

Faculdades Integradas de Patos
 Curso de Medicina
 v. 3, n. 1, jan./mar 2018, p. 965-976
 ISSN: 2448-1394



ANÁLISE QUALITATIVA DE MICRORGANISMOS ENCONTRADOS EM CHUPETAS DE CRIANÇAS PERTENCENTES A UMA CRECHE PÚBLICA

QUALITATIVE ANALYSIS OF MICRORGANISMS FOUND IN PACIFIER OF CHILDREN BELONGING TO A PUBLIC CRECHE

Maria Isabella Ferreira de Araújo
 Faculdades Integradas de Patos – FIP – Patos– Paraíba - Brasil
isabella.araujo61@gmail.com

Maria Aparecida Mariz de Lima
 Faculdades Integradas de Patos – FIP – Patos – Paraíba - Brasil
cidinhamarizz@gmail.com

Marcos Mateus Leandro de Assis
 Faculdades Integradas de Patos – FIP – Patos – Paraíba – Brasil
marcosmateus712@gmail.com

Alanna Michely Batista de Morais
 Faculdades Integradas de Patos – FIP – Patos – Paraíba – Brasil
alannamichely@yahoo.com.br

Cássio Ilan Soares Medeiros
 Universidade Federal da Paraíba – UFPB – João Pessoa – Paraíba – Brasil
cassioism@hotmail.com

RESUMO

Objetivo: Avaliar qualitativamente a variedade de microrganismos viáveis presentes em 25 chupetas de crianças de uma creche pública na cidade de São José do Egito-PE.

Métodos: Coletou-se o material com swab estéril contido no meio de armazenamento Stuart, posteriormente as amostras foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar sangue (AS) de carneiro a 5% bem como em ágar MacConkey (AMC), e incubadas a 37 °C por 24 horas. Passado o tempo de incubação e confirmado o crescimento microbiano, foi realizado provas bioquímicas, sendo essas Sulfeto-Indol-Motilidade (SIM), lisina, citrato, fenilalanina e triple sugar iron (TSI) necessárias para a identificação das bactérias isoladas.

Resultados: Verificou-se que as cepas de *Escherichia coli* apresentaram predominância de 56% das amostras, seguidas de *Salmonella* sp com 32%, *Klebsiella* sp, *Shigella* sp e *Proteus* sp com 4% respectivamente.

Conclusões: Desta forma, pode-se inferir que os meios de sucção artificial como as chupetas são um reservatório propício para o crescimento e desenvolvimento de cepas bacterianas com potencial infeccioso.

Palavras-Chave: Bactérias. Chupeta. Crianças.

ABSTRACT

Objective: This study evaluated qualitatively the variety of viable microorganisms present in 25 pacifiers of children of a public day-care center in the city of São José do Egito-PE.

Methods: The sterile swab material contained in the Stuart storage medium was collected, then the samples were inoculated into Petri dishes containing 5% sheep blood agar (AS) as well as MacConkey agar (AMC), and incubated at 37°C For 24 hours. After incubation time and microbial growth was confirmed, biochemical tests were performed, such as Sulfide-Indol-Motility (SIM), lysine, citrate, phenylalanine and triple sugar iron (TSI), necessary for the identification of the isolated bacteria.

Results: *Escherichia coli* strains showed predominance of 56% of the samples, followed by *Salmonella* sp with 32%, *Klebsiella* sp, *Shigella* sp and *Proteus* sp with 4% respectively.

Conclusions: In this way, it can be inferred that the means of artificial suction as the pacifiers are a propitious reservoir for the growth and development of bacterial strains with infectious potential.

Keywords: Bacteria. Pacifier. Children.

