

---

---

**Produção de biofilme e padrão de adesão a células  
e superfícies abióticas de amostras de  
*Acinetobacter baumannii***  
**Biofilm production and standard adherence to  
the cells and abiotic surfaces samples of  
*Acinetobacter baumannii***

---

---

ALINE ANTUNES<sup>1</sup>  
LUIS FERNANDO DE PAULO<sup>1</sup>  
MILENE DALILLA CAETANO<sup>1</sup>  
THIAGO NAGEIA SCHULTZ<sup>1</sup>  
ANA PAULA UBER<sup>2</sup>

**RESUMO:** Nos dias atuais as infecções hospitalares têm sido motivo de grandes preocupações, principalmente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs). A espécie *Acinetobacter baumannii* é uma bactéria não fermentadora de glicose, comensal e que nas últimas décadas tem tido uma relevante importância como patógeno oportunista. O uso extensivo de terapia antimicrobiana nos hospitais tem contribuído para o aumento e seleção no número de isolados de *A. baumannii* resistentes a uma variedade de antimicrobianos. É conhecido como um patógeno capaz de aderir a superfícies formando o biofilme, o qual pode levar à permanência desse microrganismo por longos períodos, protegido da ação de anticorpos e antissépticos. Objetivos: avaliar a formação de biofilme e padrão de aderência em células da linhagem HEp-2, de cepas de *A. baumannii* isoladas no período de abril de 1994 a novembro de 1996 no Hospital Universitário de Londrina. Métodos: Foram estudadas um total de 26 amostras de *A. baumannii*, onde 20 (76,92%) isoladas de pacientes

---

<sup>1</sup>Alunos do curso de Biomedicina da UNINGÁ – Rua Vitória, 276, Cep 87020-320, Maringá-PR, e-mail: luisfernando.liu@hotmail.com

<sup>2</sup>Mestre em Ciências - Biologia da Relação Patógeno-hospedeiro – Universidade de São Paulo e Professor do Curso de Biomedicina da UNINGÁ.

e 6 (24,08%) isoladas do ambiente hospitalar. A aderência bacteriana foi determinada pelo teste de aderência às células Hep-2 e por meio do cálculo da média e desvio-padrão. Para formação do biofilme em placas de poliestireno, nos diferentes tempos, a placa foi seca e fixado por 1 hora a 60°C, corado com cristal violeta a 0,4% e medida em aparelho de ELISA em DO de 570 nm. Resultados: Todas as amostras estudadas aderiram em maior ou menor intensidade em células HEp-2, já para a formação do biofilme em placas de poliestireno, 22 (84,61%) das amostras apresentaram-se como formadoras de biofilme. Conclusões: pode-se sugerir que cepas de *A. baumannii*, podem aderir tanto a superfícies abióticas quanto às células, podendo permanecer no ambiente hospitalar ou mesmo colonizando pacientes durante o período de internação originando assim, possíveis surtos infecciosos.

**Palavras-chave:** Infecção Hospitalar. *Acinetobacter baumannii*. Biofilme.

**ABSTRACT:** Nowadays the hospital infections have been cause for great concern, especially in the intensive care units (ICUs). The species *Acinetobacter baumannii* is a bacterium unfermented glucose, commensal and that in recent decades has had a significant importance as opportunistic pathogen. The extensive use of antimicrobial therapy in hospitals has contributed to the increase in the number and selection of isolates of *A. baumannii* resistant to a variety of antimicrobial. It is known as a pathogen able to adhere to surfaces forming the biofilm, which can lead to the permanence of this organism for long periods, protected from the action of antibodies and antiseptics. Objectives: To evaluate the formation of biofilms and adherence to standard cell line Hep-2, the strains of *A. baumannii* isolated in the period from April 1994 to November 1996 in the University Hospital of Leicester. Methods: We studied a total of 26 samples of *A. baumannii*, where 20 (76.92%) isolated from patients and 6 (24.08%) isolated from the hospital environment. The bacterial adherence was determined by the test of adherence to Hep-2 cells and by calculating the mean and standard deviation. For formation of biofilms in polystyrene plates in different times, the plate was dry and fixed for 1 hour at 60oC, stained with crystal violet to 0.4% and unit of measure in ELISA'S at 570nm. Results: All samples studied acceded to a greater or lesser intensity in Hep-2 cells, because for the formation of biofilms in polystyrene plates, 22 (84.61%) of the samples presented itself as biofilm-forming. Conclusion: You can suggest that strains of *A.*

*baumannii*, can join both the abiotic on cell surfaces and can remain in the hospital or even colonizing patients during hospitalization thus creating, possible infectious outbreaks.

