mantidos em estufa a 37°C por 24h, em fase exponencial foram centrifugadas por 10 minutos a 2500rpm. Houve formação de sedimento, ao qual foi lavado e ressuspendido em salina estéril para obtenção de suspensão bacteriana correspondente ao padrão 1,0 da escala de McFarland ($3,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias/mL).

Adicionou-se à suspensão bacteriana, em concentração volumétrica (v/v), os fluídos, sangue e urina (ambos seriam descartados pelo laboratório de Análises Clínicas), saliva artificial (Manipulação à dose da Salivan, Apsen Farmacêutica, São Paulo, Brasil) e água destilada estéril (Figura 2 A formando os inóculos).

Foram utilizados quatro tipos de superfícies (corpos de prova) com área de 9,0 cm² sendo: piso cerâmico (LEF Cerâmica modelo 3020, PEI 4, qualidade A, espessura 7,7 mm), fragmento de tecido em fibras de algodão (branco) e em fibras sintéticas (azul) e colchão caixa de ovo (azul, espessura 7 mm), as superfícies foram previamente lavadas e esterilizadas.

As superfícies foram contaminadas com 20µL dos inóculos e armazenadas em placas de Petri de vidro esterilizadas, mantidas fechadas, em temperatura ambiente (Figura 2 B).

Quanto à viabilidade bacteriana, foram consideradas como viáveis aquelas que podem se multiplicar e formar colônias, enquanto que a célula bacteriana, considerada não viável, é chamada de inviável ou morta (KELL *et al.*, 1997). A viabilidade bacteriana foi determinada experimentalmente através da imersão das superfícies em frascos contendo TSB - Caldo Tripsicaseína de Soja (HIMEDIA, Índia), agitados vagarosamente e incubados a 37°C por 24h (Figuras 2 C e 2 D).

Os testes foram realizados 24 horas após a contaminação das superfícies sendo reavaliados a cada 7 dias até a ausência do crescimento bacteriano ou por no máximo três meses, simultaneamente e os experimentos foram realizados por três meses.

Em relação ao número de corpos de prova inoculados no dia zero, foram utilizados aproximadamente 300 corpos para cada material e fluido biológico. Como controle foram utilizados corpos de prova inoculados com as suspensões bacterianas acrescidas apenas de água (sem fluídos biológicos) e corpos de prova apenas com a suspensão bacteriana (sem água e sem fluídos biológicos).

Do caldo contaminado com as superfícies, foram pipetados 100µL em frasco contendo 1,0ml de salina estéril e sequentes diluições até a 4ª diluição (1:10000 - 10⁴).

Foram inoculados 100µL do preparado na 4ª diluição em placa de petri contendo Ágar Mueller Hinton (NEOGEN Corporation, Estados Unidos) espalhados com a alça de Drigalski e mantidos em Estufa a 37°C por 24h (Figura 2 E).

As leituras foram realizadas por meio da técnica de contagem padrão em placas para Unidades Formadoras de Colônias (UFC), com resultados expressos em notação científica em UFC/mL (Figura 2 F).

As análises estatísticas realizadas foram as de Friedman e de Kruskal-Wallis com o teste de comparações múltiplas.

FIGURA 1 - Fluxograma geral dos procedimentos.

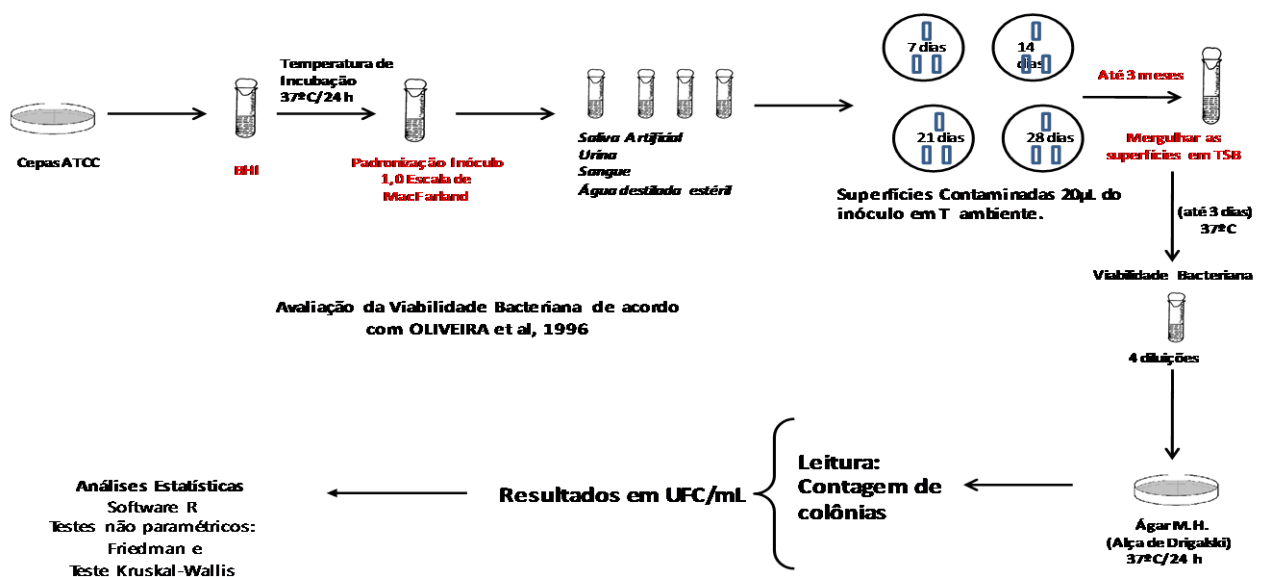
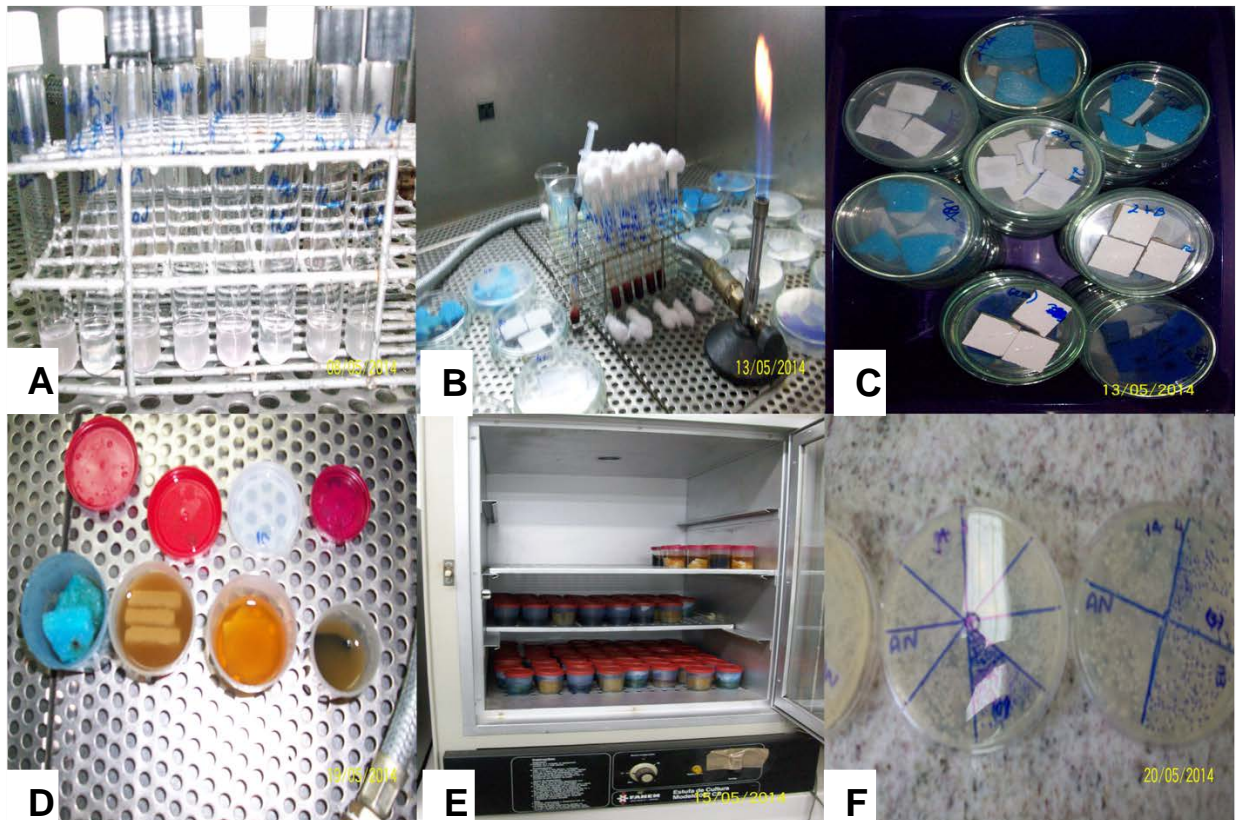


FIGURA 2 - Procedimentos Laboratoriais



Fonte: Acervo próprio

A)Preparação da suspensão bacteriana.**B)**Suspensão bacteriana adicionada ao fluido biológico sangue para inoculação nas superfícies.**C)** Superfícies já contaminadas com os inóculos e armazenadas em Placa de Petri.**D)** Superfícies mergulhadas em caldo TSB.**E)** Superfícies em caldo TSB na estufa a 37°C.**F)**Leitura das Unidades Formadoras de Colônias em Placas de Petri contendo ágar.

5.6 Análise estatística

Para a análise estatística, os dados foram expressos através de log base 10. Foram utilizados dois testes não paramétricos o Teste de Friedman que testa experimentos em blocos ao acaso, analisando mais de uma vez a mesma condição, e o teste de Kruskal-Wallis analisa variáveis independentes.

A análise consiste em apresentar, dentro de cada fator (fluido ou superfície), quais níveis (sangue, urina, saliva e água, e piso, tecido sintético, colchão e algodão para o fator superfície) diferem entre si (Teste de Friedman) e, também, quais interações de tratamentos são diferentes (Kruskal-Wallis). O nível de significância foi estabelecido em 0.05, determinada quando o valor de p foi <0,05, assim as decisões foram tomadas considerando o nível de confiança do teste de 95%.

Considerando-se cada interação possível, pode-se identificar se há diferença entre as mesmas, ao qual foi utilizado primeiramente, o teste de Kruskal-Wallis para verificar se existe ao menos um par de tratamentos diferentes e posteriormente empregou-se o método de comparações múltiplas a fim identificar quais são distintas, estatisticamente, ao nível de significância de 5%. Todos os cálculos foram realizados em linguagem de programação R (ou *software* R). (CAMPOS, 2001; BEIGUELMAN, 2002; LARSON, 2010).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A facilidade de adaptação e tolerância de microrganismos à ambientes variados acontece, principalmente, por apresentarem capacidade de dissipação, versatilidade metabólica, tamanho diminuído e transferência lateral de genes que pode conceder recombinação de características, dando condições de adaptação em ambientes inconstantes e de intensa pressão seletiva como o ambiente hospitalar.

As bactérias circulantes no hospital e que levam as infecções associadas à assistência à saúde podem apresentar algumas características de virulência e resistência específicas devido a alguns fatores como a pressão seletiva do meio e a utilização inadequada de antimicrobianos. Em decorrência disso, essas bactérias podem sobreviver durante semanas em superfícies hospitalares (TALON, 1999; SEXTON et al., 2006; BOYCE, 2007; HARDY et al., 2011; NWANKWO, 2012).

Dessa forma, a análise da viabilidade bacteriana em superfícies do ambiente hospitalar contribui para medidas de controle e prevenção dessas infecções associadas à cuidados em saúde (SEXTON et al., 2006; BOYCE, 2007, FERREIRA et al., 2011). Hota (2004) destaca alguns dos patógenos no que concerne a sua capacidade de sobrevivência em ambientes hospitalares, a citar: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*.

A viabilidade bacteriana dos microrganismos pesquisados neste estudo, apresentou variação conforme a superfície e o fluido adicionado. Os fluídos por sua vez, contem nutrientes que fornecem condições da bactéria continuar viável por maiores períodos. Esses dados corroboram outros estudos que relataram a contaminação de superfícies e instrumentos hospitalares, como os relatos de Wolfe et al. (2009). Os autores descrevem a contaminação bacteriana em canetas de fisioterapeutas de uma Unidade de Terapia Intensiva (U.T.I.). Acresce-se, ainda, estudos feitos por Faires et al. (2013), sobre a identificação e epidemiologia de *S. aureus* e *Clostridium difficile*, cuja presença também foi encontrada em superfícies hospitalares.

Pimenta Rodrigues et al. (2008), em um estudo que avaliou a persistência de potenciais patógenos em uma clínica de cirurgia odontológica, por meio de técnicas moleculares para avaliação da similaridade genética de microrganismos, dentre eles *S. aureus*, demonstraram que os isolados de *S.*

aureus, geneticamente idênticos, foram coletados do ambiente em coletas com intervalo de 3 meses, demonstrando a persistência do *S. aureus* nesse ambiente, sendo tal fato corroborado pelos resultados encontrados no presente estudo para *S. aureus*, pois observou-se a manutenção da viabilidade desses microrganismos por mais de 60 dias em todas as superfícies testadas em presença de água e de fluidos biológicos.

Na análise estatística pelo teste de Friedman para as superfícies isoladamente, o tecido algodão apresentou crescimento de maior número de colônias, podendo ser justificado devido ao fato do algodão ser um tecido orgânico e ter maior capacidade absorviva, como pode ser observado no gráfico 1 e comparados com os gráficos 2, 3 e 4, e para os fluidos sangue, saliva, além de água permitiram crescimento de maior número de colônias que a urina. Para a realização da análise utilizando o teste de Kruskal-Wallis para as comparações multiplas, apresentou significância para as associações entre, sangue e tecido algodão, e para urina associada ao piso respectivamente.