1. Introdução

Desde o Egito Antigo há relatos quanto ao uso de objetos de sucção, contudo 100 a.C a sociedade já utilizava de estruturas ósseas, metálicas e cerâmicas para a produção desses utensílios ¹. A adesão a essa forma não nutritiva ocorre em sua maioria, devido à inexistência de amamentação ou a necessidade da criança em manter os hábitos bucais; a introdução antecipada está interligada ao uso constante de meios nutritivos como a mamadeira, ambos responsáveis, por evitar situações de inquietações do lactente ².

O hábito de sucção não nutritiva tornou-se predominante como alternativa de desmame precoce, isso ocorre pelo fato dos bebês utilizarem de meios artificiais como chupetas para aliviar a tensão em situações de inquietação ou rejeitar o seio materno. Nesse caso ocorre uma "confusão de bicos" fazendo com que haja uma perda de tonicidade muscular, bem como uma menor produção de leite materno devido à diminuição da amamentação ^{3,4}.

O uso da chupeta como forma desamamentar levou a introdução antecipada da mamadeira. Porém, o excesso de alguns desses objetos trazem malefícios questionáveis como oclusão, alterações na fala, na deglutição ou interposição lingual ⁵. A mudança na dicção é devida esses itens ocupar grande parte da cavidade bucal impedindo a pronúncia correta das palavras, além disso, ocasiona defeitos ortodônticos, pois levam o mau alinhamento dos dentes ⁶.

De acordo com Silva et al.⁷, a utilização da chupeta na infância gera circunstâncias como o progresso psicológico e afetivo da criança e auxiliam no desenvolvimento de estruturas ósseas, sendo indicada uma redução no seu uso após os dois anos de idade, de modo que a partir desse período desencadeia prejuízos. Tanto a chupeta como a

mamadeira são fortes reservatórios de inúmeros micro-organismos presentes no meio ambiente, o látex encontrado no bico de ambas propicia o desenvolvimento de agregados bacterianos e fúngicos, já os bicos de silicone dificultam a permanência de alguns patógenos, além disso, o contato com a cavidade oral torna-se um fator predisponente para a contaminação ⁸.

Alguns agentes patogênicos são prevalentes nesses materiais, porém se encontra com mais frequência o *Stafilococcus* e a *Candida albicans*, ovos de *Enterobius vermiculares*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuristrichiura*, e larvas de *Ancylostomatidae*. A prevalência desses achados comprova a hipótese do surgimento de infecções e enteroparasitoses na infância ⁹. Além das parasitoses é comum observar mudanças fisiológicas como, alterações na respiração e nos batimentos cardíacos, otite média e má oclusões ¹⁰.

O objetivo deste trabalho foi identificar por meio de provas bioquímicas a presença de bactérias em meios de sucção artificial como chupetas, sendo essas a principal responsável pelo desenvolvimento de patologias severas, que vão desde problemas odontológicos bem como infecções, à medida que estes não passam pelo processo correto de assepsia.

2. Métodos

Tipo e local de estudo

O presente estudo trata-se de uma pesquisa experimental qualitativa, relacionada à incidência de bactérias presentes em chupetas de crianças de uma creche pública localizada na cidade de São José do Egito no estado de Pernambuco.

População e amostragem

A população foi constituída por vinte e cinco crianças que fazem uso de objetos de sucção artificial e estão devidamente matriculadas em uma creche pública na cidade de São José do Egito no estado de Pernambuco. Foi coletado informações a partir de amostragem casual simples, com erro amostral de 5%. Esse tipo de amostra é feita com o intuito de que todos os participantes possuam a mesma probabilidade de fazer parte da amostra.

Instrumentos de coleta de dados

A coleta de dados seguiu a metodologia de Silva et al. (2014)⁷, na qual realizou-se um questionário contendo informações relacionadas a frequência de uso e troca do objeto, além das condições de limpeza, armazenamento e tipo de matéria prima utilizada para a fabricação da mesma – látex ou silicone –.

Semeio

A coleta do material foi realizada por meio de um swab estéril inoculado no meio de cultura stuart, esse impede multiplicação de micro-organismos e a composição nutritiva garante a sobrevivência dos mesmos, permitindo a conservação de *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus* sp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp entre outros¹¹.