**Key-words:** Cross Infection. *Acinetobacter baumannii*. Biofilm.

## INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares podem ser definidas como aquelas adquiridas após a internação do paciente e que se manifesta durante a internação ou após alta, podendo então ser relacionada com a internação e/ou procedimentos hospitalares. (TRABULSI et al., 2002). As causas da infecção podem ser pela própria microbiota do paciente, ou então por microrganismos encontrados no próprio ambiente em que este vivia (MENEZES et al., 2007), e que podem penetrar o organismo deste através do uso de cateteres endovenosos e urinários como também procedimentos cirúrgicos invasivos e complexos (BLACK e TOROS, 2002). Nos dias atuais as infecções hospitalares têm sido motivo de grande preocupação, principalmente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), nas quais se encontram uma associação de fatores propícios ao surgimento destas infecções.

*Acinetobacter baumannii* apresenta-se como cocobacilo gram negativo, não fermentador de glicose, estritamente aeróbio, imóvel, catalase positiva e oxidase negativa (BOUVET e GRIMONT 1986; BÉRGOGNE-BERÉZIN e TOWER, 1996). É frequentemente encontrada no solo, nos ambientes, em equipamentos como também em animais e seres humanos (HINRICHSEN, 2007). É uma bactéria que está amplamente distribuída no ambiente hospitalar, capaz de colonizar seres humanos. Sendo assim, por apresentar longa permanência no meio ambiente e uma ampla capacidade de resistência o torna um patógeno nosocomial bem sucedido.

No ambiente hospitalar o gênero *Acinetobacter* tem sido responsabilizado por graves infecções envolvendo várias fontes de transmissão. Assim, são descritos na literatura quadros de bacteremias, septicemias, infecções respiratórias, infecções urinárias, endocardites, peritonites e meningites, principalmente em pacientes imunocomprometidos por doenças de base ou por tratamentos médicos e procedimentos cirúrgicos (KONEMAN et al., 2001).

A espécie *A. baumannii* vêm ganhando importância nos últimos anos devido à participação em infecções graves e à selecionada resistência

aos antimicrobianos. O aparecimento de linhagens multi-resistentes dessa espécie freqüentemente limita as opções terapêuticas.

A aderência celular é um dos principais fatores de patogenicidade de uma cepa, pois é um pré-requisito para a colonização e uma posterior infecção. *A. baumannii* é bastante conhecido, pois pode desencadear infecção devido à sua capacidade de viver em comunidade, conhecida como biofilme. O biofilme é uma comunidade de bactérias aderidas a uma superfície biótica e/ou abiótica, que vivem em uma matriz polimérica produzidas por elas mesmas. Dessa forma, essa associação promove vantagens de sobrevivência aos microrganismos, como resistência a antimicrobianos, proteção contra antissépticos, desinfetantes, bacteriófagos, proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro, entre outros (GIRARDELLO, 2007).

Baseando-se na importância destes microrganismos como agente de infecção hospitalar em função da sua alta capacidade de adesão, este trabalho teve como objetivo avaliar a aderência em células de linhagem HEp-2 e a produção de biofilme a partir de isolados clínicos e ambientais de 26 amostras de *A. baumannii*, isoladas do Hospital Universitário de Londrina.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo foram analisadas 26 amostras de *Acinetobacter baumannii*, sendo que 20 são provenientes de pacientes hospitalizados no Hospital Universitário de Londrina e 6 foram obtidas do ambiente do mesmo hospital no período de abril de 1994 a novembro de 1996. Além das amostras selecionadas para o estudo ainda foi utilizada uma amostra padrão de *Escherichia coli* (ATCC K12 DSM 11250) como controle positivo para formação de biofilme.

Todas as amostras foram identificadas no setor de Microbiologia Clínica do Hospital Universitário de Londrina e, posteriormente, foram confirmadas no laboratório de Microbiologia Básica do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, onde foram submetidas a novos testes para confirmação da espécie através da utilização de provas bioquímicas.

