

Contaminação por *Staphylococcus aureus* em leite humano pasteurizado e a presença deste microorganismo em sítios variados da lactante em um município de Minas Gerais.

Contamination by staphylococcus aureus in pasteurized human milk and the presence of this microorganism in varied sites of the infant in a municipality of Minas Gerais.

Bianca Carolina De Oliveira Carvalho¹; Camila Gonçalves Moreira¹; Iana Novais Dias¹; Maria Eduarda Schmidt França Costa¹; Marina Martins De Meireles¹; Cristina Maria Miranda Bello².

RESUMO

Introdução: A colonização normal do recém-nascido inicia-se durante e após o processo de nascimento, até que seja estabelecida a flora normal endógena neonatal. A microbiota é importante na formação da defesa imunológica do indivíduo e o desequilíbrio dessa flora é denominado disbiose. Nota-se que o *Staphylococcus aureus* vem chamando a atenção nesse processo de disbiose por não fazer parte da flora indígena e que quando não se apresenta de forma assintomática, o patógeno é capaz de provocar infecções graves. Após o nascimento, o leite humano também influenciará na formação da microbiota do recém-nascido. Atualmente há um número crescente da utilização do leite humano pasteurizado e, caso o processo não seja efetuado adequadamente, poderá ocorrer complicações agudas como choque tóxico e intoxicações alimentares. **Objetivo:** Analisar a presença de *Staphylococcus aureus* em vários sítios maternos, além de avaliar a presença desse micro-organismo no leite humano pasteurizado. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo transversal, prospectivo e experimental realizado no período de julho de 2016 a março 2017, em que foi analisada a presença de *Staphylococcus aureus* em amostras de leite humano e sítios maternos, sendo estes: aréola, nasofaringe e polegar direitos. As amostras de leite foram colhidas de forma aleatória no Hospital Santa Casa de Misericórdia de Barbacena-MG após o processo de pasteurização ocorrido no Banco de Leite da cidade de Juiz de Fora. Todas as amostras, incluindo sítios e leite maternos, foram semeadas em meio de cultura e identificadas no laboratório de microbiologia da Faculdade de Medicina de Barbacena/FAME.

Palavras-chave: Contaminação de mãos, contaminação nasofaringe, contaminação aréola, *Staphylococcus aureus*, leite materno ordenhado.

ABSTRACT

Introduction: Colonization of the newborn began during and after the birth process, until the definition of a normal endogenous neonatal flora. The microbiota is important in the formation of the individual's immune defense and flora imbalance and is called dysbiosis. It is noted that *Staphylococcus aureus* has been drawing attention to the process of dysbiosis. After birth, human milk will also influence the formation of the newborn's microbiota. There is an increasing number of uses for pasteurized human milk and, if the process is not carried out properly, acute complications can occur. **Objective:** To analyze the presence of *Staphylococcus aureus* in several maternal sites, besides evaluating the presence of this microorganism in pasteurized breast milk. **Materials and Methods:** It is a cross-sectional, prospective and experimental study carried out from July 2016 to March 2017, in which the presence of *Staphylococcus aureus* in samples of human milk and maternal sites, being these areola, nasopharynx and right thumb. **Results:** In 300 seeded media, the growth was identified in 294 samples, among them, there was the presence of *S. aureus* in 258 samples. As for milk, there were 5 samples from a total of 24, 4 of which were positive for *S. aureus* and 1 compatible for a microorganism not contemplated in the study. **Conclusion:** A high prevalence of *Staphylococcus aureus* contamination was observed in maternal sites and, to a lesser extent, in pasteurized human milk given to newborns.

Keywords: Hands contamination, Nasopharyngeal contamination, areola contamination, *Staphylococcus aureus*, milked breast milk.

¹ Acadêmicas do Curso de Medicina. Fundação José Bonifácio Lafayette de Andrada – FUNJOBE. Faculdade de Medicina de Barbacena – FAME. Barbacena, MG – Brasil.