As amostras foram direcionadas ao laboratório e semeadas em placas de Petri contendo ágar sangue (Brain Heart Infusion) (AS) de carneiro a 5% e ágar MacConkey, sendo incubadas a 37 °C por 24 horas. O AS é considerado um meio não específico, permitindo o crescimento de micro-organismos distintos, no entanto, o MacConkey foi utilizado para isolamento de bactérias gram-negativas, por apresentar seletividade para cepas não fermentadoras de sorbitol, podendo apresentar colônias incolores quando relacionado a cepas sorbitol-negativo¹².

Após o crescimento, os isolados foram submetidos à técnica de GRAM, para análise morfológica e tintorial, permitindo o direcionamento para os testes bioquímicos complementares¹³.

Provas Bioquímicas

Os micro-organismos foram identificados por meio de provas bioquímicas utilizando testes convencionais, relacionados com Sulfeto-Indol-Motilidade (SIM), descarboxilação de lisina, citrato, fenilalanina, e "triple sugar iron" (TSI)¹⁴. O meio SIM utilizado avaliou a produção de indol, sulfeto de hidrogênio (H₂S) e motilidade, sendo essa última relacionada a capacidade fisiológica de movimentação desencadeada por bactérias providas de flagelo (antígeno H), cepas de *Shigella* sp e *Klebsiella* sp não apresentam tal característica, uma vez que o antígeno H é ausente¹⁵.

Dentre os testes SIM, o indol é resultante do desdobramento do triptofano pelos patógenos, promovendo o surgimento no ápice do tubo de um anel vermelho, comprovando positividade nos casos de *Escherichiacoli* (*E. coli*), *Klebsiella oxytoca* e

Proteus vulgaris, à medida que o teste é negativo, isso é indicativo de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *shigella* ¹⁶.

A produção H₂S pelas cepas é resultante da atividade do tiosulfato redutase em degradar compostos de enxofre, gerando precipitados de sulfato ferroso, características observadas em amostras contendo *Salmonella* spp e *Proteus* ssp ¹⁷. Para determinar as cepas de *E. coli*, *Salmonella* sp e *Klebsiella* sp foi utilizado o caldo lisina, esse contém como indicador de pH a púrpura de bromocresol capaz de verter o aminoácido lisina à cadaverina, amina responsável por promover aspecto rosa do caldo ^{12,14}. No entanto, *Shigella* sp e *Proteus* sp não possuem a enzima, promovendo o aspecto amarelo no meio ¹³.

Alguns micro-organismos como *klebsiella* possui a capacidade de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono, permitindo o desenvolvimento de cor azul e/ou crescimento no meio utilizado. Por tanto, bactérias como *E. coli* não fazem uso de citrato inalterando o aspecto verde do meio, assim como a predominância de crescimento ¹⁸.

O meio de triagem TSI, possui em sua composição glicose, lactose, sacarose e tiosulfato de sódio, sendo utilizado para investigar bactérias capazes de fermentar a lactose. Cepas de *Shigella* sp e *Salmonella* sp não metabolizam o produto (LAC-), portanto assumem a cor vermelha no teste. Entretanto *E.coli*, *Klebsiella* sp, e *Proteus* sp são fermentadoras (LAC +), o que implica na mudança no indicador de pH do meio para amarelo ¹¹.

A comprovação de *Proteus* sp é realizada através da prova de fenilalanina, a medida que a cepa possui enzima que degrada esse aminoácido. O cloreto férrico adicionado ao tubo permite que o ápice varta para a cor, afirmando a presença do micro-organismo ¹⁹.

Análise estatística

A amostra analisada envolveu 25 objetos de sucção, selecionados por conveniência, na qual foi aplicado um questionário com variáveis quantitativas, onde os resultados foram expressos em forma de tabelas, obtidos com base em informações repassadas pelos responsáveis das crianças.