### ADERÊNCIA ÀS CÉLULAS HEp-2

Foi realizado de acordo com An; Friedman (2000) onde as células HEp-2 foram cultivadas em meio 199 adicionado de antibiótico e soro

fetal bovino e incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> por 16-24 horas sobre placas para cultivo celular novas, estéreis com 24 orifícios contendo uma lamínula de vidro em cada orifício. Após este período, havia aproximadamente 50% de confluência celular. O meio de cultivo da placa foi, então, desprezado por aspiração e cada orifício foi lavado por 3 vezes com PBS pH 7,4 (37°C). Adicionou-se 0,48 ml de meio contendo 2% de soro fetal bovino (SFB) + 1% manose + 2% de Hepes 1M + meio 199 somados a 20 µl da suspensão de bactérias crescidas em caldo tripticaseína (TSB) por 16 horas a 37°C sem agitação. A placa contendo esta mistura de suspensão bacteriana e meio de cultura, foi incubada por 30 minutos (tempo de adesão) a 37°C em 5% de CO<sub>2</sub>. Após este período retirou-se, então, o meio e a placa foi lavada 10 vezes com PBS (pH 7,4) a 37°C, e foi adicionado novamente 0,5 ml de um meio de cultura novo (meio 199 + 1% de manose + 2% de Hepes + 2% de SFB) e incubado por mais 3 horas (tempo de multiplicação das bactérias que permaneceram aderidas). Posteriormente os orifícios foram lavados 3 vezes com PBS. As lamínulas ainda dentro da placa foram fixadas com metanol por 15 minutos, coradas por 5 minutos com May-Grünwald, 20 minutos com Giemsa e lavadas com água destilada. Depois de coradas as lamínulas foram retiradas dos orifícios da placa, secas e coladas sobre lâminas através do uso de bálsamo canadense. Após a secagem das lâminas observou-se ao microscópio óptico utilizando-se objetiva de imersão. Para avaliar a adesão em células HEP-2, em quatro campos contendo 100 células foram contadas as células com bactérias aderidas e feito o cálculo da média e desvio-padrão. A partir daí as amostras foram classificadas conforme critério utilizado onde:

Amostras fracamente aderentes: menos de 30% de células aderentes;

Amostras intermediariamente aderentes: entre 30 e 60% de células aderidas;

Amostras fortemente aderentes: mais de 60% de células aderentes.

#### ENSAIO DE FORMAÇÃO DO BIOFILME BACTERIANO

Este ensaio foi realizado de acordo com Pitts et al., (2003) onde as amostras foram cultivadas *overnight* em TSB e, então, 20 µl da cultura foram colocados em placas de microdiluição em triplicata com 96 espaços já contendo 180 µl de TSB e incubadas a 37°C por até 48 horas. Após os tempos de 6, 12, 24 e 48 horas o meio de cultura foi retirado e o biofilme formado nos diferentes tempos foi seco e fixado por 1 hora a 60°C, corado com cristal violeta a 0,4% e medido em aparelho de ELISA em DO de 570 nm. O tempo zero foi determinado antes de iniciar o

experimento e este valor da leitura em 570 nm foi usado para determinar a classificação do grau de aderência ( $DO_0$ ). Para determinar o grau de aderência foi utilizado o critério de classificação de acordo com Stepanovic et al. (2000).

- Não formadora de biofilme – ( $DO_a < DO_0$ )
- Fracamente formadora de biofilme – ( $DO_0 < DO_a \leq 2 \cdot DO_0$ )
- Moderadamente formadora de biofilme – ( $2 \cdot DO_0 < DO_a \leq 4 \cdot DO_0$ )
- Fortemente formadora de biofilme – ( $DO_a \geq 4 \cdot DO_0$ )

## RESULTADOS

### DETERMINAÇÃO DA ADERÊNCIA

Observou-se que dentre as 26 amostras estudadas, 11 (42,30%) apresentaram aderência superior a 60%, sendo classificadas como altamente aderentes, 8 (30,76%) apresentaram entre 30 e 60% de aderência, sendo classificadas como intermediariamente aderentes e 7 (26,92) apresentaram aderência entre 1 e 30 %, sendo classificadas como fracamente aderentes (Tab. 1 e Fig. 1).

Das amostras isoladas do ambiente 4 (66,66%) apresentaram-se como fortemente aderentes e 2 (33,33%) apresentaram-se como fracamente aderentes. Das amostras clínicas, somente 5 (25%) apresentou-se como fracamente aderentes, sendo que 8 (40%) apresentou-se como intermediariamente aderente e 7 (35%) apresentou-se como fortemente aderente.