² Professora FUNJOBE/ FAME. Barbacena, MG – Brasil; Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

*Autor para correspondência: Praça Presidente Antônio Carlos, 08- Barbacena/MG - CEP: 36202-336. Telefone: (32) 3339-2950 E-mail: bello.cm@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva, geralmente disposta em cachos irregulares, ao microscópio, semelhantes a cachos de uvas. Crescem rápido em muitos tipos de meios de cultura e são metabolicamente ativos, fermentando carboidratos e produzindo pigmentos amarelos. Além disso, mostra-se relativamente resistente a ressecamento, calor e cloreto de sódio a 9% e apresenta também um sistema regulatório complexo, que responde a estímulos ambientais para a expressão de vários de seus genes de virulência codificados em ilhas de patogenicidade.¹

Diante dessa alta resistência, uma das preocupações quanto à presença de tal patógeno incide sobre seu eficiente mecanismo de formação de biofilme, que favorece sua sobrevivência em superfícies de ambientes hostis, e sobre a ocorrência de cepas que produzem toxinas, que são resistentes à pasteurização² que podem causar choque tóxico, necrose epidérmica tóxica e intoxicações alimentares.³

O processo de colonização da microbiota normal inicia-se ao nascimento quando há a exposição do recém-nascido a diferentes espécies de micro-organismos presentes na mãe e no ambiente. Observa-se que por um período da vida do recém-nascido ocorre a seleção de algumas bactérias e eliminação de outras, sendo alcançada uma comunidade clímax por volta dos dois anos de idade. Esse processo depende do equilíbrio entre bactérias benéficas e patogênicas e possui correlação com fatores diversos que incluem tipo de parto, aleitamento, contato íntimo materno, condições de higiene, contaminação ambiental, estado imunológico do recém-nascido e utilização de antibióticos. A microflora da criança nascida por via vaginal será inicialmente da flora materna presente no canal do parto, enquanto que nos nascidos por via cesárea o ambiente será o fator primordial no processo de colonização. Observa-se que a via cesárea proporciona o estabelecimento da flora estável mais tardiamente com uma menor frequência de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e maior frequência de bactérias anaeróbias como *Clostridium* e *Bacteroides*.⁴

A partir do momento em que o processo de colonização do recém-nascido ocorre por bactérias que não fazem parte da sucessão primária comum de colonização do neonato, como o *S. aureus*, poderá ocorrer situações de desequilíbrio e os micro-organismos podem se comportar como patógenos oportunistas, sendo deste modo denominado disbiose. Este patógeno pode determinar doenças clinicamente manifestas ou se comportar como portadores assintomáticos, sem causar danos

aparentes em indivíduos.⁵

Após o nascimento, o leite humano também influenciará na formação da microbiota do recém-nascido, tendo um papel importante na prevenção de várias patologias, dentre essas, doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e síndrome metabólica.⁶ Associado a isso, o leite materno possui propriedades anti-infectivas através dos componentes solúveis (IgA, IgM, IgG, IgD, IgE, lisozimas e outras substâncias imunorreguladoras) e componentes celulares (macrófagos, linfócitos, granulócitos, neutrófilos e células epiteliais).^{7,8}

Apesar dos benefícios relacionados ao aleitamento, muitas mães não podem ou não querem amamentar seus filhos, além de que recém-nascidos prematuros não dispõem de forças para sugar o leite materno.⁹ Assim, para atender à necessidade desses lactentes, tornou-se crescente a utilização de leite humano ordenhado e pasteurizado para suprir a demanda, exigindo-se a utilização de técnicas adequadas de coleta, processamento e controle de qualidade, uma vez que quando pasteurizados de maneira ineficaz o produto pode apresentar micro-organismos, dentre eles o *S. aureus*, reduzindo o valor nutricional e a qualidade do leite.²

Assim, diante dos expostos, o estudo teve o objetivo de analisar a presença do *Staphylococcus aureus* em aréola, nasofaringe e polegar direitos, além da identificação deste micro-organismo em leite humano pasteurizado, com intuito de avaliar o impacto da possível colonização precoce e intoxicação aos neonatos.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal, prospectivo e experimental realizado no período de julho de 2016 a março 2017, em que foi analisada a presença de *Staphylococcus aureus* em amostras de leite humano e sítios maternos, sendo estes: aréola, nasofaringe e polegar direitos, como forma de padronização. As amostras de leite foram colhidas de forma aleatória no Hospital Santa Casa de Misericórdia de Barbacena-MG após o processo de pasteurização ocorrido no Banco de Leite da cidade de Juiz de Fora.

O processo de aquisição das amostras dos sítios maternos teve início a partir da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) das mães internadas no Hospital Santa Casa de Misericórdia de Barbacena-MG. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Fundação Hospitalar de Minas Gerais (FHEMIG), com o protocolo:1446245.