Para as análises estatísticas, foi utilizado o software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 22. As associações entre uso de chupeta e variáveis selecionadas foram testadas pelo teste do qui-quadrado, com objetivo de analisar a significância estatística das amostras, comparando as variáveis qualitativas, trata-se de um teste que analisa a diferença entre as proporções, onde o nível de significância adotado foi 0,0 ²⁰.

3. Resultados

Os resultados da análise qualitativa das bactérias encontradas nos objetos de sucção foram determinados por meio da técnica de GRAM e provas bioquímicas. A incidência de *E. coli* apresentou-se relevante, de modo que 56% dos objetos de sucção continham este micro-organismo, no entanto 32% possuíam cepas de *Salmonella* sp. *Klebsiella* sp, *Proteus* sp e *Shiguella* sp estavam presentes em número reduzido, representando 4% dos resultados obtidos (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Bactérias encontradas nos meios de sucção artificial.

Variável	n	%
Freq. do Uso de Meios de Sucção		
<i>Escherichia coli</i>	14	56
<i>Salmonella</i> sp	8	32
<i>Shiguella</i> sp	1	4
<i>Klebsiella</i> sp	1	4
<i>Proteus</i> sp	1	4
TOTAL	25	100,0

Fonte: Dados de Pesquisa (2017)

Em relação aos dados demográficos, o estudo contou com 25 participantes, sendo 40% do sexo masculino e 60% do sexo feminino. Foi perguntado aos responsáveis pelos participantes da pesquisa qual era a frequência do uso de meios de sucção artificial. Que se distribuiu da seguinte forma, 84% dos participantes usam os meios durante 5 dias ou mais na semana, 12% para 1 à 2 dias na semana e 4% para 3 a 4 dias na semana. Já para o tipo de meio de sucção, Silicone com 56% e Látex com 44% (**Tabela 2**).

Tabela 2 –Frequência do uso do meio de sucção e tipo de material empregado na confecção do objeto

Variável	N	%
Freq. do Uso de Meios de Sucção		
1 – 2 dias Semanalmente	3	12
3 – 4 dias Semanalmente	1	4
5 dias ou mais Semanalmente	21	84
Tipo de Meio de Sucção		
Silicone	14	56

Látex	11	44
TOTAL	25	100,0

Fonte: Dados de Pesquisa (2017)

Também foi questionado a frequência da limpeza dos meios de sucção, 1 à 2 dias com 32%, 3 à 4 dias com 4% e 5 dias ou mais com 64%. Com respeito ao procedimento para limpar os meios teve, água corrente com 44%, água mineral com 20% e água aquecida com 36% (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Valores da frequência de limpeza dos meios de sucção artificial e o procedimento de limpeza adotado.

Variável	n	%
Freq. de Limpeza dos Meios de Sucção		
1 - 2 dias Semanalmente	8	32
3 - 4 dias Semanalmente	1	4
5 dias ou mais Semanalmente	16	64
Proced. de limpeza dos meios de sucção		
Água Corrente	11	44
Água Mineral	5	20
Água Aquecida	9	36
TOTAL	25	100,0

Fonte: Dados de Pesquisa (2017)

Além disso, foi questionado se usa ou não algum produto para auxiliar na limpeza, sim com 28% e não 72%. Em relação a troca do objeto 80% afirmaram trocar uma vez ao mês, 8% troca de 2 à 3 vezes por mês, 8% fazem uma troca a cada três meses e 4% a cada seis meses (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Classificação do uso de produtos durante a limpeza dos objetos de sucção artificial e a frequência nas trocas dos mesmos.