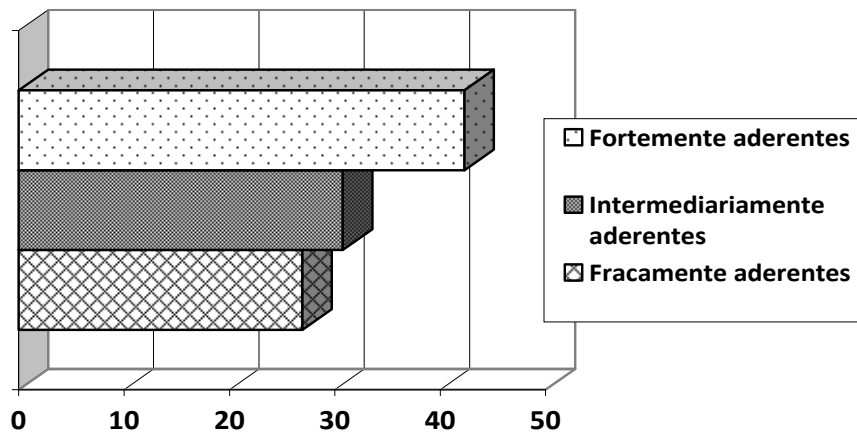


Figura 1. Gráfico com as porcentagens de amostras por padrão de aderência.

Tabela 1. Padrões de aderência em células HEp-2 das 26 amostras estudadas.

<b>Amostras</b>	<b>Local de isolamento</b>	<b>Log da aderência</b>	<b>Classificação</b>
03T	solução enteral	12,8 ± 2,9	Fracamente aderente
32	ponta de cateter	7,75 ± 6,63	Fracamente aderente
36	urina	5,8 ± 3,6	Fracamente aderente
46	urina	3,3 ± 3,2	Fracamente aderente
79	secreção nasal	4,25 ± 1,5	Fracamente aderente
80	caneta	29,8 ± 14,6	Fracamente aderente
103	secreção traqueal	5,5 ± 2,4	Fracamente aderente
11T	ponta de cateter	52,0 ± 30,91	Intermediariamente aderente
17T	gangrena do pé	52,8 ± 33,	Intermediariamente aderente
18T	ponta de cateter	57,5 ± 23	Intermediariamente aderente
19T	secreção escaras	46,8 ± 9,6	Intermediariamente aderente
23	secreção de ouvido	38,0 ± 7,3	Intermediariamente aderente
53	secreção traqueal	44,8 ± 3,4	Intermediariamente aderente
83	secreção traqueal	41,0 ± 5,8	Intermediariamente aderente
96	secreção traqueal	40,5 ± 9,7	Intermediariamente aderente
15T	ponta de cateter	61,25 ± 11	Fortemente aderente
16T	ponta de cateter	100 ± 0,0	Fortemente aderente
21T	secreção escaras	84,5 ± 9,4	Fortemente aderente
14	cama	61 ± 42,24	Fortemente aderente
16	cama	78,3 ± 19,3	Fortemente aderente
44	urina	82,0 ± 4,7	Fortemente aderente
59	solução enteral	82,5 ± 17,9	Fortemente aderente
78	secreção nasal	99,0 ± 0,0	Fortemente aderente
81	secreção traqueal	98,8 ± 1,0	Fortemente aderente
82	sangue	92,8 ± 4,8	Fortemente aderente
88	solução enteral	64,0 ± 31,1	Fortemente aderente

Amostras fortemente aderentes: mais de 60% de células aderidas; amostras intermediariamente aderentes: entre 30 e 60% de células aderidas; amostras fracamente aderentes: menos de 30% de células aderidas.