GRÁFICO 1 -*Staphylococcus aureus* na superfície tecido algodão

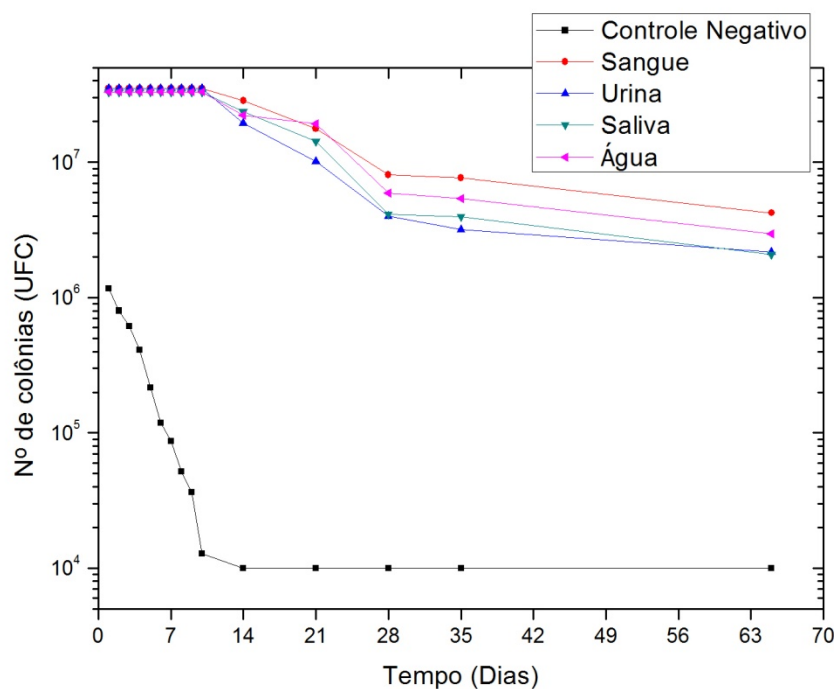


GRÁFICO 2 - *Staphylococcus aureus* no piso

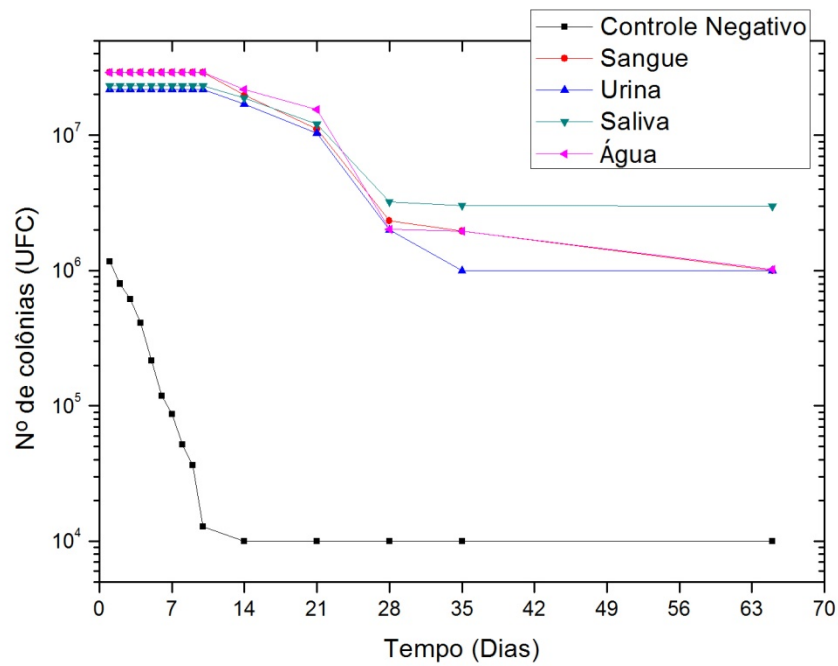


GRÁFICO 3 - *Staphylococcus aureus* na superfície tecido sintético

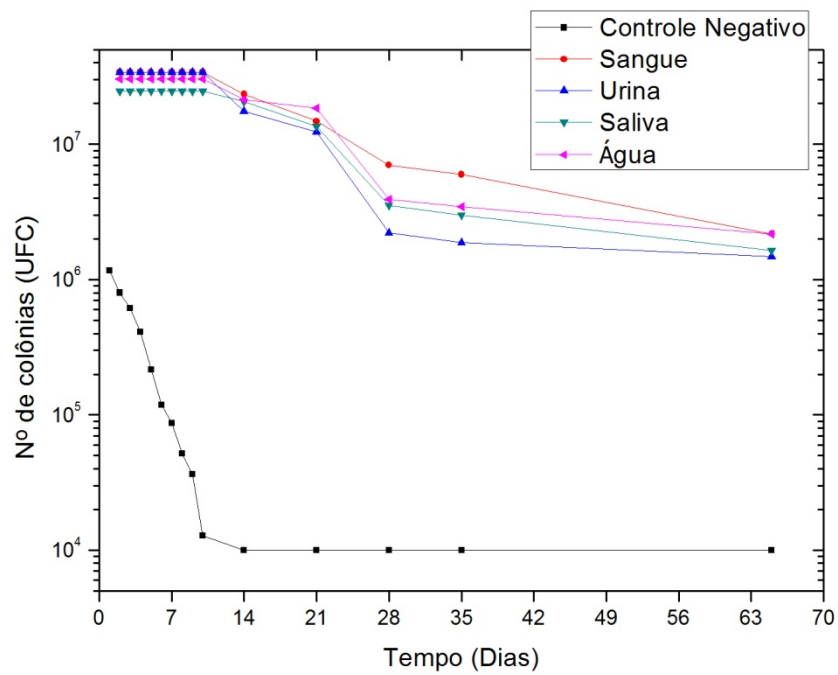
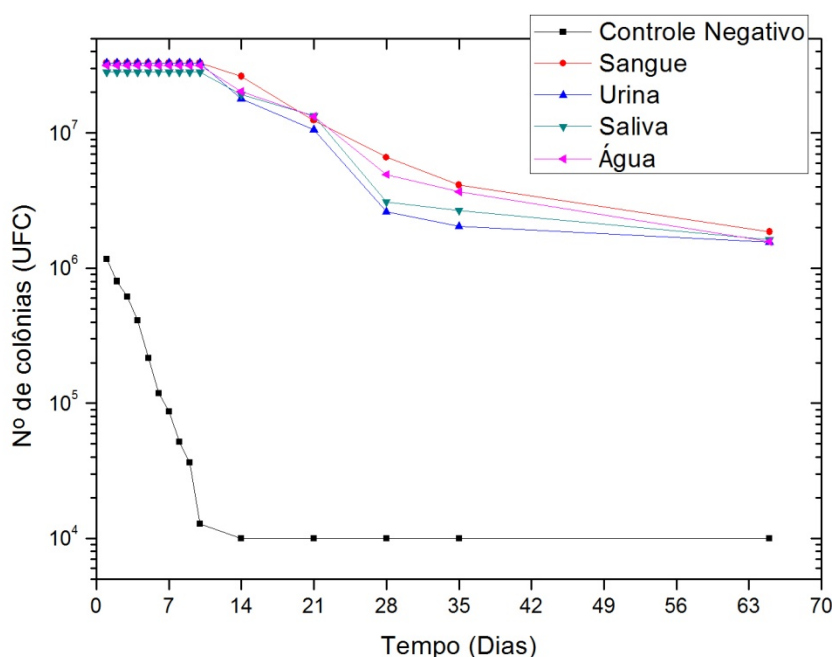
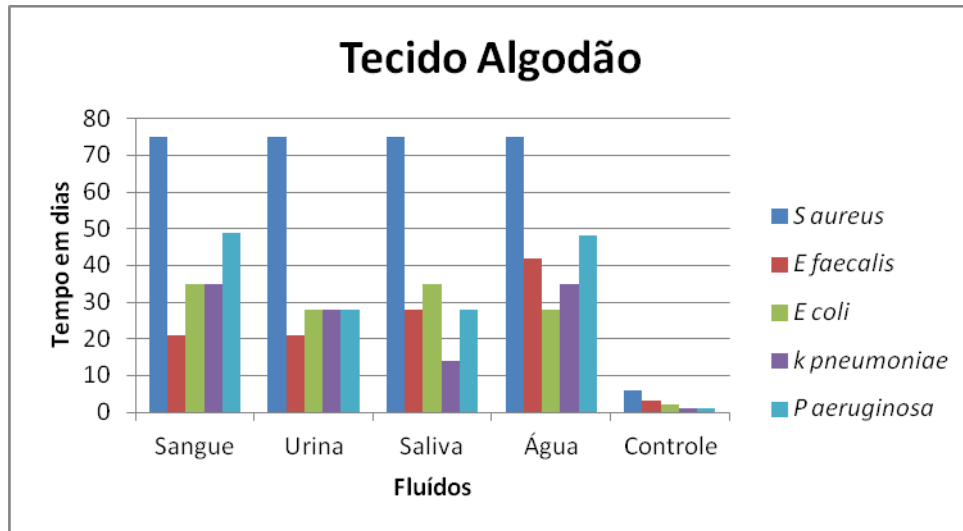


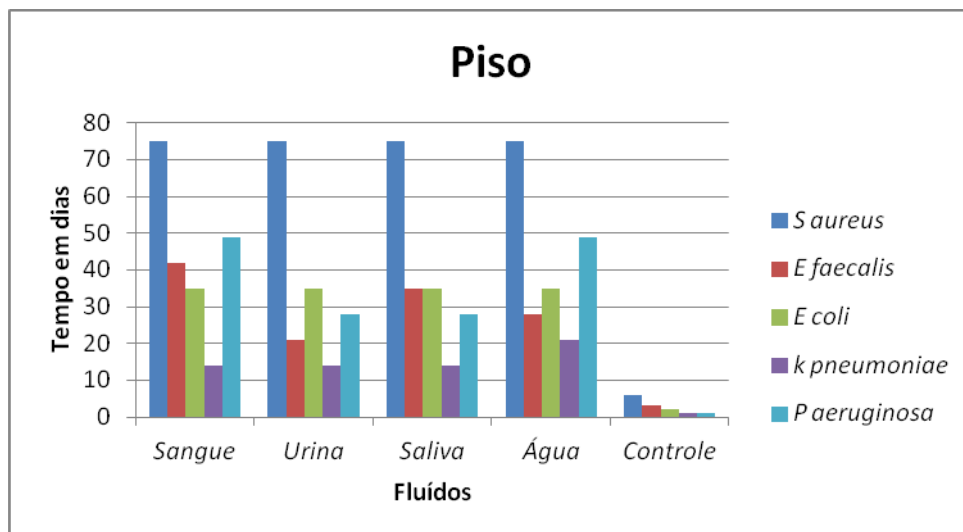
GRÁFICO 4 - *Staphylococcus aureus* colchão

Jawad et al. (1996), em um estudo sobre a influência da umidade relativa sobre a sobrevivência de *Acinetobacter* spp., em superfícies secas, comparou bactérias Gram positivas e negativas e descreveu que, em presença de açúcar, soro, proteína e sangue, as células bacterianas aumentam a viabilidade. Esse estudo é ratificado por resultados observados no presente estudo, o qual apresentou aumento da viabilidade mediante presença de componentes que permitiam as bactérias a utilização de nutrientes.

Rossi, Devienne e Raddi (2008), em estudo sobre *S. aureus* a influência dos fluidos biológicos na sobrevivência em diversas superfícies secas, relatou também que a presença de fluidos permitiu um aumento da viabilidade. Assim, a adição de sangue nas superfícies apresentou a manutenção da viabilidade bacteriana em 72 dias. Resultados similares foram observados no presente estudo, em que a adição de sangue permitiu a sobrevivência por um período superior a 65 dias para todas as superfícies testadas. Dados apresentados por Kok (2014), em um estudo sobre as superfícies e fômites como fonte de infecções associadas aos cuidados em saúde, observou crescimento de *S. aureus* por 63 dias nos cobertores de algodão, sendo corroborado com os resultados encontrados no presente estudo (Gráfico 5) tendo o *S. aureus* mantido a viabilidade em decréscimo lento.

GRÁFICO 5 - Variação da viabilidade bacteriana em Tecido Algodão

Carvalho et al. (2007), em uma pesquisa sobre MRSA e MSSA, em superfícies hospitalares, identificou que em 42% dos pisos, a presença de *S. aureus*. Dados similares também foram descritos por Rossi, Devienne e Raddi (2008), que relataram ainda que o piso, mesmo sem ter relação direta com a transmissão, manteve a viabilidade por períodos prolongados, conforme foi corroborado no presente estudo e que é demonstrado no Gráfico 6.

GRÁFICO 6 - Variação da viabilidade bacteriana em Piso

Hota (2004), em outro estudo avaliando a relação da contaminação de ambientes hospitalares por microrganismos, relatou que *S. aureus* manteve a viabilidade no colchão, roupas dos pacientes e profissionais da saúde, por até 45 dias, corroborando também os resultados do presente estudo (Gráfico 7 e 8).

A potencial relação entre transmissão e superfícies inanimadas contaminadas com microrganismos, têm relação com a transmissão dos mesmos, levando às infecções associadas aos cuidados em saúde, reforça a importância dos dados das pesquisas desenvolvidas neste trabalho (ROSA et al., 2009).