As amostras dos sítios de 100 mulheres lactentes e nutrizas foram coletadas, por meio do swab, e permitiram uma prevalência de 40% em um intervalo de confiança de 95%, de aproximadamente 9,6%

segundo estatística de padronização da amostra. Quanto ao leite materno pasteurizado foram avaliadas 24 amostras, selecionadas de acordo com a disponibilidade do hospital e sistematização deste estudo.

As coletas foram realizadas nos setores da obstetrícia e pediatria dessa instituição, às 9:00 horas, nas segundas e quartas-feiras. Durante a coleta materna, as mães foram orientadas quanto à higienização da mama e mãos e foram paramentadas com gorros e máscaras. As acadêmicas que realizaram a coleta também estavam devidamente paramentadas com gorro, máscara e luvas. Posteriormente foi realizada a fricção dos swabs nos sítios maternos previamente citados e armazenados em tubo de rosca esterilizado com tioglicolato de sódio, para garantir a viabilidade das amostras até o momento do semeio. Estes tubos foram rotulados e identificados por numeração. Quanto ao leite pasteurizado, as acadêmicas ainda paramentadas realizaram a coleta de 2ml no lactário da instituição, através de pipetas (5ml) e tubo de ensaio previamente esterilizados.

Posteriormente, amostras dos sítios e leite materno foram avaliadas no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de Barbacena Fundação “José Bonifácio Lafayette de Andrada”. Do total de leite coletado, 0,5 ml foi utilizado para isolamento e identificação do micro-organismo em questão; 0,5 ml foi congelado em freezer -70°C para estudos posteriores o 1 ml restante, assim como parte das amostras provenientes dos sítios, foi preservado com crio protetor para contribuição do acervo microbiológico da instituição vinculada a pesquisa.

No laboratório a análise foi dividida nas seguintes etapas: 1) os materiais foram armazenados em estufa, a 37°C, durante 4 horas para crescimento microbiano. Transcorrido o tempo de crescimento, foram realizados os semeios por esgotamento no meio de cultura Agar Sal Manitol, em capela de fluxo laminar; posteriormente, os meios foram deixados na estufa à 37°C, durante 36 horas para possível crescimento do *Staphylococcus aureus*. 2) decorridas 36 horas, efetuou-se a avaliação de crescimentos macroscópicos e estes, se presentes, foram encaminhados para análise microscópica, através da realização de lâminas coradas pelo Método de Gram, as quais continham colônias retiradas do meio Manitol. Diante de fermentação do Manitol associada à presença de cocos gram positivo visto ao microscópio óptico, confirma-se a presença do *S. aureus*. Caso não houvesse a fermentação e na lâmina fossem identificados os cocos gram positivos, era realizado novo semeio dessas amostras não fermentadas, em meio DNA. 3) foi utilizada a prova

de DNAs e nos meios de DNA semeados e, quando a mesma positivasse, sinalizava o micro-organismo em questão. A identificação desse micro-organismo foi feita utilizando métodos bioquímicos que avaliam suas características morfológicas, segundo Balows e Finegold.¹⁰

Os resultados foram contabilizados e tabelados em planilha eletrônica, avaliados e processados em *Software* estatístico STATA versão 9.2. Foram produzidas tabelas com frequências absolutas e relativas, e calculado o intervalo de confiança de 95% para as amostras utilizadas.

RESULTADO

As amostras de 100 lactantes foram coletadas em 3 sítios, gerando um total de 300 meios de cultura. Quanto ao leite pasteurizado, foram coletadas e semeadas 24 amostras.

No laboratório, foi identificado o crescimento em 294 amostras de um total de 300 meios semeados, dentre essas, houve a presença do *S. aureus* em 258 amostras. Quanto ao leite, houve crescimento em 5 amostras de um total de 24, sendo 4 positivas para *S. aureus* e 1 compatível a um micro-organismo não contemplado na pesquisa.

De acordo com a análise dos resultados, houve maior prevalência do micro-organismo estudado em nasofaringe, quando comparado a outros sítios da lactante. No que diz respeito à chance aleatória de uma mãe ser portadora do *S. aureus*, bem como a probabilidade de haver positividade para qualquer sítio, nota-se prevalências de 99% e 86%, respectivamente. Já quanto à amostra de leite pasteurizado, houve prevalência de 16,67% do micro-organismo em questão.

Tabela - Contaminação por *S. aureus* nas amostras de diferentes sítios da lactante e no leite pasteurizado coletadas no Hospital Santa Casa de Barbacena-MG em 2016.