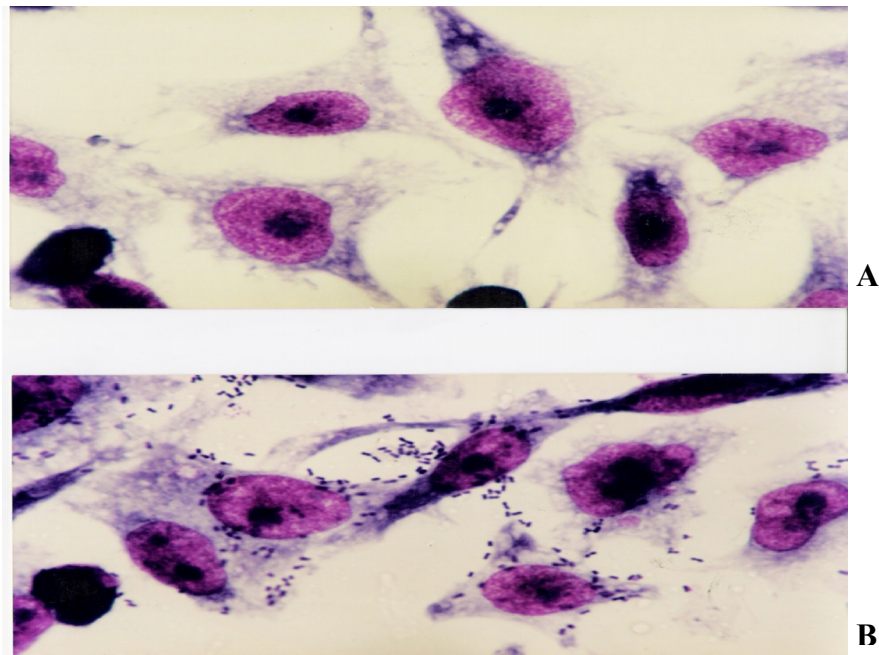


Figura 2. Adesão a células HEp-2. A: Controle negativo células HEp-2 sem nenhuma bactéria aderida. B: *Acinetobacter baumannii* aderida a células HEp-2. Aumento de 1000x ao microscópio comum em coloração de Giemsa.

Fonte: Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Maringá, 2008.

#### FORMAÇÃO DE BIOFILME EM PLACAS DE POLIESTIRENO

As determinações de densidade óptica (DO) das amostras estudadas foram diminuídas da leitura da DO do tempo zero. Foram consideradas produtoras de biofilme aquelas amostras que, em algum momento, apresentaram aderência na placa de poliestireno conforme o critério de classificação utilizado. Das 26 amostras testadas a maioria é capaz de formar biofilme, em maior ou menor intensidade.

Quando avaliamos o tempo produzido por biofilme observou-se que 22 (84,61%) amostras são capazes de produzir biofilme independente do tempo em que se formam, e que somente 4 (15,38%) não formaram biofilme em nenhum dos tempos testados.

Nas primeiras 6 e 12 horas de contato, 10 (38,46%) das amostras formaram biofilme, enquanto que em 16 (61,53%) não houve formação de biofilme. No tempo de 24 horas, 17 (65,38%) das amostras formaram



biofilme, sendo que em 9 (34,61%) não houve formação do mesmo. Em 48 horas de contato, 14 (53,84%) das amostras formaram biofilme e 12 (46,15%) não houve formação de biofilme (Fig.3). Durante os tempos de 6, 12, 24 e 48 horas, algumas amostras apresentaram mudança no padrão de aderência.

Quanto ao critério de classificação das 26 amostras testadas, apenas 4 (15,38%) apresentaram-se como não aderentes, 6 (23,07%) encontram-se como fracamente aderentes, 10 (38,46%) como moderadamente aderentes e 6 (23,07%) se apresentam como fortemente aderentes (Fig. 4).

Constatou-se que das 26 amostras de *A. baumannii* testadas, 22 (84,61%) são formadoras de biofilme independentemente da intensidade do biofilme. No entanto, em algumas amostras ocorreu um certo desprendimento do mesmo. Por outro lado, em outras amostras o biofilme aumentava gradativamente com o passar das horas.

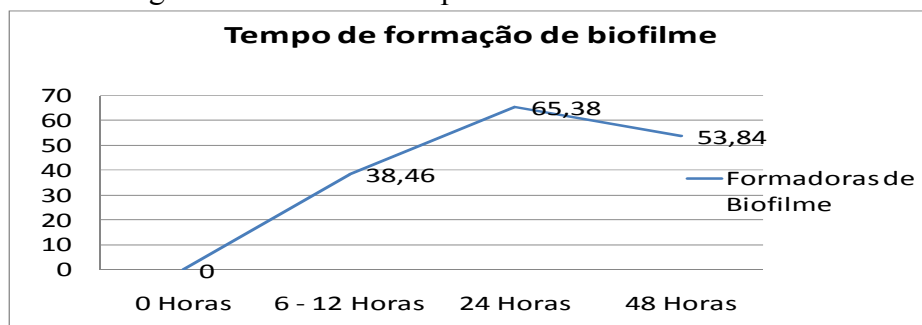


Figura 3. Gráfico com as porcentagens de formação do biofilme em placas de poliestireno.