GRÁFICO 7 - Variação da viabilidade bacteriana em Tecido Sintético

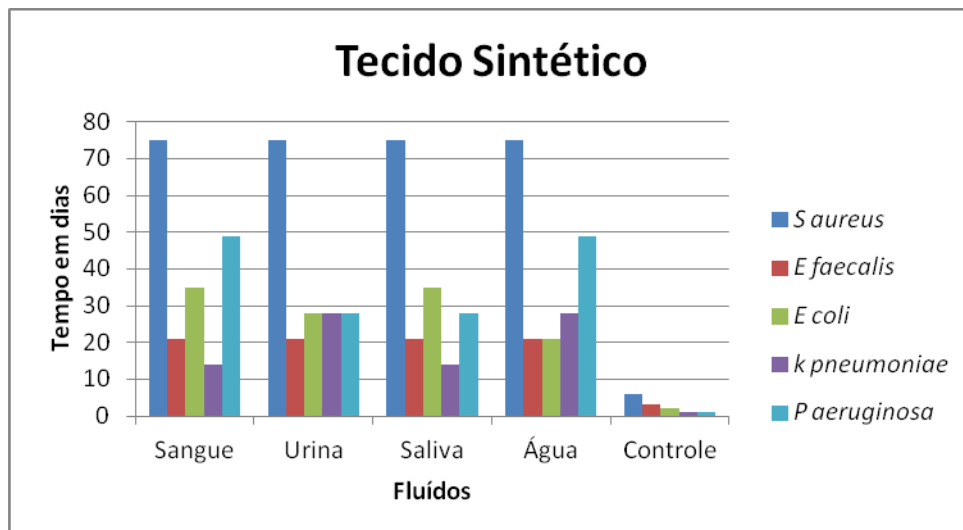
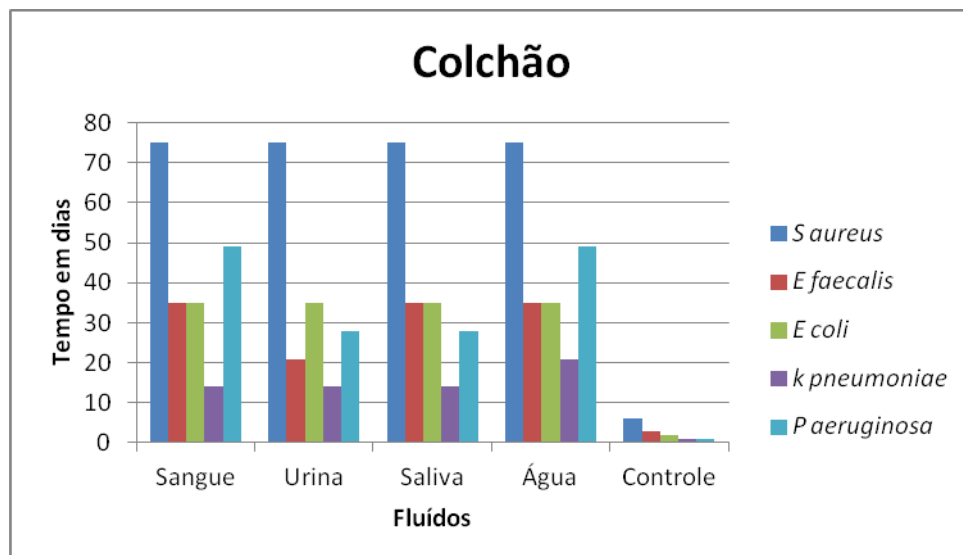


GRÁFICO 8 - Variação da viabilidade bacteriana em Colchão



Trillis et al. (2008), em estudo de contaminação de cortinas em serviços de saúde, atestaram que 42% das cortinas estavam contaminadas com *Enterococcus* Resistente a Vancomicina – VRE, o que demonstra o potencial de transmissão desses agentes.

Em outro estudo, Hübner et al. (2011) pesquisaram a sobrevivência de organismos bacterianos em papel toalha no ambiente hospitalar, em superfícies secas, sem a presença de fluidos, e relataram que o *Enterococcus* apresentou longo período de viabilidade no ambiente estudado, o presente estudo discorda dos dados.

Outros estudos demonstraram a presença de *Enterococcus* Resistentes a Vancomicina – VRE, em diversos ambientes, em superfícies inanimadas e em vestimentas, implicando na urgência de reconhecimento desses reservatórios, com sobrevida por até 58 dias em bancadas (HOTA, 2004; HAYDEN et al., 2006; KOK, 2014). Esses dados vão de encontro aos descritos no presente estudo, em que foi possível observar que, a partir do 21º dia, houve declínio do número de células bacterianas, demonstrando queda de sua viabilidade nas condições testadas, com ou sem a presença de fluidos biológicos (Gráficos 9, 10, 11 e 12).

Em contrapartida, os dados apresentados no presente estudo apresentam similaridade aos resultados apresentados por Wolfe et al. (2009), cujo estudo apresentou sobrevivência em trilhos da cama, roupas de cama e equipamentos, com média de 5 dias, ressaltando que esses microrganismos podem sobreviver em superfícies, tornando-se reservatórios, o que também foi possível observar no presente estudo. As análises para os fatores isolados (fluidos e superfícies) não apresentaram diferença significativa, entretanto quando analisadas associadas apresentaram respectivamente relevância para as seguintes associações: sangue e tecido algodão, saliva associada ao tecido algodão, sangue associada ao tecido sintético, saliva com tecido algodão, sangue com tecido algodão e saliva associada ao piso.

GRÁFICO 9 -*Enterococcus faecalis* na superfície tecido algodão.

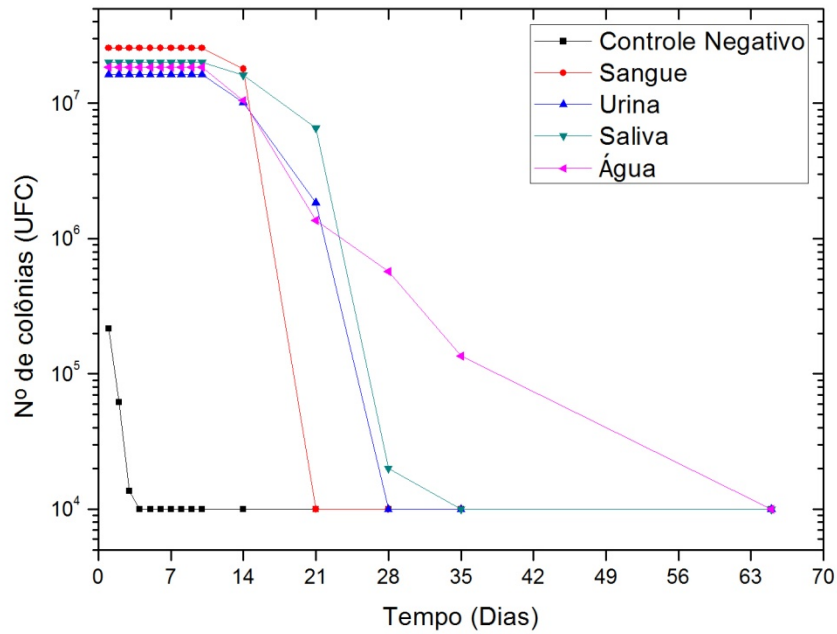


GRAFICO 10- *Enterococcus faecalis*na superfície piso

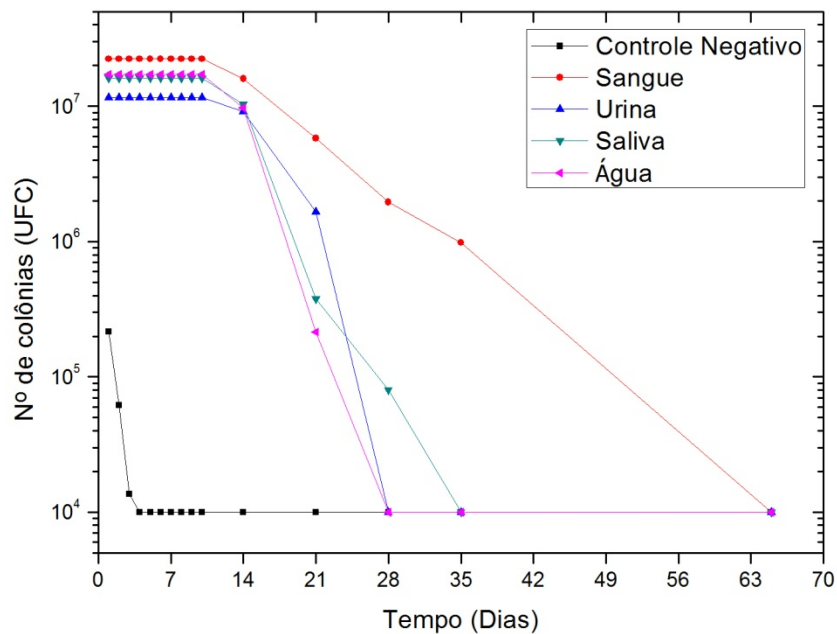
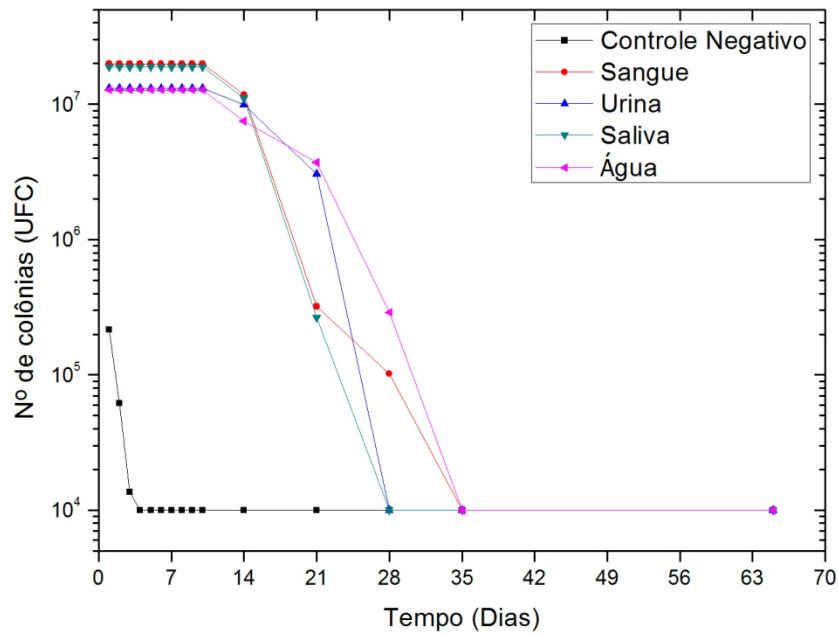
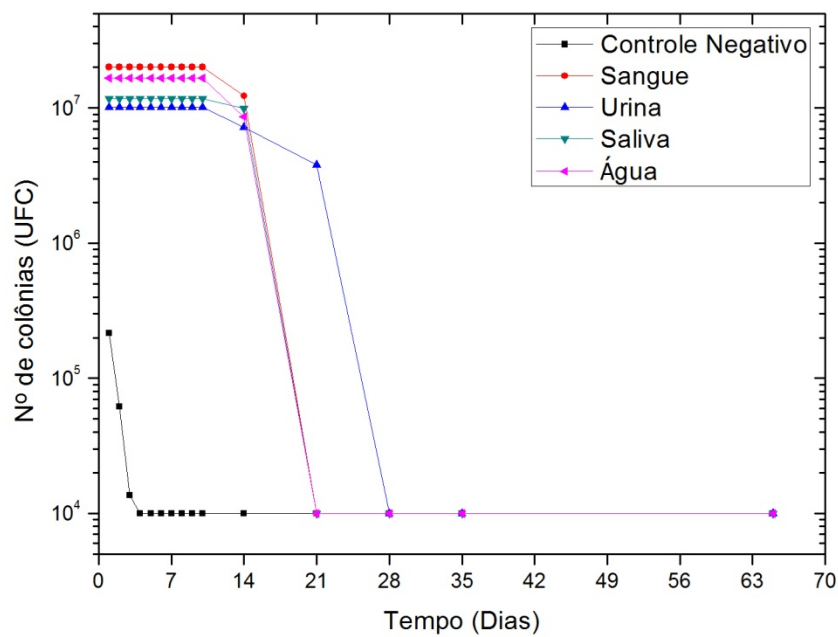


GRÁFICO 11 *Enterococcus faecalis* superfície colchão**GRÁFICO 12** *Enterococcus faecalis* na superfície tecido sintético.

Já para as amostras de bactérias GRAM-negativas testadas, a *E. coli*, que, segundo relatos de Hota (2004), não têm relação com eventos de disseminação em ambiente inanimado, é frequentemente relacionada a contaminação fecal orgânica, apresentou diminuição gradativa de sua viabilidade, conforme demonstrado nos Gráficos 13, 14, 15 e 16. Esses dados são corroborados pelos descritos por Hübner et al. (2011), que pesquisaram a sobrevivência de bactérias em papel toalha, no ambiente hospitalar, em superfícies secas, sem a presença de fluídos, relatou que *Escherichia* apresentou declínio acentuado de sua viabilidade.

As análises realizadas pelo teste de Friedman não apresentaram valor significativo para os fatores isoladamente, enquanto que para as interações realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis apresentaram significância nas comparações entre, urina associada ao tecido algodão, sangue com colchão, urina associada tecido algodão e urina com colchão, respectivamente.