Variável	n	%
Usa Algum Produto na limpeza do Material		
Sim	7	28
Não	18	72
Frequência das trocas dos Meios de Sucção		
0 - 1 vez / mês	20	80
2 - 3 vezes / mês	2	8
A Cada 3 meses	2	8
A Cada 6 meses	1	4
TOTAL	25	100,0

Fonte: Dados de Pesquisa (2017)

No momento doação das chupetas foi relatado que o local de armazenamento do objeto de sucção era, enrolado na fralda com 32%, no com estojo 20%, geladeira com 16%, gaveta com 12% e a opção outros com 12% e a opção não armazenado com 8% (Tabela 5).

Tabela 5 - Locais de armazenamento dos objetos de sucção artificial

Variável	n	%
Local de Armazenamento do Objeto de Sucção		
Gaveta	3	12
Estojo	5	20
Geladeira	4	16
Enrolado na Fralda	8	32
Outros	3	12
Não Armazenado	2	8
TOTAL	25	100,0

Fonte: Dados de Pesquisa (2017)

4. Discussão

Os processos infecciosos se estabelecem no organismo devido um desequilíbrio na relação parasito/hospedeiro, podendo ser desencadeado por bactérias, vírus, fungos entre outros ²¹. O sistema imunológico e as formas de liberação de micro-organismos são fatores predisponentes para o aparecimento das doenças infecciosas, uma vez que muitos conseguem sobreviver por longos períodos ²².

Os casos de infecções acometem principalmente crianças, sobretudo destacam-se quadros de enteroparasitoses devido ao contato constante com coliformes fecais e outros micro-organismos suspensos no meio ambiente. As dispersões dos agentes infecciosos intensificam os cuidados com o manuseio de objetos que podem servir de habitat para tais patógenos, tal como os de sucção oral ²³.

O estudo bioquímico realizado verificou-se prevalência de cepas de *E. coli* em relação as demais cepas, ressaltando a influência desses meios de sucção como precursores de patologias intestinais. Aspecto mencionado por Lauridsen et al.²⁴ no qual bactérias do gênero *Enterococcus* sp são responsáveis pelo desencadeamento de parasitoses, foram os patógenos de maior relevância clínica identificados.

Segundo Monfardini²⁵ a patogenia provocada por cepas de *E. coli* se dá devido a capacidade que as mesmas tem de aderir-se aos enterócitos, gerando processos fisiológicos anormais, caracterizados pela redução na absorção de líquidos que por consequência promove o aparecimento de uma diarreia do tipo aquosa.

Contudo as espécies de *Staphylococcus*, *Listeria*, *Shigella*, *Salmonella* entre outras estão relacionadas à maioria dos casos de infecções. Apesar disso, espécies de *Streptococcus* possuíam uma relação direta com crianças, à medida que a forma de aquisição dessas se dava principalmente por contato direto com chupetas²⁶.

Correlacionando com os dados obtidos nesse estudo, observou-se que espécies de *Streptococcus* propostas por Bowen; Koo²⁷ não foram identificadas, todavia mostrou-se significativa a presença de cepas como *Salmonella* spp (32%), responsável por o desencadeamento de doenças entéricas graves em crianças. Sendo prevalente em lactentes com até um ano de idade quando relacionados a cepas de *Shigella*, perfil característico de recém-nascidos que fazem uso de objetos de sucção e possuem microbiota intestinal mista com predominância de apenas alguns tipos de micro-organismos²⁸.

Cepas de *Shigella* apesar de manifestar-se em pequenas proporções em indivíduos menores de cinco anos, provocam ciclos diarreicos sanguinolentos e má absorção intestinal²⁹. Similaridade avaliada durante a pesquisa, haja vista que apenas 4% das amostras continha essa cepa.

Achados de *Klebsiella* e *Proteus* estão relacionados a quadros patogênicos, esses micro-organismos são incomuns a microbiota normal, contudo podem apresentar-se em secreções orais em razão da presença no trato gastrointestinal, levando o desenvolvimento de infecções severas³⁰. Devido à baixa incidência em lactentes apenas 4% dos indivíduos expostos ao estudo demonstraram a presença desses patógenos, respectivamente.