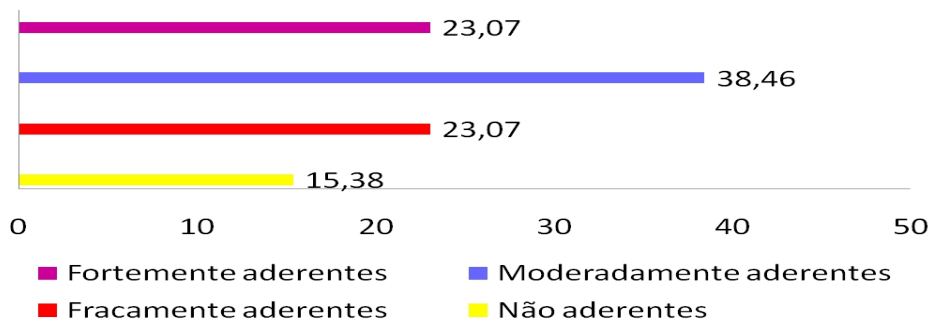


Figura 4. Porcentagens dos padrões de aderência apresentados pelas amostras estudadas.

## DISCUSSÃO

Nos últimos anos, as espécies de *Acinetobacter* vêm se destacando como patógenos clinicamente importantes. Embora esses microrganismos sejam predominantes na natureza, parte das infecções humanas são adquiridas em hospitais. *A. baumannii* é uma espécie predominante em infecções nosocomiais (SEIFERT, 1995). Bouvet; Grimont (1987) apontaram que dentre 299 isolados de *Acinetobacter* sp de quadro de infecções hospitalares, 253 (84,61%) eram da espécie *A. baumannii*.

Através dos resultados obtidos no teste de aderência às células HEp2, verificamos que todas as amostras de *A. baumannii*, provenientes de material clínico ou do ambiente hospitalar, possuem capacidade de aderência às células em maior ou menor grau. A importância deste fato a nível hospitalar está na relação destes nossos dados com aqueles obtidos por SEIFERT et al., (1997) que mostram um aumento na colonização de pacientes durante o período de internação, ou seja, podendo aderir às células estes microrganismos poderão colonizar pacientes ou profissionais da saúde e assim permanecer no ambiente hospitalar, mesmo após sua descontaminação, uma vez que diferentes sítios do corpo humano, segundo Ayats et al., (1997), foram considerados como reservatórios de *A. baumannii* em surtos de infecções.

Faris; Wadstrom e Freer (1981) relata que a hidrofobicidade é um parâmetro que tem sido associado com a patogenicidade, sendo dessa forma relacionado também com a capacidade das cepas em aderir às superfícies animadas ou inanimadas. De acordo com Pontes et al. (2006), *A. baumannii* é capaz de sobreviver em superfícies secas, contribuindo assim para sua persistência no cenário hospitalar. Permanecendo neste ambiente e aderindo a diferentes tipos de materiais existe o possível risco de disseminação, levando à ocorrência de surtos. A capacidade das amostras estudadas em aderir a superfícies abióticas demonstra que a ocorrência de infecções hospitalares pode ter origem na permanência desse microrganismo por longos períodos.

Essa capacidade de adesão é o primeiro passo no complexo de formação do biofilme (HOOD; ZOTTOLA, 1995) que, após formado pode colaborar com a permanência das amostras de *Acinetobacter* no ambiente hospitalar permitindo a contaminação de pacientes, além de propiciar a disseminação de cepas multirresistentes. Neste estudo utilizou-se o poliestireno para averiguar a formação de biofilme em amostras clínicas e do ambiente hospitalar de *A. baumannii*, um microrganismo

presente em casos de infecção hospitalar. Os resultados mostraram que a maioria das amostras aderiram à placa de poliestireno, indicando que são capazes de formar biofilme quando em condições apropriadas.

A habilidade de formar biofilme é uma boa estratégia para que o microrganismo sobreviva sob condições de stress ou durante o tratamento com antibióticos (DONLAN; COSTERTON, 2002). No presente estudo observou-se uma grande frequência de amostras de *A. baumannii* formadoras de biofilme (22) amostras ou 84,61%, o que parece estar de acordo com o publicado por Lee et al. (2007) que, em seu estudo com 23 cepas de *A. baumannii* multirresistentes, isoladas num hospital da Korea, também encontrou uma alta capacidade em formar biofilme.