GRÁFICO 13 - *Escherichia coli* na superfície tecido algodão

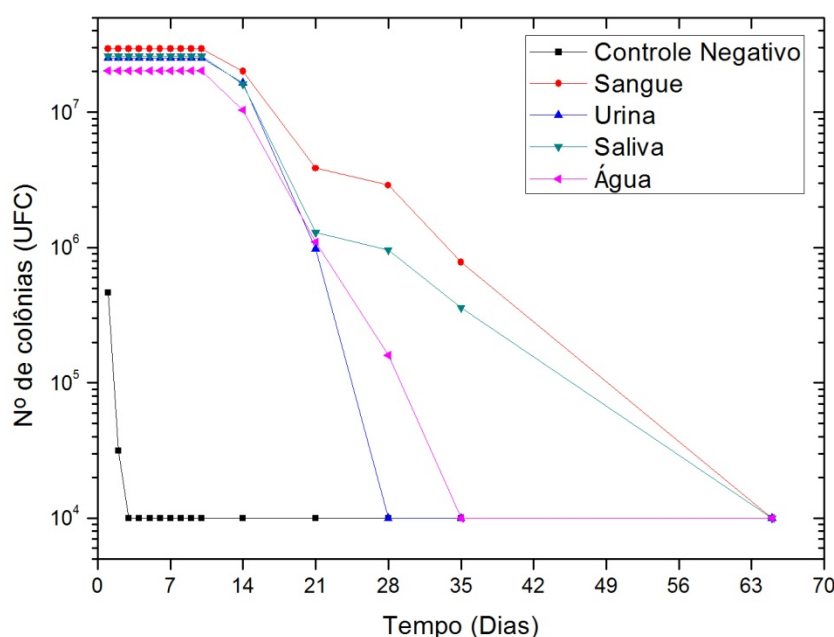


GRÁFICO 14 - *Escherichia coli* na superfície piso

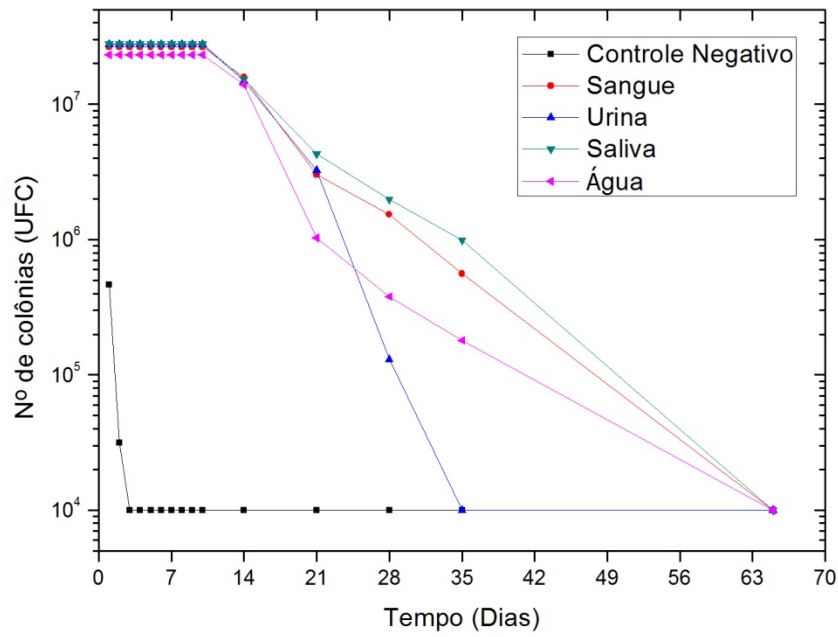


GRÁFICO 15 - *Escherichia coli* na superfície colchão

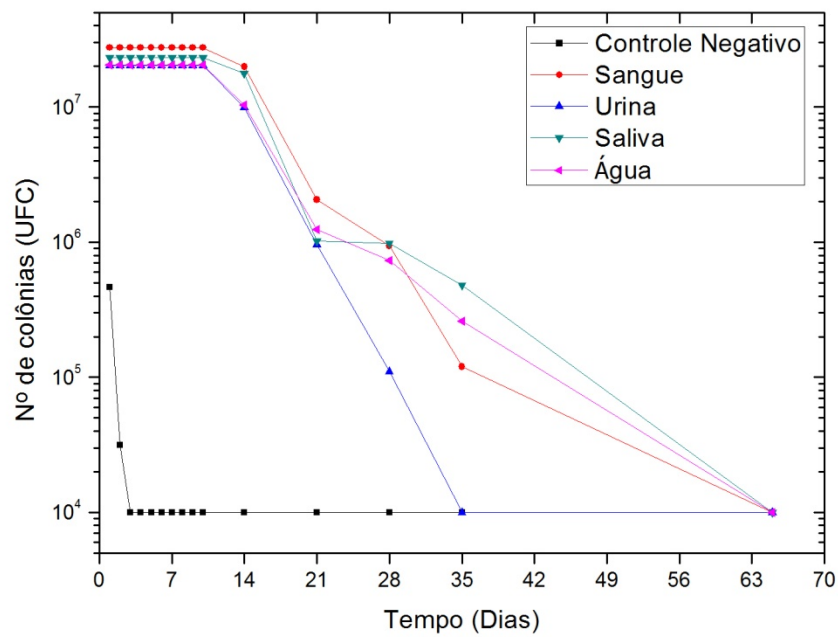
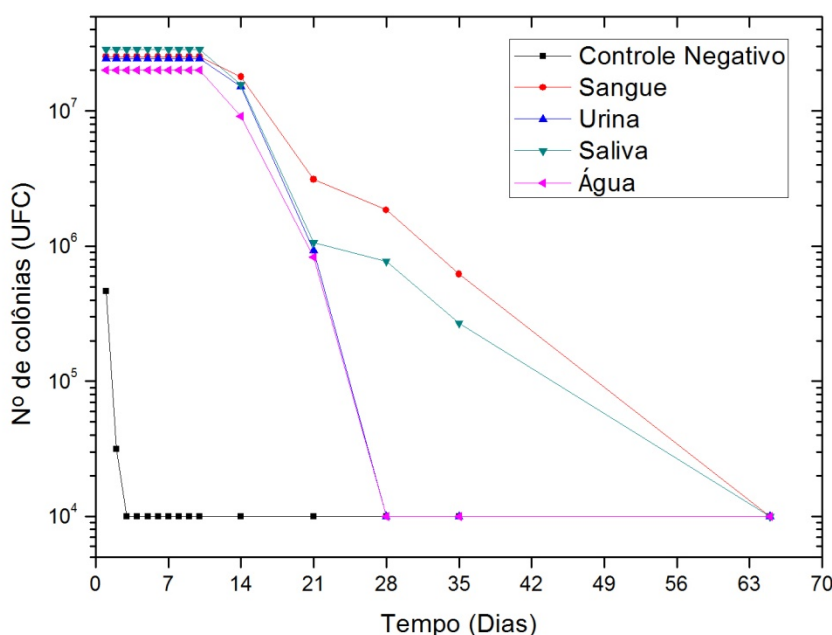


GRÁFICO 16 - *Escherichia colina* superfície tecido sintético



Estudos têm demonstrado a capacidade que amostras de *Klebsiella pneumoniae* apresentam em persistir nos ambientes de serviços de saúde, nas diferentes superfícies, por longos períodos, com ou sem a presença direta de fluidos biológicos. Dentre esses estudos, Pimenta Rodrigues et al. (2008) avaliaram a disseminação bacteriana em uma clínica odontológica de ensino, utilizando técnicas moleculares de similaridade genética. Os autores demonstraram que algumas amostras bacterianas isoladas, de superfícies como pias, refletores, mãos e luvas de dentistas, persistiram por até 3 meses no ambiente. Em outro estudo avaliando a similaridade genética de amostras de *K. pneumoniae* e *K. oxytoca* isoladas em ambiente odontológico Pimenta Rodrigues et al. (2008), demonstraram a persistência desses microrganismos no ambiente, em períodos superiores a 3 meses. Esses resultados são divergentes dos resultados observados para a amostra de *K. pneumoniae* testada no presente estudo, que apresentou declínio acentuado de sua viabilidade com ausência de crescimento a partir de 21º dia (Gráficos 17, 18, 19 e 20). Em contrapartida, dados apresentados por Hirai (1991), os quais demonstram que as amostras de *K. pneumoniae* perderam a viabilidade mais rapidamente que as outras bactérias testadas em seu estudo, vão ao encontro dos resultados apresentados no presente estudo.

Para o teste de Friedman isoladamente a saliva foi significativa, justificando a presença frequente em consultórios odontológicos, seguido do fluido sangue, ao mesmo tempo que as superfícies não apresentaram significância estatística para esse teste. Quando analisadas pelo teste de Kruskal - Wallis as associações entre saliva com tecido algodão, água com tecido sintético, saliva com tecido algodão, água com tecido sintético, saliva com colchão e água com colchão apresentaram significância respectivamente.

GRÁFICOS 17 - *Klebsiella pneumoniae* na superfície algodão

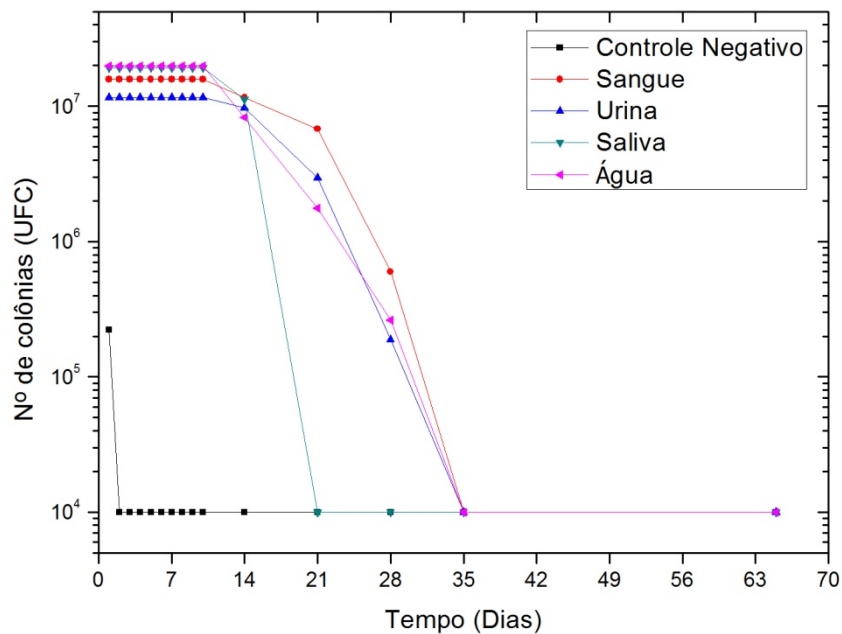
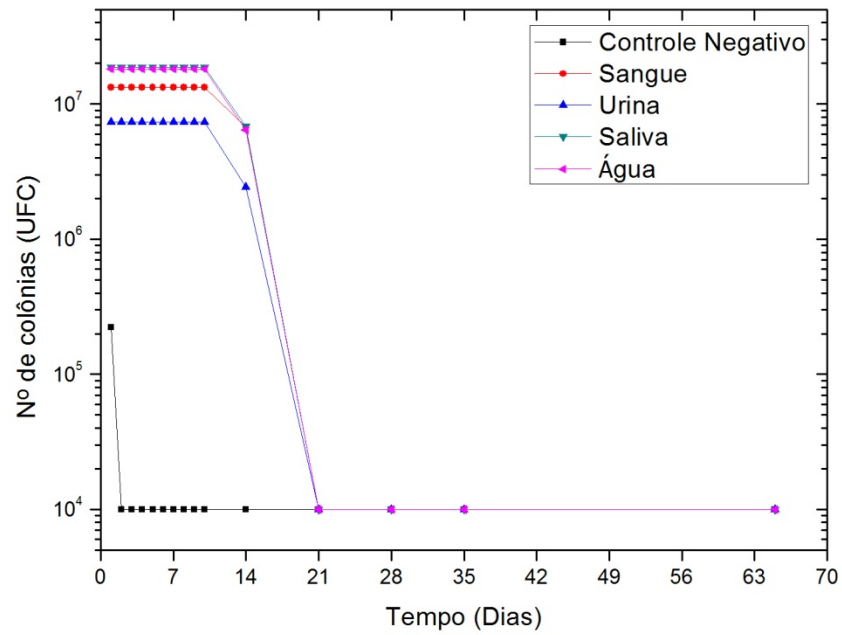


GRÁFICO 18 - *Klebsiella pneumoniae* na superfície



piso

GRÁFICO 19 - *Klebsiella pneumoniae* superfície colchão

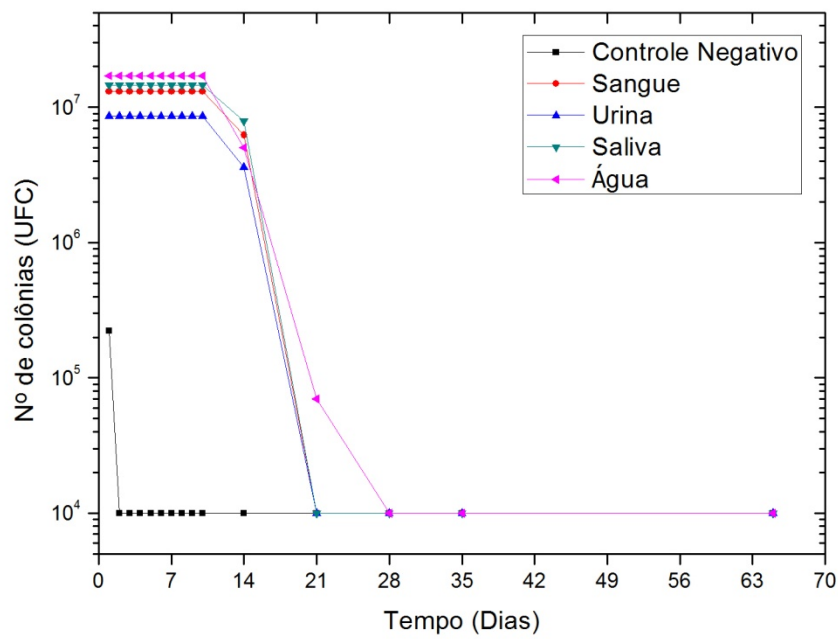
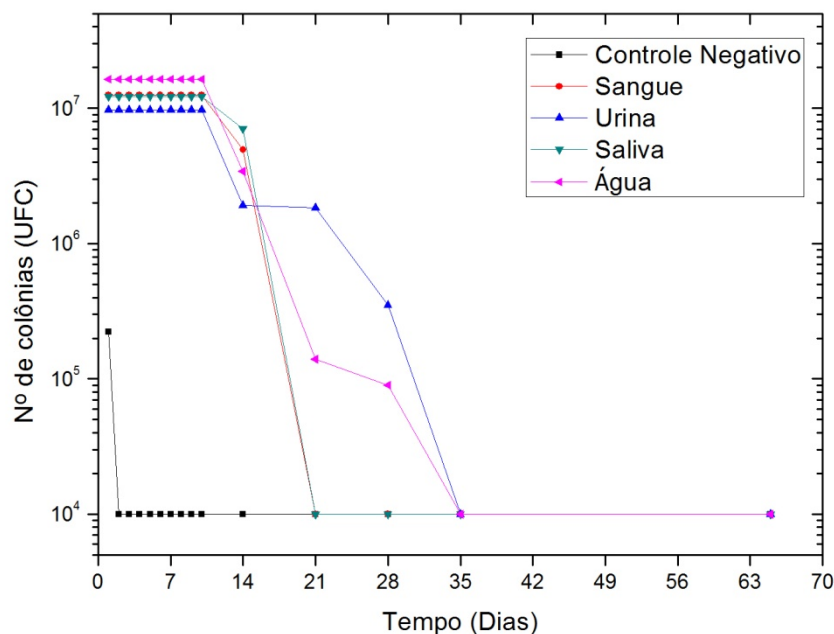