O processo infeccioso causado por micro-organismos patogênicos permite a introdução de classes de antibióticos distintas, possibilitando o desenvolvimento de mecanismos de resistência a tais drogas e o que contribui para amplificação da severidade, principalmente na infância¹⁻². Razão pela qual se faz necessário minimizar os fatores de riscos que venham a desencadear processos infecciosos, tais como o uso de objetos contaminados.

5. Conclusões

Em conclusão, pode-se inferir que os meios de sucção artificial como chupetas são um reservatório propício para o desenvolvimento de espécies bacterianas, pois além de se localizarem em locais de fácil acesso e sem higienização é confeccionadas com matérias como o látex que facilita a sobrevivência desses micro-organismos. Com base nos resultados, o presente estudo mostrou uma predominância de cepas de *E. coli*, sendo essa responsável pelo desencadeamento de enteroparasitoses, no entanto a presença de *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Klebsiella* sp e *Proteus* sp também estão relacionadas a

processos entéricos graves, principalmente envolvendo crianças. Contudo são necessários maiores investigações acerca de outros agentes patogênicos, como fungos presentes nesse meio.

Referências

1. Dahan ZAA, Assadi AAH. Prevalence of Pacifier Sucking Habit and Its Effect on Occlusion in Children Aged 1-5 Years in Baghdad City. *Journal of Baghdad College of Dentistry*. 2015; 27(4):143-146.
2. Carrascoza CK, Possobon RF, Ambrosano GMB, Júnior ALC, Morais ABA. Fatores determinantes do uso de chupeta entre crianças participantes de programa de incentivo ao aleitamento materno. *Revista CEFAC*. 2014;16(2).
3. Batista KRA, Farias MCAD, Melo WSN. Influência da assistência de enfermagem na prática da amamentação no puerpério imediato. *Saude em debate*. 2013; 37(96):130-138.
4. Dadalto ECV, Rosa EM. Aspectos culturais para a oferta da chupeta às crianças. *Journal of Human Growth and Development*. 2013; 23(2): 231-237.
5. Rigotti RR, Oliveira MIC, Boccolini CS. Associação entre o uso de mamadeira e de chupeta e a ausência de amamentação no segundo semestre de vida. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2015; 20(4).
6. Silva JM, Silva MP, Yamaguchi UM, Gomes CF. Chupeta, Conforto ou Prejuízo? Micoorganismos Escondidos por trás dos Hábitos Deletérios. Centro Universitário de Maringá 2012.
7. Silva RM, Paula JF, Marques RVDA, Almeida LFD, Cavalcanti YW. Análise estrutural e microbiológica de chupetas de crianças de creches públicas e particulares. *Revista Cubana de Estomatología*. 2014; 51(1): 24-34.
8. Abreu PO, Grossi M, Hoerbe A, Santin LA, Silveira CB, Fernandes RD, Kurtz T, Bastos MD. Análise da contaminação de chupetas por enteroparasitas e fungos em escola de ensino fundamental. *Journal of Health & Biological Sciences*. 2016; 4(4): 240-244.
9. Damazio SM, Lima MS, Soares AR, Souza MAA. Intestinal parasites in a quilombola community of the Northern State of Espírito Santo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2013; 55(3): 179-183.
10. Pizzol KEDC, Boeck EM, Santos LFPD, Lunardi N, Oliveira GJPLD. Influência do ambiente familiar e da condição socioeconômica na introdução e na manutenção de hábito de sucção não nutritiva. *Rev. odontol. UNESP (Online)*. 2011; 40(6).
11. Centers For Disease Control and Prevention (CDC et al. Laboratory practices for prenatal group B streptococcal screening--seven states, 2003. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*. 2004; 53(23): 506.