Amostra	N	Prevalência	IC95 %
Mães:			
Nasofaringe direita	100	87%	80,4 – 93,6
Aréola direita	100	86%	79,2 – 92,8
Polegar direito	100	85%	78,0 – 91,9
Sítio aleatório	300	86%	82,1 – 89,9
Mãe aleatória	100	99%	97,0 – 100
Leite:			
Leite Pasteurizado	24	16,67%	1,75 – 31,58

Fonte: Autores

DISCUSSÃO

O ser humano no período fetal vive em um ambiente estéril e protegido, mas assim que nasce,

após a ruptura das membranas amnióticas, fica exposto à micro-organismos que passam a colonizar várias regiões do seu organismo de maneira equilibrada dependendo da temperatura, umidade, substâncias inibitórias e nutrientes do local.¹¹

A sequência dessa colonização sofre variações dependendo do tipo de parto (cesariana ou natural), o tipo de alimento recebido (leite materno ou fórmula) e o grau de exposição ao ambiente.¹²

Esse processo de colonização pode ocorrer de forma errônea ao albergar patógenos que não fazem parte da microbiota normal, a exemplo do *S.aureus*, que pode colonizar fossas nasais, mãos, pele, orofaringe, trato digestivo e trato geniturinário.¹³

O presente estudo avaliou diferentes sítios da lactante sendo eles, aréola, nasofaringe e polegar direitos, além de amostras de leite humano pasteurizado, a fim de determinar a prevalência de *Staphylococcus aureus* nessas amostragens, no período de julho de 2016 a março 2017, totalizando 324 amostras.

Estima-se que 25% a 30% da população mundial seja portadora assintomática de *S.aureus*.¹⁴

Sabe-se que este micro-organismo pode determinar doenças clinicamente manifestas ou se comportar como portadores assintomáticos, sem causar danos aparentes em indivíduos.³ No presente estudo, a probabilidade de uma mãe ser portadora do micro-organismo em questão, em qualquer um dos sítios analisados, foi de 86%. É válido ressaltar também que há uma escassez na literatura de estudos que avaliam a presença de tal patógeno nas mães. Portanto, os resultados obtidos na presente pesquisa são de extrema importância, mesmo se tratando de um estudo regional.

Sugere-se que a alta prevalência do micro-organismo nos sítios maternos esteja relacionada à eficiência da disseminação do mesmo e também, em parte, pela grande versatilidade e capacidade de formação de biofilme que permite a adaptação a diferentes ambientes, pH, umidade e deficiência de nutrientes, o que possibilita não só a colonização do homem como também do ambiente ao seu redor, criando reservatórios de células aptas a colonizar outros indivíduos.^{15,16}

Em se tratando deste estudo, as justificativas para a alta prevalência, quando comparadas às referências bibliográficas citadas, devem-se às possíveis razões:¹⁷

- Contaminação das amostras no momento da coleta, uma vez que parte da equipe de pesquisa é portadora assintomática de *S. aureus*. No entanto, vale ressaltar que todas as medidas de proteção individual foram rigorosamente seguidas;
- Aumento da circulação do micro-organismo

em questão em indivíduos da comunidade, não considerando o perfil de susceptibilidade às drogas antimicrobianas;

- Contaminação cruzada entre profissionais de saúde.

Em relação à nasofaringe, foi realizado um estudo em 2012 com funcionários de um serviço de saúde em Campina Grande, cuja prevalência apontou níveis de 20% a 50% de portadores assintomáticos do *S.aureus*¹³, enquanto no presente estudo, esta prevalência foi de 87%.

Em se tratando do polegar, a literatura aponta uma prevalência de 26,9%¹⁸ e nesta pesquisa foi encontrada uma prevalência de 85%. Estes dados conflitantes e a alta prevalência encontrada neste estudo podem ser resultantes do contato direto das mãos com a cavidade nasal, o que pode contribuir, portanto, para uma superestimação dos resultados nesse sítio.¹⁹

No que diz respeito à presença do *S.aureus* na aréola, foi encontrada uma prevalência de 86%. Não foram identificados na literatura dados quanto à prevalência desse micro-organismo nesse sítio, mas provavelmente este alto índice pode ser devido à contaminação proveniente da manipulação das mamas pela própria lactante ou por profissionais de saúde que participam do cuidado materno e neonatal, quando portadores assintomáticos. Outro fator contribuinte correlaciona-se a uma alta prevalência regional de portadoras assintomáticas de *S.aureus* no município de Barbacena.¹⁷