GRÁFICO 20 - *Klebsiella pneumoniae* na superfície tecido sintético

Pietro et al. (2005), em um estudo analisando a contaminação de superfícies de uma clínica odontológica de ensino, relataram a presença de isolados de *Pseudomonas spp*, em superfícies horizontais próximas e distantes das pias, antes e após procedimentos cirúrgicos e relataram a persistência desses microrganismos nessas superfícies uma vez que foram realizadas coletas em intervalos de 3 meses, os resultados apresentados no presente trabalho são divergentes, onde não houve valor significativo para fluídos e superfícies isoladamente e tao pouco para as análises comparativas ente grupos.(Gráficos 21, 22, 23 e 24).

GRÁFICO 21 - *Pseudomonas aeruginosa* em tecido algodão

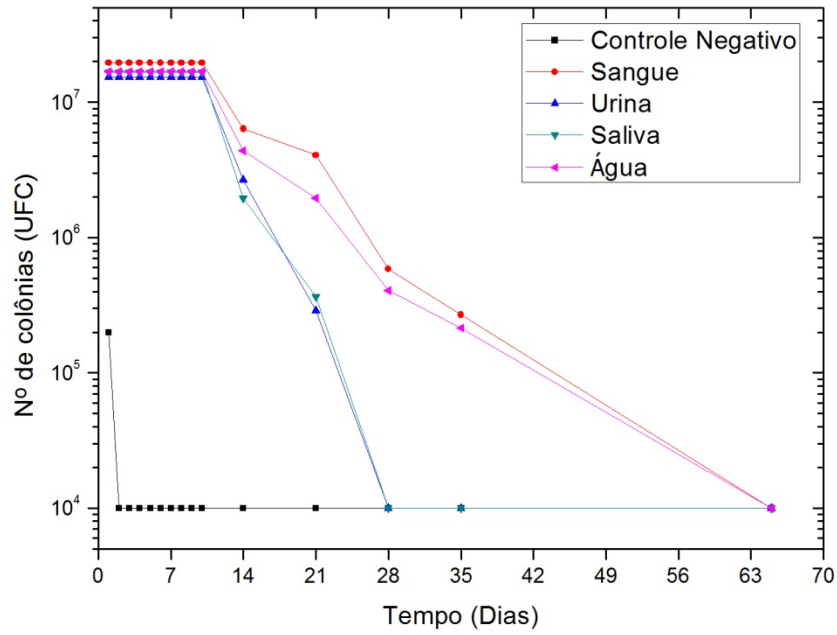


GRÁFICO 22 - *Pseudomonas aeruginosa* no piso

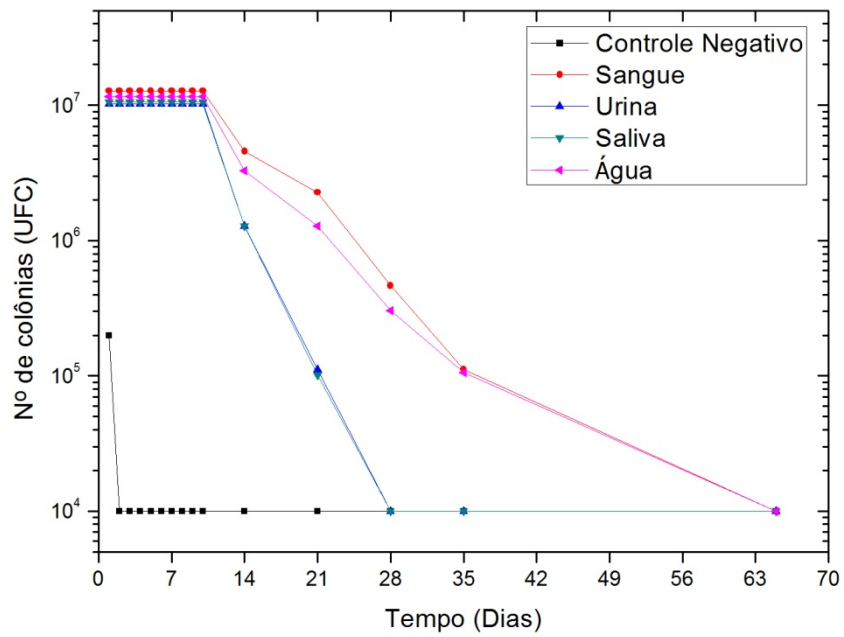
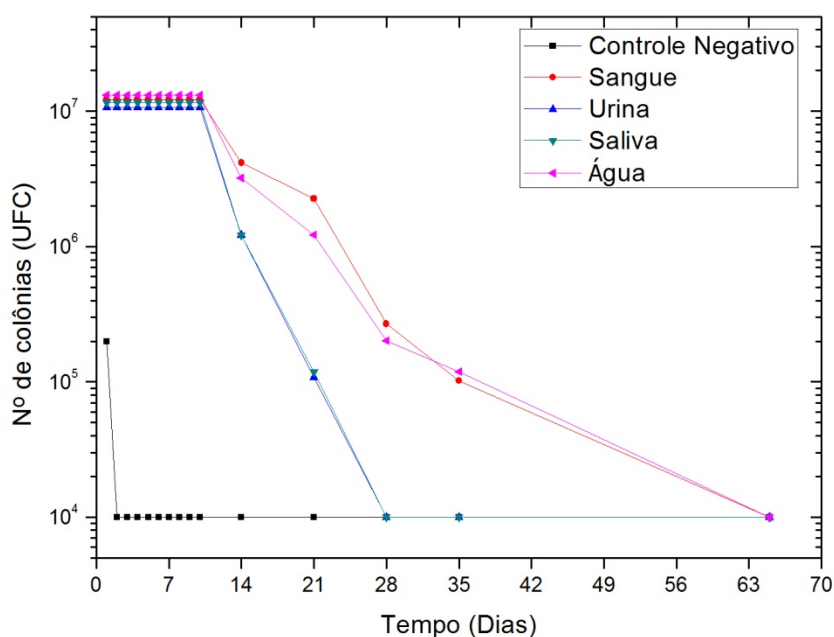
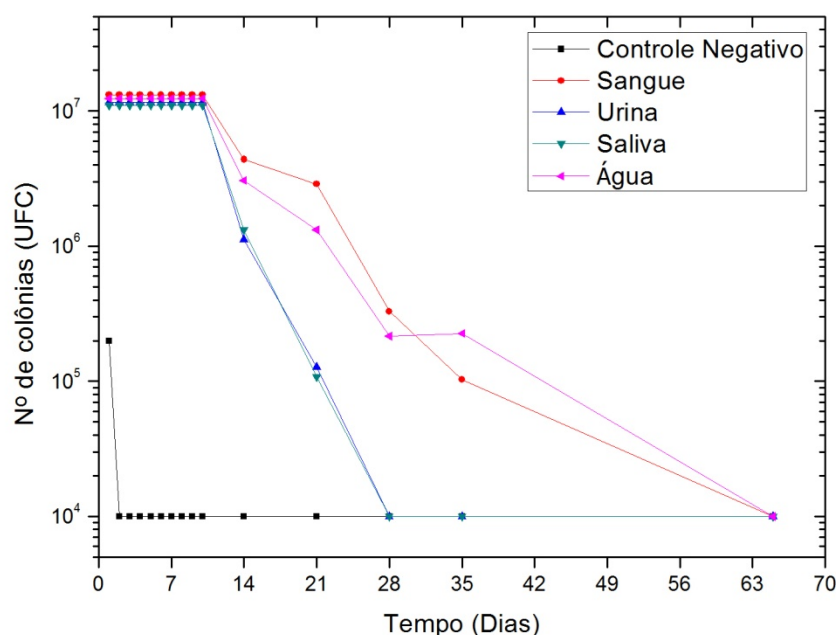


GRÁFICO 23 - *Pseudomonas aeruginosa* em colchão

Ghane e Azimi (2014), em um estudo avaliando 61 amostras de *Pseudomonas spp*, de diferentes superfícies e setores, em um hospital iraniano, discutem que a presença desse microrganismo é mais frequente em ambientes úmidos, o que vai de encontro o observado em nosso estudo, onde a *Pseudomonas aeruginosa* não apresentou manutenção viabilidade na presença de água (Gráfico 24).

GRÁFICO 24 - *Pseudomonas aeruginosa* em tecido

sintético

Segundo dados apresentados por Ghane e Azimi (2014), a *Pseudomonas* consegue manter sua viabilidade em ambientes com baixa oferta nutricional e quando em contato com um fluido rico em nutrientes, como sangue prolongando a sua viabilidade, esses dados divergem dos resultados encontrados no presente estudo onde o sangue não apresentou manutenção da viabilidade para essa espécie.

Oliveira e Damasceno (2010), em uma revisão bibliográfica sobre superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios, relataram que a literatura apontava as mãos dos funcionários e as torneiras como principais reservatórios, além de relatos de disseminação por contaminação do material de limpeza e equipamentos utilizados em ambiente hospitalar. Caetano et al. (2011) salienta que, no estudo realizado num hospital brasileiro de Fortaleza, 68% dos doseadores de sabão líquido encontravam-se contaminados, sendo *P. aeruginosa* a 2^a bactéria mais frequentemente isolada. Esses estudos ressaltam a importância desse microrganismo em ambientes de cuidado à saúde.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados observados no presente estudo permitem apontar as seguintes considerações:

- *Staphylococcus aureus* apresentou viabilidade por mais tempo em todas as superfícies testadas, apresentando o tecido algodão e sangue crescimento de maior número de colônias. Nas comparações entre os grupos, sangue associado ao tecido algodão e urina ao piso foram mais significativo respectivamente.
- *Enterococcus faecalis* apresentou declínio de sua viabilidade a partir do 21º dia, nenhum dos fatores isolados (flúidos e superfícies) , apresentaram significância. Entretanto na associação entre os grupos, à associação entre sangue e tecido algodão, saliva com tecido algodão, sangue com tecido sintético e saliva com tecido algodão, sangue com tecido algodão e saliva com piso.
- A análise da viabilidade de *Escherichia coli* não apresentou relação com as superfícies testadas e também com a presença de flúidos biológicos apresentando declínio gradativo de sua viabilidade, porém quando as associações entre os grupos foram analisadas observou-se que a urina associada ao tecido algodão, sangue com colchão, e urina com tecido algodão e urina com colchão, foram associações significativas.
- *Klebsiella pneumoniae* apresentou declínio de sua viabilidade a partir do 14º dia para todas as superfícies contaminadas, porém estatisticamente foi possível observar manutenção da viabilidade desse microrganismo em presença da saliva isoladamente, apresentando número de colônias maior em relação ao sangue, água e urina e sangue apresentando número de colônias maior em relação a água e urina. Na análise de associações entre os grupos, foi possível observar que, saliva com tecido algodão, água com tecido sintético, saliva com tecido algodão e água com colchão, saliva com colchão e água com colchão, foram respectivamente significativas.
 - *Pseudomonas aeruginosa* apresentou declínio de sua viabilidade em todas as superfícies testadas, não apresentou significancia entre os fatores isolados ou em associação.

- A partir dos resultados, conclui-se que os processos infecciosos estão condicionados aos fatores relacionados ao hospedeiro, ao meio ambiente e ao agente infeccioso (Tríade Ecológica). Dessa forma, faz-se necessário analisar o impacto ambiental da persistência dos potenciais patógenos em ambientes de alta vulnerabilidade ao ser humano. Sendo esta análise um importante norteador para o planejamento e delineamento de medidas de diminuição e controle na disseminação de microrganismos em ambientes de cuidado a saúde.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Deteção e identificação de bactérias de importância médica**. Brasília, 2004a.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde**. Brasília, 2004b.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica**. Brasília, 2004c.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Nota técnica nº 01/2013. **Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes**. Brasília, 2013.
- ARCHER, G. L.; CLIMO, M. W. Staphylococcus aureus: a well-armed pathogen. **N. Engl. J. Med.**, v. 344, p. 55-56, 1998.
- ALMEIDA, M. C.; SIMÕES, M. J. S.; RADDI, M. S. G. Ocorrência de infecção urinária em pacientes de um hospital universitário. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n. 2, p. 215-219, 2007.
- ANDRADE, D.; LEOPOLDO, V. C.; HAAS, V. J. Ocorrência de bactérias multiresistentes em um centro de terapia intensiva de hospital brasileiro de emergências. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, v. 18, n. 1, 2006.
- BEIGUELMAN, B. Curso prático de bioestatística. 5. ed. Ribeirão Preto: [s.n.], 2002
- BETHERLOT, P. et al. Epidemiology of nosocomial infections due to pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia and Stenotrophomonas maltophilia. **Pathologie Biologie**, v.53, n. 6, p. 341-8, 2005.
- BOYCE, J. M. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. **J. Hosp. Infect.**, v. 65, suppl 2, p. 50-4, 2007.
- CAETANO, J. A., et al.; Identificação de contaminação bacteriana no sabão líquido de uso hospitalar. **Rev. Esc. Enferm. USP**, v. 45, n. 1, p. 153-60, 2011.
- CAFUNDÓ, L. A., et al. Avaliação fenotípica e genotípica do perfil de resistência de amostras de staphylococcus aureus isoladas de culturas clínicas e de vigilância de um hospital de ensino brasileiro. **Colloquium Vitae**, v. 04, n. 2, jul-dez. 2012.
- CAMARGO, E. P.; SANT'ANNA, O. A. Health research institutes. **Ciênc. e Saúde Col.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, 2004.
- CAMPOS, G. M. **Estatística prática para docentes e pós-graduandos**.