12. Satzhe C, Turner P, Julkunen AV, Adrian PV, Antonio M, Hare KM, Restrepo AMH, Leach AJ, Klugman KP, Porter BD, Leão RS, Scott A, Nohynek H, O'brien KLO. Standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*: Updated recommendations from the World Health Organization Pneumococcal Carriage Working Group. *Vaccine* 2013; 32(1):165-179.
13. Vargas DP, Nörnberg JL, Mello RO, Sheibler RB, Milani MP, Mello FCB. Correlações entre contagem bacteriana total e parâmetros de qualidade do leite. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 2013; 20(4):241-247.
14. Anjos TR, Vidal AMC, Costa TD, VazACN, Rocha ES. Pesquisa de microrganismos esporogênicos em produtos submetidos ao processo de ultra alta temperatura: leite de cabra, bebidas a base de soja e leite de cabra com soja. *Ars Veterinaria*. 2015; 31(2): 94.
15. LiXZ, Plésiat P, NikaidoH. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology reviews*. 2015; 28(2): 337-418.
16. Mantilla SPS, Franco RM. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina. In *Colloquium Agrariae*. 2012; 8(1): 10-17.
17. Santos SLV, Martins MA, Vasconcelos LSNOL, Lima ABM, Malaquias SG, Bachion MM. Bastonetes Gram-negativos em úlceras venosas e implicações para o atendimento de enfermagem na atenção primária. *Rev. Eletr. Enf.* 2014; 16(2): 370-377.
18. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimento Básicos em Microbiologia Clínica*. 3ª edição. São Paulo: Savier, 2010.
19. Oakley BB, Morales CA, Line JE, Seal BS, Hiett KL. Application of high-throughput sequencing to measure the performance of commonly used selective cultivation methods for the foodborne pathogen *Campylobacter*. *FEMS microbiology ecology*. 2012; 79(2):327-336.
20. Lindenau JDR, Guimarães LSP. Calculando o tamanho de efeito no SPSS. *Revista HCPA*. Porto Alegre. 2012; 32(3):363-381.
21. Costa AG. Avaliação da resposta imune celular e frequência dos polimorfismos do TLR-4 em pacientes com malária da cidade de Coari, Estado do Amazonas. 2013.
22. Silveira LM, Prade LS, Ruedell AM, Weinmann ARM. Aleitamento materno e sua influência nas habilidades orais da criança. *Revista de Saúde Pública*. 2013; 47(1):37-43.
23. Frighetto M, Dambrós B, Barremaker V. Ocorrência de parasitos em chupetas de crianças em um centro municipal de educação infantil do município de Videira, SC. *Unoesc & Ciência - ACBS*. 2013; 4(2):177 -186.

24. Lauridsen HCM, Halkjaer SI, Mortensen EM, Lydolph MC, Lassen IN, Krogfelt KA, Petersen AM. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* are associated with intestinal inflammation in patients with ulcerative colitis. *Scientific reports*. 2016; 6:31152.
25. Monfardini MV. Caracterização genotípica e fenotípica de amostras de *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC) e com padrão chain-Like Adhesion (CLA) isoladas de criança com e sem diarreia. 2012.
26. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging infectious diseases*. 2011; 17(1): 7.
27. Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries research*. 2011; 45(1): 69-86.
28. Rodrigues MF, Póvoa HCC, Moraes JS, Pinheiro LS, Arêdes EM. Incidência de gastroenterite infantil por *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. *Revista Científica da Faminas*. 2016; 2(2).
29. Khot PD, Fisher MA. Novel approach for differentiating *Shigella* species and *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption ionization-time off light mass spectrometry. *Journal of clinical microbiology*. 2013; 51(11): 3711-3716.
30. Seligman R, Lima LFR, Oliveira VA, Sanvicente C, Sartori J, Pacheco EF. Risk factors for infection with multidrug-resistant bacteria in non-ventilated patients with hospital-acquired pneumonia. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2013; 39(3): 339-348.