Outro foco dessa pesquisa foi a análise do leite humano pasteurizado. Segundo Serafinietal (2003) no qual avaliou a qualidade microbiológica do leite humano obtido em banco de leite, os autores relataram a presença de *S.aureus* em 5 amostras (6,9%) de 144 avaliadas.⁹ No presente estudo foi encontrada uma prevalência de 16,67% em um espaço amostral de 4 amostras positivas em 24, o que foi considerado, pela análise dos dados, uma quantidade questionável pelo grande intervalo de confiança (1,75 – 31,58). No entanto, em se tratando de leite pasteurizado, era esperado não encontrar crescimento bacteriano, incluindo de *S.aureus*, sendo este um fator preocupante, pois sabe-se que apesar dos benefícios relacionados ao aleitamento, muitas mães não podem ou não querem amamentar seus filhos, além de que recém-nascidos prematuros não dispõem de forças para sugar o leite materno.⁹ Assim, para atender a necessidade desses lactentes, tornou-se crescente a utilização de leite humano ordenhado e pasteurizado para suprir a demanda.²

Essa contaminação do leite pasteurizado pode ser interpretada como sendo devido ao não atendimento aos padrões básicos sanitários em qualquer etapa do

processamento que pode favorecer a formação de biofilmes²⁰ cujos fragmentos podem se desprender e contaminar o produto durante o processo de beneficiamento, o que representa um risco à saúde do consumidor.²¹

Essas altas prevalências observadas, tanto nos sítios avaliados quanto no leite, são preocupantes, uma vez que o contato íntimo de mães portadoras assintomáticas do *S. aureus* com recém-nascidos irá contribuir para formação da microbiota destes, assim como o contato com objetos e leite colonizados, corroborando para mudanças na composição da microbiota. Assim, os recém-nascidos ao albergarem o agente potencialmente infectante, poderão sofrer as consequências desta colonização a curto prazo e longo prazo. A curto prazo, pode-se observar desde episódios leves de infecção de pele, como impetigo, furúnculos, foliculites até quadros mais graves como osteomielite, endocardites, pneumonias, bacteremia ou sepse¹⁹. A longo prazo, a colonização pelo *S. aureus* vem sendo associado a várias doenças crônicas discutidas em um conceito denominado disbiose, situação na qual a microbiota permanente é substituída por outras bactérias patogênicas. Dentre essas doenças abordadas na literatura, os principais estudos estão relacionando a disbiose com doenças alérgicas, como asma e rinite.²² Outras patologias que podem também ser associadas ao processo de disbiose são as inúmeras doenças inflamatórias intestinais, como a retocolite ulcerativa e a doença de Crohn²³, além de distúrbios a nível neurológico como o autismo, por exemplo, que possui seu espectro variado em decorrência da gravidade da disbiose.⁶ Outras doenças também são sabidamente associadas a mudanças na microbiota humana e incluem o diabetes tipo 2 (não dependente de insulina), dermatite atópica, câncer colorretal, cálculo renal, periodontite e psoríase.²⁴ As limitações dessa pesquisa referem-se ao número reduzido de amostras de leite pasteurizado e à dificuldade quanto a sua obtenção, devido à sistemática imposta pelo hospital, cuja a disponibilidade para as coletas era restrita a uma vez por semana. Portanto novos estudos podem ser realizados para avaliação da contaminação e dos níveis das enterotoxinas estafilocócicas do leite humano pasteurizado.

CONCLUSÃO

Foi observado no presente estudo uma alta prevalência de contaminação por *Staphylococcus aureus* na aréola, nasofaringe e polegar das lactantes. Além disso, este micro-organismo foi identificado no leite humano pasteurizado, o qual é administrado aos neonatos. Esses dados são preocupantes e denotam a necessidade da continuidade dos estudos

relacionados ao tema aqui abordado, uma vez que terão em comum a finalidade de se avaliar o impacto na saúde dos neonatos.