19. Filosofia de alguns testes estatísticos, 2001. Disponível em:

http://www.forp.usp.br/restauradora/gmc/gmc_livro/gmc_livro_cap19.html. Acesso em: 04 dez. 2014.

CARNEIRO, L. C. et al. Identificação de bactérias causadoras de infecção hospitalar e avaliação da tolerância a antibióticos. **NewsLab**, n. 86, 2008.

CARVALHO, K. S., et al. Hospital surface contamination in wards occupied by patients infected with MRSA or MSSA in a Brazilian university hospital. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n. 2, p. 159-163, 2007.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, n. 5418, p. 1318-1322, 1999.

CRIVARO, V. et al. Pseudomonas aeruginosa in a neonatal intensive care unit: molecular epidemiology and infection control measures. **BMC Infectious Diseases**, v. 9, p. 70, 2009.

CULLER, H. F. **Formação de biofilme por Escherichia coli enteropatogênica atípica**. 2010. 113 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Instituto Butantã, São Paulo-SP.

DINGES, M. M.; ORWIN, P.M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of Staphylococcus aureus. **Clin. Microbial. Reviews.**, v. 13, n. 1, p. 16-34, 2000.

FAIRES, M. C., et al.; The identification and epidemiology of meticillin-resistant Staphylococcus aureus and Clostridium difficile in patient rooms and the ward environment. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 342, 2013.

FERREIRA, A. M. et al. Colchões do tipo caixa de ovo: um reservatório de Staphylococcus aureus resistente à meticilina? **Rev. Esc. Enferm. USP**, São Paulo, 2011.

FIGUEIREDO, E. A. P. et al. Pseudomonas Aeruginosa: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife/PE. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, 2007.

FOSTER, T. J. Immune evasion by staphylococci. **Nat. Rev. Microbiol.**, Boston, v. 3, p. 948- 958, 2005

GHANE, M.; AZIMI, Z. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of pseudomonas spp. isolated from hospital environment in Tonekabon, North of Iran. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 2, n. 4, p. 97-101, 2014.

GARDNER, A.; WEST, S. A.; GRIFFIN, A. S. Is bacterial persistence a social trait? **PLoS ONE**, v.2, n. 8, p. e752, 2007.

GUIMARÃES, A. C. et al. Óbitos associados à infecção hospitalar, ocorridos em um hospital geral de Sumaré-SP, Brasil. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 64, n. 5, 2011.

GUPTA, A. et al. Extended spectrum lactamase-producing klebsiella pneumoniae infections: a review of the literature. **Journal of Perinatology**, v. 23, p. 439–443, 2003.

HAYDEN, M. K. et al. Reduction in acquisition of vancomycin - resistant enterococcus after enforcement of routine environmental cleaning measures. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n. 11, p. 1552-1560, 2006.

HARDY, K. J. et al. A study of the relationship between environmental contamination with Methicilin - Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and patients acquisition of MRSA. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, v. 27, n. 2, p. 127-32, 2006.

HIRAI, Y. Survival of bacteria under dry conditions from a viewpoint of nosocomial infection. **Journal of Hospital Infection**, v. 19, n. 3, nov. 1991. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1685507>. Acesso em: 02. nov. 2013

HONG, S. H. et al. Bacterial persistence increases as environmental fitness decreases. **Microbial Biotechnology**, v. 5, n. 4, p. 509–522, 2012._

HOTA, B. Contamination, disinfection and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection. *Healthcare Epidemiology*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 8, p. 1182-1189, 2004

HUBNER, N. O. et al. Survival of bacterial pathogens on paper and bacterial retrieval from paper to hands: preliminary results. **AJN American Journal of Nursing**, v. 111, n. 12, 2011. Disponível em: http://journals.lww.com/ajnonline/Abstract/2011/12000/Original_Research__Survival_of_Bacterial_Pathogens.22.aspx. Acesso em: 03. Mar. 2014.

JAWAD, A. et al. Influence of relative humidity and suspending menstrual on survival of acinetobacter spp. on dry surfaces. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 12, 1996.

JAWETZ, E.; BUTEL, J. S.; MORSER, S. A. **Microbiologia médica**. 22.ed. [S.l.]: Lange, 2005.

KIM, Y. K. et al. Bloodstream Infections by extended-spectrum β -lactamase-producing escherichia coli and klebsiella pneumoniae in children: epidemiology and clinical outcome. **Antimicrobial Agentes and Chemotherapy**, v. 46, n. 5, p. 1481-1491, 2002.

KOK, J. Surfaces and fomites as a source of healthcare-associate infections. **Microbiology**. Australia, v. 35, n. 1, p. 24-25, 2014.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5. ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

KRAMER, A. et al. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? : a systematic review. **BMC Infectious Diseases**, n. 6, p. 130, 2006.

KUSSELL, E. et al. Bacterial persistence a model of survival in changing environments. **Genetics**, v. 169, n. 4, p. 1807-1814, 2005.

LADHANI, S. et al. Clinical, microbial, and biochemical aspects of exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. **Clin. Microbial. Reviews**, v. 12, n. 2, p. 224-242, 1999.

LARSON, R. **Estatística aplicada**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Farber Hall, 2010.

LEVINSON, W. **Microbiologia médica e imunologia**. 10. ed. [S.l.]: Artmed, 2010.

LOWY, D. F. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Clin. Invest.**, v. 111, n. 9, p.1265–1273, 2003.

MACK, D. et al. Identification of three essential regulatory gene loci governing expression of *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin and biofilm formation. **Infect. Immun.**, v. 68, n. 7, p. 3799-3807, 2000.

MENEGOTO, F. R.; PICOLE, S. U.; *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, 2007.

MEYER, G.; PICOLI, S. U. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. **J. Bras. Pato. Med. Lab.**, v. 47, n. 1, p. 25-31, 2011.

MORETTI, M.L. et al. Clonal dissemination of VanA-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecalis* between hospitals of two cities located 100 km apart. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v.37, n.9, sep. 2004.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K.; PFAÜER, M. A. **Microbiologia médica**. 5. ed. Madri: Elsevier. 2006.

MUSSI-PINHATA, M. M. ; NASCIMENTO, S. D. Neonatal nosocomial infections. **Jornal da Pediatria**, v. 77, Supl., jul/ago., 2001.

NEELY, A. N. A survey of gram negative bacteria survival on hospital fabrics and plastics. **J. Burn Care Rehabil.**, v. 21, n.6, p. 523-7, nov./dez. 2000.

NWANKWO, E. Isolation of pathogenic bacteria from fomites in the operating rooms of a specialist hospital in Kano, Northwestern Nigeria. **The Pan African Medical Journal.**, v. 12, p. 90, 2012.

OLIVEIRA, A. C.; DAMASCENO, Q. S. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 44, n. 4, dez., 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342010000400038&lang=pt> Acesso em: 04 nov. 2013.

PAI, H. et al. Epidemiology and Clinical Features of Bloodstream Infections Caused by AmpC-Type- β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 48, n. 10, p. 3720-8, 2004.

PAULO, E. M.; ASSIS, S. A.; SANTOS, V. L. C. S. Polímeros constituídos por carboidratos utilizados no processo de microencapsulação de bactérias: uma revisão. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 9, n. 4, out./dez. 2009.

PARADELLA, T. C. et al. Enterococcus faecalis: considerações clínicas e microbiológicas. **Rev. Odontol. UNESP**, v. 36, n. 2, p. 163-168, 2007.

PAVIANI, E. R.; STADNIK, C. B.; HEINEK, I.; Estudo da epidemiologia e perfil de sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. **Infarma**. Araraquara. v. 15, p. 11-12, jan. 2004. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/84/i03-perfil.pdf>> Acesso em: 08 abr. 2014.

PELCZAR J. M. J; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. São Paulo (SP): Makron Books; 1996.

PIETRO, R. C. L. R. et al. Analysis of susceptibility profile of *Pseudomonas* spp. and prevalence of bacterial samples from the surfaces of dental consulting-rooms. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 26, n. 2, p. 145-148, 2005.

PIMENTA RODRIGUES, M. V. et al. Assessment of genetic relationship between *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* samples isolated from a dental office. **J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.**, v. 14, n. 4, p. 703-718, 2008

PIMENTA RODRIGUES et al. Evaluation of the spreading of isolated bacterias from dental consulting-room using rapd technique. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 27, n. 6, p. 805-11, 2008.

PIMENTA RODRIGUES et al. **Molecular epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a burn unit from Brazil**. *Burns* 39, 2013. Disponível em: www.elsevier.com/locate/burns. Acesso em: 08 out. 2014.

PINA, E. et al. Infecções associadas aos cuidados de saúde e segurança do doente. **Rev. Port. Saúde Pública**, v. 10, p. 27-39, 2010.

PIRES, M. C. S. et. al. Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n. 6, p. 643-647, nov./dez., 2007

POLLACK, M. P. *aeruginosa*. In: Mandell DaB (Ed.). **Principles and Practice of Infectious Diseases**. 5.ed. New York: Churchill Livingstone; 2000.

- PORTENIER I.; WALTIMO T. M. T.; HAAPASALO. M. Enterococcus faecalis: the root canal survivor and 'star' in post-treatment disease. **Endodontic. Topics**, v. 6: p. 135-159, 2003.
- PREETHEE, T. et al. Molecular identification of an Enterococcus faecalis endocarditis antigen efa A in root canals of therapy- resistant endodontic infections. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 15, n. 4, 2012.
- RATTI, R. P.; SOUSA, C. P.; Staphylococcus aureus metilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. **Rev. Ciênc. Farmac. Bás. Aplic.**, Araraquara, v. 30, n. 2, 2009.
- REED, T. E. et al. Phenotypic plasticity and population viability: the importance of environmental predictability. **Proc. R. Soc. B.**, 277, 2010. <Downloaded from rspb.royalsocietypublishing.org, on October 9, 2014>.
- ROBERTS, R. R. et al. The Use of Economic Modeling to Determine the Hospital Costs Associated with Nosocomial Infections. **Clinical Infections Diseases**, v. 36, n. 11, jun., 2003.
- RODRIGUES, E. A. C. et al. **Infecções hospitalares**: prevenção e controle. São Paulo: Sarvier, 2003.
- ROSA, J. O. et al. Detecção do gene mecA em Estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.42, n.4, jul./ago., 2009.
- PIRES, M.C.S. et al. Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, p. 643-647, nov./dez., 2007
- ROSSI, D; DEVIENNE, K. F.; RADDI, M. S. G. Influência de fluídos biológicos na sobrevivência de Staphylococcus aureus sobre diferentes superfícies secas. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, Araraquara, v.29, n.2, 2008.
- SANTOS, N. Q. A. Resistência bacteriana no Contexto da Infecção Hospitalar. **Texto & Contexto Enfermagem**, Santa Catarina, v.13, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/tce/v13nspe/v13nspea07.pdf>> Acesso: 05 nov. 2013.
- SEXTON, T. et al. Environmental reservoirs of methicillin - resistant Staphylococcus aureus isolates and implications for hospital hygiene. **J. Hops. Infect.**, 2006.
- SILVA, A. C. N., et al. Critérios adotados para seleção de indicadores de contaminação ambiental relacionados aos resíduos sólidos de serviços de saúde: uma proposta de avaliação. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, set/out, 2002.

SMITH, K.; HUNTER, I. S. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, p. 966-973, 2008.

STEINHOFEL, E., et al. A utilização de equipamentos de proteção individual pela equipe de enfermagem na área de limpeza e desinfecção de materiais: revisando a literatura. **Ciência, Cuidado e Saúde**, Maringá, v. 1, n. 2, p.299-307, jul./dez. 2002

STUART, C. H., et al. Enterococcus faecalis : Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. **J. End. Od.**, v. 32: n. 2, p. 93-8, 2006.

TALON, D. The role of hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. **J. Hosp. Infect.**, 1999.

THOMAZ, S. M. O papel ecológico das bactérias e teias alimentares microbianas em ecossistemas aquáticos. **Perspectivas da Limnologia no Brasil**. São Luís: Ed. União, 1999, p. 147-167.

TORTORA, G.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. São Paulo: Artmed, 2012.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TRILLIS, F., et al. Contamination of Hospital Curtains with Healthcare-Associated Pathogens. **Infection Control and hospital Epidemiology**, v. 29, n. 11, 2008.

TUON, F. F.; GORTZ, L. W.; ROCHA, J. L. Risk factors for pan-resistant Pseudomonas aeruginosa bacteremia and the adequacy of antibiotic therapy. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v.16, n.4, jul./ago., 2012.