Enfim, os dados obtidos em nosso estudo vêm acrescentar um pouco mais sobre o conhecimento dos fatores de virulência de *Acinetobacter baumannii*, porém, os fatores envolvidos no processo de adesão e formação de biofilme são complexos e necessitam de novos estudos que tenham o objetivo de compreender melhor como ocorre o processo de aderência e produção de biofilme descritos neste trabalho, isso justifica o grande número de relatos associando estes microrganismos a surtos de infecções hospitalares.

## CONCLUSÃO

Todas as amostras estudadas foram capazes de aderir às células HEp-2 indicando a possibilidade dessas cepas colonizarem pacientes e profissionais da saúde permanecendo assim, no ambiente hospitalar.

Das 26 amostras analisadas, 22 (84,61%) foram capazes de formar biofilme, em maior ou menor intensidade demonstrando a capacidade dessas amostras de aderir às em superfícies abióticas permanecendo por longos períodos protegidas da ação de antissépticos e detergentes.

## REFERÊNCIAS

AN, Y.H.; FRIEDMAN, R.J. **Handbook of Bacterial Adhesion: Principles, Methods and Applications**. Ed. Humana Press, Totowa, NJ, USA, 2000.

AYATS, J. et al. Epidemiological significance of cutaneous, pharyngeal, and digestive tract colonization by multiresistant *Acinetobacter baumannii* in ICU patients. **J Hospital Infection**. v.37, n.4, p.287-95, 1997.

BÉRGOGNE – BÉRÉZIN, E.; TOWNER, K.J. *Acinetobacter* spp. As nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features. **Clin Microbiol Rev**, v. 9, n.2, p.148-65, 1996.

- BOUVET, P.J.M; GRIMONT, P.A. Taxonomy of genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* SP. Nov., *Acinetobacter haemolyticus* SP. Nov., *Acinetobacter johnsonii* SP. Nov., and *Acinetobacter junii* SP. And emended description of *Acinetobacter* and *Acinetobacter iwoffii*. **Int J Syst Bacteriol**, v.36, n.2, p.228-40, 1986.
- BOUVET, P.J.M; GRIMONT, P.A.D. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. **Ann Inst Pasteur Microbiol**, v.140, p.569-78, 1987.
- BLACK, J.G.; TOROS, E.F. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 829p.
- DONLAN, R.M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clin Microbiol Rev**, v.15, n.2, p.167-93, 2002.
- FARIS, A.; WADSTROM, T. FREER, J.H. Hydrophobic absorptive and hemagglutinating properties of *Escherichia coli* possessing colonization factor antigens (CFA/I or CFA/II) type 1 pili, or other pili. **Curr Microbiol**, v.5, p.67-72, 1981.
- GIRARDELLO, R. **Estudo da formação de biofilme por cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes com infecção urinária**. Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Londrina, Londrina., 2007.
- HINRICHSEN, S. **Prática Hospitalar**- Ano IX – n.51, p.51-2, 2007.
- HOOD, S.K.; ZOTTOLA, E.A. Biofilms in food processing. **Food Control Guildford**, v.6, p.9-18, 1995.
- KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, Guanabara Koogan 2001.
- LEE, H.W. et al. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. **Clin Microbiol Infectious Dis**, v.14, p.49-54, 2007.
- MENEZES, E.A. et al. Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na unidade de terapia intensiva do hospital geral de fortaleza, **J Bras Patol Med Labor**, v.43, n.3, p.149-55, 2007.
- PITTS, B. et al. A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. **J Microbiol Methods**, v.54, p.269-76, 2003.
- PONTES, V.M.O. et al. Perfil de resistência de *Acinetobacter baumannii* a antimicrobianos nas unidade de terapia intensiva e semi- intensiva do hospital geral de Fortaleza. **Rev Bras Análises Clín**, v. 38, n.2, p.123-6, 2006.
- SEIFERT, H. *Acinetobacter* Species as a Cause of Catheter- related Infections. **Zentralbl Bacteriol**, v.283, p.161-8, 1995.
- SEIFERT, H. et al. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. **J Clin Microbiol**, v.35, n.11, p.2819-25, 1997.
- STEPANOVIC, S. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **J Microbiol Methods**, v.40, p.175-1, 2000.
- TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2002, 586p.

Enviado em: dezembro de 2008.

Revisado e Aceito: fevereiro de 2009.