REFERÊNCIAS

1. Carrol KC. Estafilococos. In: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Microbiología médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. 26. ed. Porto Alegre: AMGH; 2014. p. 199-207.
2. Imianovsky U. Detecção de enterotoxinas estafilocócicas em leite materno proveniente de banco de leite [dissertação de mestrado]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.
3. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR, et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. J Bras Patol Med Lab. 2007 Dez; 43(6):413-23.
4. Andrade AMDSA. Microflora intestinal: uma barreira imunológica desconhecida [dissertação de mestrado]. Portugal, Universidade do Porto; 2010.
5. Cavalcanti SMM, França ER, Vilela MA, Montenegro F, Cabral C, Medeiros ACR. Estudo comparativo da prevalência de *Staphylococcus aureus* importado para as unidades de terapia intensiva de hospital universitário, Pernambuco, Brasil. Rev Bras Epidemiol. 2006; 9(4):436-46.
6. Oom P. A importância da microbiota nos primeiros 1000 dias. In: 17º Congresso Nacional de Pediatria; 2016; Porto.
7. Tollara MN, Bonecker MJS, Carvalho GD, Corrêa MSNP. Aleitamento natural. In: Corrêa MSNP. Odontopediatria na primeira infância. São Paulo: Editora Santos; 2005. p. 83-98.
8. Vieira GO, Silva LR, Vieira TO. Alimentação infantil e morbidade por diarreia. J Pediatr. 2003; 79(5):449-54.
9. Serafini, AB, André MCDPB, Rodrigues MAV, Kipnis A, Carvalho CO, Campos MRH, et al. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. Rev Saúde Pública. 2003 Dec;37(6):775-9.
10. Balows A, Hausler Jr, WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. Washington. American Society for Microbiology, 1991; 10 (5).
11. Mussi-Pinhata MM, Nascimento SD. Infecções

Contaminação por *Staphylococcus aureus* em leite humano pasteurizado e a presença deste micro-organismo em sítios variados da lactante em um município de Minas Gerais.

- neonatais hospitalares. *J Pediatr.* 2001 Jul; 77(Supl.1):S81-S96.
12. Barbosa FHF, Martins FS, Barbosa LPJL, Nicoli JR. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. *Rev Biol Ciên Terra.* 2010; 10(1):78-93.
 13. Catão RMR, Belém LF, Belém PMF, Luiza FP, Nunes LE, Fernandes AFC. Avaliação da colonização nasal por *staphylococcus aureus* em funcionários de um serviço de saúde em Campina Grande – PB. *Rev Biol Farm.* 2012; 7(1):10-17.
 14. Centers for Disease Control and Prevention. CDC.org. *Staphylococcus aureus* in Healthcare Settings [acesso em: 2017 maio 05]. Disponível em: www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca_clinicians.html.
 15. Cepeda JA, Whitehouse T, Cooper B, Hails J, Jones K, Kwaku F, et al. Isolation of patients in single rooms or cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units: prospective two center study. *Lancet.* 2005 Jan; 22-28; 365(9456):295-304.
 16. Kniehl E, Becker A, Forster DH. Bed, bath and beyond: pitfalls in prompt eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrier status in health care workers. *J Hosp Infect.* 2005 Mar; 59(3):180-87.
 17. Teixeira CC, Benevides, HT, Machado TL, Lopes TV. Pesquisa de microrganismos potencialmente patogênicos em mãos e instrumentos utilizados por manicures e tatuadores em um município de Minas Gerais [Trabalho de Conclusão de Curso]. Faculdade de Medicina de Barbacena, 2015.
 18. Duarte HJMV, Prevalência de *Staphylococcus aureus* em leite de lactantes com e sem mastite no município de Vitória de Santo Antão – PE [dissertação de mestrado]. Vitória de Santo Antão: Universidade Federal de Pernambuco; 2012.
 19. Santos BMO. Monitoramento da colonização pelo *staphylococcus aureus* em alunos de um curso de auxiliar de enfermagem durante a formação profissional. *Rev Latino-Am Enfermagem.* 2000 Jan; 8(1):67-73.
 20. Martin JGP. Biofilmes de *Staphylococcus aureus* isolados de laticínios produtores de queijo Minas frescal [tese de doutorado]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2015.
 21. Santos SS. Investigação da presença e da formação de biofilmes por estafilococos em micro-usina de beneficiamento de leite [dissertação de mestrado]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2009.
 22. Simões IMAR, Toledo HH, Pinto JHP. O uso dos probióticos nas doenças alérgicas: revisão de literatura. *Rev Ciências em Saúde.* 2014 Abr/Jun; 4(2).
 23. Carvalho G, Perucha V. Doença Inflamatória Intestinal. *Nutrição Saúde e Performance.* 2006; 29:9-16.
 24. Madigan MTM, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. *Microbiologia de Brock.* 14. ed. Porto Alegre: Artmed; 2016.