VIEIRA, J. M. S. et al. Suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza, Belém-PA. **RBAC: Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, 2007. Disponível em: <http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_39_02/rbac_39_2_07.pdf> Acesso em: 06. nov. 2013.

WEBER, D. J. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: norovirus, clostridium difficile, and acinetobacter species. **American Journal of Infection Control**., v. 04, p. 196, 2010.

WEINSTEIN, R. A., HOTA, B. Contamination, Disinfection, and Cross-Colonization: Are Hospital Surfaces Reservoirs for Nosocomial Infection? Oxford Journals Medicine. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, p. 1182-1189, Oxford, 2004.

WOLFE, D. et al. Bacterial colonization of respiratory therapists' pens in the intensive care unit. **Respiratory Care**, v. 54, n.4, apr., 2009.

YAKUPOGULLARI, Y., et al. Investigation of a nosocomial outbreak by alginate-producing pan-antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **American Journal of Infection Control**, v. 36, n. 1, 2008.

ZADOKS, R. N. et al. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine and human skin, milking, equipment, and bovine milk by phage typing, pulsed-field gel electrophoresis, and binary typing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n.11, p.3894-3902, 2002.

ANEXOS

ANEXO A -FRIEDMAN (COM COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS)

S. aureus

Teste para soluções

Study: Teste de Friedman

fat1, Sum of the ranks

	y replication
agu 12	4
sal 10	4
san 14	4
uri 4	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 8.4

Pvalue chisq : 0.03842932

F value : 7

Pvalue F: 0.009964999se < 0,05 , existe ao menos um par de tratamentos diferentes, ao nível de significância de 5%.

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 5.224228

Means with the **same letter are not significantly different.**

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	san	14
a	agu	12
a	sal	10
b	uri	4

Teste para meios

Study: Teste de Friedman

fat2, Sum of the ranks

	y replication
col 8	4
pis 6	4
t.al 16	4
t.si 10	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 8.4

Pvalue chisq : 0.03842932

F value : 7

Pvalue F: 0.009964999

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 5.224228

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	t.al	16
b	t.si	10
b	col	8
b	pis	6

E. coli

Teste para soluções

Study: Teste de Friedman

fat1, Sum of the ranks

	y replication
agu 9	4
sal 11	4
san 9	4
uri 11	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 0.6

Pvalue chisq : 0.8964324

F value : 0.1578947

Pvalue F: 0.9219445

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 9.296582

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	sal	11
a	uri	11
a	agu	9
a	san	9

Teste para meios

Study: Teste de Friedman

fat2, Sum of the ranks

	y replication
col 8.0	4

pis 9.5 4
 t.al 11.5 4
 t.si 11.0 4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 1.153846

Pvalue chisq : 0.7640938

F value : 0.3191489

Pvalue F: 0.8114676

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 8.953876

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	t.al	11.5
a	t.si	11
a	pis	9.5
a	col	8

E. faecalis

Teste para soluções

Study: Teste de Friedman

fat1, Sum of the ranks

y replication

agu 9	4
sal 7	4
san 12	4
uri 12	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 2.7

Pvalue chisq : 0.4402273

F value : 0.8709677

Pvalue F: 0.4911814

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 8.396772

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	san	12
a	uri	12

a	agu	9
a	sal	7

Teste para meios

Study: Teste de Friedman

fat2, Sum of the ranks

	y replication	
col	10	4
pis	7	4
t.al	8	4
t.si	15	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 5.7

Pvalue chisq : 0.1271539

F value : 2.714286

Pvalue F: 0.1073038

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 6.911004

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	t.si	15
ab	col	10
b	t.al	8
b	pis	7

K. pneumoniae

Teste para soluções

Study: Teste de Friedman

fat1, Sum of the ranks

	y replication	
agu	6	4
sal	16	4
san	12	4
uri	6	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 10.8

Pvalue chisq : 0.012858

F value : 27
Pvalue F: 7.838433e-05

Alpha : 0.05
t-Student : 2.262157
LSD : 3.01621

Means with the same letter are not significantly different.
GroupTreatment and Sum of the ranks

a	sal	16
b	san	12
c	agu	6
c	uri	6

Teste para meios

Study: Teste de Friedman

fat2, Sum of the ranks

y replication		
col	11	4
pis	12	4
t.al	9	4
t.si	8	4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 1.5

Pvalue chisq : 0.6822703

F value : 0.4285714

Pvalue F: 0.737488

Alpha : 0.05
t-Student : 2.262157
LSD : 8.922068

Means with the same letter are not significantly different.
GroupTreatment and Sum of the ranks

a	pis	12
a	col	11
a	t.al	9
a	t.si	8

P. aeruginosa

Teste para soluções

Study: Teste de Friedman

fat1, Sum of the ranks

	y replication
agu	10.5 4
sal	10.0 4
san	7.0 4
uri	12.5 4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 2.447368

Pvalue chisq : 0.4848779

F value : 0.768595

Pvalue F: 0.5399288

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 8.294576

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	uri	12.5
a	agu	10.5
a	sal	10
a	san	7

Teste para meios

Study: Teste de Friedman

fat2, Sum of the ranks

	y replication
col	7 4
pis	7 4
t.al	15 4
t.si	11 4

Friedman's Test

=====

Adjusted for ties

Value: 6.6

Pvalue chisq : 0.08580109

F value : 3.666667

Pvalue F: 0.05648481

Alpha : 0.05

t-Student : 2.262157

LSD : 6.398347

Means with the same letter are not significantly different.

GroupTreatment and Sum of the ranks

a	t.al	15
---	------	----

ab	t.si	11
b	col	7
b	pis	7

ANEXO B - KRUSKAL-WALLIS (COM COMPARAÇÕES MULTIPLAS)

S. aureus

Kruskal-Wallis rank sum test – Testa se existe ao menos um par de tratamentos diferentes

data: y by trat

Kruskal-Wallis chi-squared = 33.1612, df = 15, **p-value = 0.004459** se <0,05, existe ao menos um par diferente, ao nível de significância de 5%.

```
> kruskalmc(y~trat)
```

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis

p.value: 0.05

Comparisons

	obs.dif	critical.dif	difference	
agua.algodao-agua.colchao	10.8333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-agua.piso	25.8333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-agua.sintetico	7.8333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.algodao	5.6666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.colchao	18.5000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.piso	7.8333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.sintetico	16.3333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.algodao	7.8333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.colchao	6.1666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.piso	28.1666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.sintetico	0.0000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.algodao	8.6666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.colchao	23.0000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.piso	34.5000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.sintetico	27.8333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-agua.piso	15.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-agua.sintetico	3.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.algodao	5.1666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.colchao	7.6666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.piso	3.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.sintetico	5.5000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.algodao	18.6666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.colchao	4.6666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.piso	17.3333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.sintetico	10.8333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.algodao	2.1666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.colchao	12.1666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.piso	23.6666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.sintetico	17.0000000	40.34321	FALSE	
agua.piso-agua.sintetico	18.0000000	40.34321	FALSE	
agua.piso-saliva.algodao	20.1666667	40.34321	FALSE	
agua.piso-saliva.colchao	7.3333333	40.34321	FALSE	
agua.piso-saliva.piso	18.0000000	40.34321	FALSE	
agua.piso-saliva.sintetico	9.5000000	40.34321	FALSE	
agua.piso-sangue.algodao	33.6666667	40.34321	FALSE	
agua.piso-sangue.colchao	19.6666667	40.34321	FALSE	
agua.piso-sangue.piso	2.3333333	40.34321	FALSE	
agua.piso-sangue.sintetico	25.8333333	40.34321	FALSE	

agua.piso-urina.algodao	17.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.colchao	2.8333333	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.piso	8.6666667	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.sintetico	2.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.algodao	2.1666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.colchao	10.6666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.piso	0.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.sintetico	8.5000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.algodao	15.6666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.colchao	1.6666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.piso	20.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.sintetico	7.8333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.algodao	0.8333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.colchao	15.1666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.piso	26.6666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.sintetico	20.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.colchao	12.8333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.piso	2.1666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.sintetico	10.6666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.algodao	13.5000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.colchao	0.5000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.piso	22.5000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.sintetico	5.6666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.algodao	3.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.colchao	17.3333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.piso	28.8333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.sintetico	22.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.piso	10.6666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.sintetico	2.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.algodao	26.3333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.colchao	12.3333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.piso	9.6666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.sintetico	18.5000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.algodao	9.8333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.colchao	4.5000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.piso	16.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.sintetico	9.3333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-saliva.sintetico	8.5000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.algodao	15.6666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.colchao	1.6666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.piso	20.3333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.sintetico	7.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.algodao	0.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.colchao	15.1666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.piso	26.6666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.sintetico	20.0000000	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.algodao	24.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.colchao	10.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.piso	11.8333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.sintetico	16.3333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.algodao	7.6666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.colchao	6.6666667	40.34321	FALSE

```

saliva.sintetico-urina.piso 18.1666667 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-urina.sintetico 11.5000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-sangue.colchao 14.0000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-sangue.piso 36.0000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-sangue.sintetico 7.8333333 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.algodao 16.5000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.colchao 30.8333333 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.piso 42.3333333 40.34321 TRUETratamentos que diferem
sangue.algodao-urina.sintetico 35.6666667 40.34321 FALSE
sangue.colchao-sangue.piso 22.0000000 40.34321 FALSE
sangue.colchao-sangue.sintetico 6.1666667 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.algodao 2.5000000 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.colchao 16.8333333 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.piso 28.3333333 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.sintetico 21.6666667 40.34321 FALSE
sangue.piso-sangue.sintetico 28.1666667 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.algodao 19.5000000 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.colchao 5.1666667 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.piso 6.3333333 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.sintetico 0.3333333 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.algodao 8.6666667 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.colchao 23.0000000 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.piso 34.5000000 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.sintetico 27.8333333 40.34321 FALSE
urina.algodao-urina.colchao 14.3333333 40.34321 FALSE
urina.algodao-urina.piso 25.8333333 40.34321 FALSE
urina.algodao-urina.sintetico 19.1666667 40.34321 FALSE
urina.colchao-urina.piso 11.5000000 40.34321 FALSE
urina.colchao-urina.sintetico 4.8333333 40.34321 FALSE
urina.piso-urina.sintetico 6.6666667 40.34321 FALSE

```

E. coli

Kruskal-Wallis rank sum test

data: y by trat

Kruskal-Wallis chi-squared = 46.2829, df = 15, p-value = 4.793e-05

```
> kruskalmc(y~trat)
```

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis

p.value: 0.05

Comparisons

```

              obs.dif critical.dif difference
agua.algodao-agua.colchao  5.8333333 40.34321  FALSE
agua.algodao-agua.piso    0.6666667 40.34321  FALSE
agua.algodao-agua.sintetico 25.6666667 40.34321  FALSE
agua.algodao-saliva.algodao 10.6666667 40.34321  FALSE
agua.algodao-saliva.colchao 13.6666667 40.34321  FALSE
agua.algodao-saliva.piso   30.5000000 40.34321  FALSE
agua.algodao-saliva.sintetico 6.5000000 40.34321  FALSE
agua.algodao-sangue.algodao 22.6666667 40.34321  FALSE

```


agua.algodao-sangue.colchao	8.5000000	40.34321	FALSE
agua.algodao-sangue.piso	16.6666667	40.34321	FALSE
agua.algodao-sangue.sintetico	19.6666667	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.algodao	33.8333333	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.colchao	8.1666667	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.piso	4.3333333	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.sintetico	30.6666667	40.34321	FALSE
agua.colchao-agua.piso	6.5000000	40.34321	FALSE
agua.colchao-agua.sintetico	19.8333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-saliva.algodao	4.8333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-saliva.colchao	7.8333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-saliva.piso	24.6666667	40.34321	FALSE
agua.colchao-saliva.sintetico	0.6666667	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.algodao	16.8333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.colchao	14.3333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.piso	10.8333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.sintetico	13.8333333	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.algodao	28.0000000	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.colchao	14.0000000	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.piso	10.1666667	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.sintetico	24.8333333	40.34321	FALSE
agua.piso-agua.sintetico	26.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.algodao	11.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.colchao	14.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.piso	31.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.sintetico	7.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.algodao	23.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.colchao	7.8333333	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.piso	17.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.sintetico	20.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.algodao	34.5000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.colchao	7.5000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.piso	3.6666667	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.sintetico	31.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.algodao	15.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.colchao	12.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.piso	4.8333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.sintetico	19.1666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.algodao	3.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.colchao	34.1666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.piso	9.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.sintetico	6.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.algodao	8.1666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.colchao	33.8333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.piso	30.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.sintetico	5.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.colchao	3.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.piso	19.8333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.sintetico	4.1666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.algodao	12.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.colchao	19.1666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.piso	6.0000000	40.34321	FALSE

saliva.algodao-sangue.sintetico	9.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.algodao	23.1666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.colchao	18.8333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.piso	15.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.sintetico	20.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.piso	16.8333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.sintetico	7.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.algodao	9.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.colchao	22.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.piso	3.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.sintetico	6.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.algodao	20.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.colchao	21.8333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.piso	18.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.sintetico	17.0000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-saliva.sintetico	24.0000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.algodao	7.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.colchao	39.0000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.piso	13.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.sintetico	10.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.algodao	3.3333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.colchao	38.6666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.piso	34.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.sintetico	0.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.algodao	16.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.colchao	15.0000000	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.piso	10.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.sintetico	13.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.algodao	27.3333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.colchao	14.6666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.piso	10.8333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.sintetico	24.1666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.colchao	31.1666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.piso	6.0000000	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.sintetico	3.0000000	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.algodao	11.1666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.colchao	30.8333333	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.piso	27.0000000	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.sintetico	8.0000000	40.34321	FALSE
sangue.colchao-sangue.piso	25.1666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-sangue.sintetico	28.1666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.algodao	42.3333333	40.34321	TRUE
sangue.colchao-urina.colchao	0.3333333	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.piso	4.1666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.sintetico	39.1666667	40.34321	FALSE
sangue.piso-sangue.sintetico	3.0000000	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.algodao	17.1666667	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.colchao	24.8333333	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.piso	21.0000000	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.sintetico	14.0000000	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.algodao	14.1666667	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.colchao	27.8333333	40.34321	FALSE

sangue.sintetico-urina.piso	24.0000000	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.sintetico	11.0000000	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.colchao	42.0000000	40.34321	TRUE
urina.algodao-urina.piso	38.1666667	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.sintetico	3.1666667	40.34321	FALSE
urina.colchao-urina.piso	3.8333333	40.34321	FALSE
urina.colchao-urina.sintetico	38.8333333	40.34321	FALSE
urina.piso-urina.sintetico	35.0000000	40.34321	FALSE

E. faecalis

Kruskal-Wallis rank sum test

data: y by trat

Kruskal-Wallis chi-squared = 46.2098, df = 15, p-value = 4.924e-05

```
> kruskalmc(y~trat)
```

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis

p.value: 0.05

Comparisons

	obs.dif	critical.dif	difference	
agua.algodao-agua.colchao	9.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-agua.piso	3.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-agua.sintetico	29.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.algodao	7.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.colchao	6.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.piso	4.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.sintetico	32.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.algodao	38.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.colchao	7.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.piso	14.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.sintetico	35.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.algodao	19.666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.colchao	23.000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.piso	17.333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.sintetico	26.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-agua.piso	6.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-agua.sintetico	20.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.algodao	16.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.colchao	3.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.piso	13.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.sintetico	23.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.algodao	29.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.colchao	2.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.piso	5.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.sintetico	26.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.algodao	10.666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.colchao	14.000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.piso	8.333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-urina.sintetico	17.000000	40.34321	FALSE	
agua.piso-agua.sintetico	26.000000	40.34321	FALSE	
agua.piso-saliva.algodao	10.000000	40.34321	FALSE	

agua.piso-saliva.colchao	3.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.piso	7.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.sintetico	29.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.algodao	35.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.colchao	4.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.piso	11.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.sintetico	32.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.algodao	16.666667	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.colchao	20.000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.piso	14.333333	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.sintetico	23.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.algodao	36.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.colchao	23.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.piso	33.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.sintetico	3.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.algodao	9.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.colchao	22.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.piso	15.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.sintetico	6.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.algodao	9.333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.colchao	6.000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.piso	11.666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.sintetico	3.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.colchao	13.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.piso	3.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.sintetico	39.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.algodao	45.000000	40.34321	TRUE
saliva.algodao-sangue.colchao	14.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.piso	21.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.sintetico	42.000000	40.34321	TRUE
saliva.algodao-urina.algodao	26.666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.colchao	30.000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.piso	24.333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.sintetico	33.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.piso	10.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.sintetico	26.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.algodao	32.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.colchao	1.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.piso	8.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.sintetico	29.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.algodao	13.666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.colchao	17.000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.piso	11.333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.sintetico	20.000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-saliva.sintetico	36.000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.algodao	42.000000	40.34321	TRUE
saliva.piso-sangue.colchao	11.000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.piso	18.000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.sintetico	39.000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.algodao	23.666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.colchao	27.000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.piso	21.333333	40.34321	FALSE

```

saliva.piso-urina.sintetico 30.000000 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-sangue.algodao 6.000000 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-sangue.colchao 25.000000 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-sangue.piso 18.000000 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-sangue.sintetico 3.000000 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-urina.algodao 12.333333 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-urina.colchao 9.000000 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-urina.piso 14.666667 40.34321 FALSE
saliva.sintetico-urina.sintetico 6.000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-sangue.colchao 31.000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-sangue.piso 24.000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-sangue.sintetico 3.000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.algodao 18.333333 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.colchao 15.000000 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.piso 20.666667 40.34321 FALSE
sangue.algodao-urina.sintetico 12.000000 40.34321 FALSE
sangue.colchao-sangue.piso 7.000000 40.34321 FALSE
sangue.colchao-sangue.sintetico 28.000000 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.algodao 12.666667 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.colchao 16.000000 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.piso 10.333333 40.34321 FALSE
sangue.colchao-urina.sintetico 19.000000 40.34321 FALSE
sangue.piso-sangue.sintetico 21.000000 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.algodao 5.666667 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.colchao 9.000000 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.piso 3.333333 40.34321 FALSE
sangue.piso-urina.sintetico 12.000000 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.algodao 15.333333 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.colchao 12.000000 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.piso 17.666667 40.34321 FALSE
sangue.sintetico-urina.sintetico 9.000000 40.34321 FALSE
urina.algodao-urina.colchao 3.333333 40.34321 FALSE
urina.algodao-urina.piso 2.333333 40.34321 FALSE
urina.algodao-urina.sintetico 6.333333 40.34321 FALSE
urina.colchao-urina.piso 5.666667 40.34321 FALSE
urina.colchao-urina.sintetico 3.000000 40.34321 FALSE
urina.piso-urina.sintetico 8.666667 40.34321 FALSE

```

K. pneumoniae

Kruskal-Wallis rank sum test

data: y by trat

Kruskal-Wallis chi-squared = 47, df = 15, p-value = 3.682e-05

```
> kruskalmc(y~trat)
```

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis

p.value: 0.05

Comparisons

```

                obs.dif critical.dif difference
agua.algodao-agua.colchao      9  40.34321  FALSE
agua.algodao-agua.piso        21  40.34321  FALSE

```

agua.algodao-agua.sintetico	6	40.34321	FALSE
agua.algodao-saliva.algodao	36	40.34321	FALSE
agua.algodao-saliva.colchao	33	40.34321	FALSE
agua.algodao-saliva.piso	27	40.34321	FALSE
agua.algodao-saliva.sintetico	30	40.34321	FALSE
agua.algodao-sangue.algodao	6	40.34321	FALSE
agua.algodao-sangue.colchao	18	40.34321	FALSE
agua.algodao-sangue.piso	24	40.34321	FALSE
agua.algodao-sangue.sintetico	15	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.algodao	3	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.colchao	12	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.piso	9	40.34321	FALSE
agua.algodao-urina.sintetico	3	40.34321	FALSE
agua.colchao-agua.piso	30	40.34321	FALSE
agua.colchao-agua.sintetico	3	40.34321	FALSE
agua.colchao-saliva.algodao	45	40.34321	TRUE
agua.colchao-saliva.colchao	42	40.34321	TRUE
agua.colchao-saliva.piso	36	40.34321	FALSE
agua.colchao-saliva.sintetico	39	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.algodao	15	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.colchao	27	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.piso	33	40.34321	FALSE
agua.colchao-sangue.sintetico	24	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.algodao	6	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.colchao	21	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.piso	18	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.sintetico	12	40.34321	FALSE
agua.piso-agua.sintetico	27	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.algodao	15	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.colchao	12	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.piso	6	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.sintetico	9	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.algodao	15	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.colchao	3	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.piso	3	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.sintetico	6	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.algodao	24	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.colchao	9	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.piso	12	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.sintetico	18	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.algodao	42	40.34321	TRUE
agua.sintetico-saliva.colchao	39	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.piso	33	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.sintetico	36	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.algodao	12	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.colchao	24	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.piso	30	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.sintetico	21	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.algodao	3	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.colchao	18	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.piso	15	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.sintetico	9	40.34321	FALSE

saliva.algodao-saliva.colchao	3	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.piso	9	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.sintetico	6	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.algodao	30	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.colchao	18	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.piso	12	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.sintetico	21	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.algodao	39	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.colchao	24	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.piso	27	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.sintetico	33	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.piso	6	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.sintetico	3	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.algodao	27	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.colchao	15	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.piso	9	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.sintetico	18	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.algodao	36	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.colchao	21	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.piso	24	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.sintetico	30	40.34321	FALSE
saliva.piso-saliva.sintetico	3	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.algodao	21	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.colchao	9	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.piso	3	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.sintetico	12	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.algodao	30	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.colchao	15	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.piso	18	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.sintetico	24	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.algodao	24	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.colchao	12	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.piso	6	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.sintetico	15	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.algodao	33	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.colchao	18	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.piso	21	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.sintetico	27	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.colchao	12	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.piso	18	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.sintetico	9	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.algodao	9	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.colchao	6	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.piso	3	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.sintetico	3	40.34321	FALSE
sangue.colchao-sangue.piso	6	40.34321	FALSE
sangue.colchao-sangue.sintetico	3	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.algodao	21	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.colchao	6	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.piso	9	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.sintetico	15	40.34321	FALSE
sangue.piso-sangue.sintetico	9	40.34321	FALSE

sangue.piso-urina.algodao	27	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.colchao	12	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.piso	15	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.sintetico	21	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.algodao	18	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.colchao	3	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.piso	6	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.sintetico	12	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.colchao	15	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.piso	12	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.sintetico	6	40.34321	FALSE
urina.colchao-urina.piso	3	40.34321	FALSE
urina.colchao-urina.sintetico	9	40.34321	FALSE
urina.piso-urina.sintetico	6	40.34321	FALSE

P. aeruginosa

Kruskal-Wallis rank sum test

data: y by trat

Kruskal-Wallis chi-squared = 40.4473, df = 15, p-value = 0.0003881

```
> kruskalmc(y~trat)
```

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis

p.value: 0.05

Comparisons

	obs.dif	critical.dif	difference	
agua.algodao-agua.colchao	5.3333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-agua.piso	24.5000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-agua.sintetico	2.3333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.algodao	11.6666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.colchao	18.1666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.piso	25.3333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-saliva.sintetico	23.3333333	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.algodao	5.6666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.colchao	24.6666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.piso	21.0000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-sangue.sintetico	23.5000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.algodao	8.6666667	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.colchao	16.5000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.piso	15.0000000	40.34321	FALSE	
agua.algodao-urina.sintetico	4.3333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-agua.piso	19.1666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-agua.sintetico	7.6666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.algodao	17.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.colchao	12.8333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.piso	20.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-saliva.sintetico	18.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.algodao	11.0000000	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.colchao	19.3333333	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.piso	15.6666667	40.34321	FALSE	
agua.colchao-sangue.sintetico	18.1666667	40.34321	FALSE	

agua.colchao-urina.algodao	14.0000000	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.colchao	11.1666667	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.piso	9.6666667	40.34321	FALSE
agua.colchao-urina.sintetico	1.0000000	40.34321	FALSE
agua.piso-agua.sintetico	26.8333333	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.algodao	36.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.colchao	6.3333333	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.piso	0.8333333	40.34321	FALSE
agua.piso-saliva.sintetico	1.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.algodao	30.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.colchao	0.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.piso	3.5000000	40.34321	FALSE
agua.piso-sangue.sintetico	1.0000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.algodao	33.1666667	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.colchao	8.0000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.piso	9.5000000	40.34321	FALSE
agua.piso-urina.sintetico	20.1666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.algodao	9.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.colchao	20.5000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.piso	27.6666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-saliva.sintetico	25.6666667	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.algodao	3.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.colchao	27.0000000	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.piso	23.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-sangue.sintetico	25.8333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.algodao	6.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.colchao	18.8333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.piso	17.3333333	40.34321	FALSE
agua.sintetico-urina.sintetico	6.6666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.colchao	29.8333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.piso	37.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-saliva.sintetico	35.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.algodao	6.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.colchao	36.3333333	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.piso	32.6666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-sangue.sintetico	35.1666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.algodao	3.0000000	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.colchao	28.1666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.piso	26.6666667	40.34321	FALSE
saliva.algodao-urina.sintetico	16.0000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.piso	7.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-saliva.sintetico	5.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.algodao	23.8333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.colchao	6.5000000	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.piso	2.8333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-sangue.sintetico	5.3333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.algodao	26.8333333	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.colchao	1.6666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.piso	3.1666667	40.34321	FALSE
saliva.colchao-urina.sintetico	13.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-saliva.sintetico	2.0000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.algodao	31.0000000	40.34321	FALSE

saliva.piso-sangue.colchao	0.6666667	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.piso	4.3333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-sangue.sintetico	1.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.algodao	34.0000000	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.colchao	8.8333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.piso	10.3333333	40.34321	FALSE
saliva.piso-urina.sintetico	21.0000000	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.algodao	29.0000000	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.colchao	1.3333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.piso	2.3333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-sangue.sintetico	0.1666667	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.algodao	32.0000000	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.colchao	6.8333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.piso	8.3333333	40.34321	FALSE
saliva.sintetico-urina.sintetico	19.0000000	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.colchao	30.3333333	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.piso	26.6666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-sangue.sintetico	29.1666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.algodao	3.0000000	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.colchao	22.1666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.piso	20.6666667	40.34321	FALSE
sangue.algodao-urina.sintetico	10.0000000	40.34321	FALSE
sangue.colchao-sangue.piso	3.6666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-sangue.sintetico	1.1666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.algodao	33.3333333	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.colchao	8.1666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.piso	9.6666667	40.34321	FALSE
sangue.colchao-urina.sintetico	20.3333333	40.34321	FALSE
sangue.piso-sangue.sintetico	2.5000000	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.algodao	29.6666667	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.colchao	4.5000000	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.piso	6.0000000	40.34321	FALSE
sangue.piso-urina.sintetico	16.6666667	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.algodao	32.1666667	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.colchao	7.0000000	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.piso	8.5000000	40.34321	FALSE
sangue.sintetico-urina.sintetico	19.1666667	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.colchao	25.1666667	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.piso	23.6666667	40.34321	FALSE
urina.algodao-urina.sintetico	13.0000000	40.34321	FALSE
urina.colchao-urina.piso	1.5000000	40.34321	FALSE
urina.colchao-urina.sintetico	12.1666667	40.34321	FALSE
urina.piso-urina.sintetico	10.6666667	40.34321	FALSE