

**Deteção de bactérias em diversos locais em um centro universitário de ciências da
saúde**

Bacterial detection at multiple locations at a university health sciences center

**Detección de bacterias en múltiples ubicaciones en un centro universitario de ciencias de
la salud**

Recebido: 30/10/2019 | Revisado: 30/10/2019 | Aceito: 26/11/2019 | Publicado: 28/11/2019

Francisco das Chagas Araújo Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8086-2150>

Universidade Estadual do Piauí, Brasil

E-mail: chicaovet@gmail.com

Ana Clara Barradas Mineiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3517-314X>

Universidade Estadual do Piauí, Brasil

E-mail: acbarradas27@gmail.com

Rian Felipe de Melo Araújo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3075-0884>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: rianfelipemelo@hotmail.com

Evaldo Hipólito de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4180-012X>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: fcasrad@yahoo.com.br

Wenderson Costa da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6031-9775>

Centro Universitário de Ciências e Tecnologia do Maranhão, Brasil

E-mail: wendersoncosta09@hotmail.com

Luis Alberto de Sousa Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3099-4670>

Faculdade Diferencial Facid Devry, Brasil

E-mail: mantha.ag@hotmail.com

Roseane Mara Cardoso Lima Verde

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0772-375X>

Universidade Brasil, Brasil

E-mail: roseanelv1@mail.com

Lorena Rocha Batista Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2487-3490>

Centro Universitário de Ciências e Tecnologia do Maranhão, Brasil

E-mail: augustocevelin@yahoo.com.br

Marcelo de Moura Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9831-5892>

Associação de Ensino do Piauí, Brasil

E-mail: marcelo.mcarvalho@yahoo.com.br

Lennara de Siqueira Coelho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1315-4423>

Associação de Ensino do Piauí, Brasil

E-mail: lorena_irb@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo do trabalho foi verificar o nível de infecção por microrganismos em um campus universitário de ciências da saúde de uma universidade de referência. As coletas foram realizadas no mês de dezembro de 2018 na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Piauí. Utilizou-se 4 swabs que foram, inicialmente, mergulhados em solução salina presente em tubos de Falcon para depois serem passados suavemente na superfície de 4 lugares diferentes que foram: corrimão da rampa, maçaneta do banheiro masculino da biblioteca, maçaneta do centro acadêmico e assento do centro acadêmico. Após passar os swabs em suas respectivas superfícies, eles foram devolvidos aos tubos de Falcon com a solução salina e levados ao laboratório para análise. Com a semeadura e cultivo, observou-se que apenas a maçaneta do centro acadêmico e o corrimão apresentavam níveis significativos de bactérias. Com a observação das colônias no microscópio óptico, descobriu-se que na maçaneta havia colônias de bacilos gram negativo e cocos gram positivo, sendo isso uma indicação da presença de *S.aureus* e *E.coli*. Já no corrimão, havia uma forte presença de bacilos gram positivo, mas também se observou bacilos gram negativo e cocos gram positivo. Seria importante um estudo mais aprofundado com o intuito de descrever melhor as cepas existentes no centro de saúde estudado para poder entender os reais riscos aos quais as pessoas que circulam nesse ambiente estão correndo. Além disso, é extremamente necessário o investimento em técnicas de antissepsia como a disponibilização de álcool em gel e técnicas

de biossegurança como o correto armazenamento dos equipamentos utilizados nos hospitais e que são levados até à faculdade, como por exemplo o jaleco e o estetoscópio.

Palavras-chave: Microrganismos Patogênicos; Universidade; Semeadura e Cultivo.

Abstract

The objective of this study was to verify the level of infection by microorganisms in a health sciences university campus of a reference university. The collections were performed in December 2018 at the Faculty of Medical Sciences of the State University of Piauí. Four swabs were initially immersed in saline in Falcon tubes and then gently passed on the surface of four different places: ramp handrail, library men's bathroom handle, academic center handle and seat from the academic center. After passing the swabs on their respective surfaces, they were returned to the Falcon tubes with saline and taken to the laboratory for analysis. With sowing and cultivation, it was observed that only the doorknob of the academic center and the handrail presented significant levels of bacteria. Observing the colonies under the light microscope, it was found that on the doorknob there were colonies of gram negative bacilli and gram positive cocci, which is an indication of the presence of *S.aureus* and *E.coli*. In the handrail, there was a strong presence of gram positive bacilli, but gram negative bacilli and gram positive cocci were also observed. Further study in order to better describe the strains in the health center studied would be important to understand the real risks that people in this environment are running. In addition, investment in antiseptic techniques such as gel alcohol and biosecurity techniques such as the correct storage of equipment used in hospitals and taken to college, such as a lab coat and a stethoscope, is extremely necessary.

Keywords: Pathogenic Microorganisms; University; Sowing and Cultivation.

Resumen

El objetivo de este estudio fue verificar el nivel de infección por microorganismos en un campus universitario de ciencias de la salud de una universidad de referencia. Las colecciones se realizaron en diciembre de 2018 en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Estatal de Piauí. Inicialmente, se sumergieron cuatro torundas en solución salina en tubos Falcon y luego se pasaron suavemente sobre la superficie de cuatro lugares diferentes: pasamanos de la rampa, manija del baño de la biblioteca para hombres, manija del centro académico y asiento del centro académico Después de pasar los hisopos en sus respectivas superficies, fueron devueltos a los tubos Falcon con solución salina y llevados al laboratorio para su análisis. Con la siembra y el cultivo, se observó que solo el pomo de la puerta del

centro académico y el pasamanos presentaban niveles significativos de bacterias. Al observar las colonias bajo el microscopio óptico, se encontró que en el pomo de la puerta había colonias de bacilos gramnegativos y cocos gram positivos, lo que es una indicación de la presencia de *S. aureus* y *E. coli*. En el pasamanos, hubo una fuerte presencia de bacilos gram positivos, pero también se observaron bacilos gram negativos y cocos gram positivos. Un estudio adicional para describir mejor las cepas en el centro de salud estudiado sería importante para comprender los riesgos reales que corren las personas en este entorno. Además, es extremadamente necesaria la inversión en técnicas antisépticas como el alcohol en gel y las técnicas de bioseguridad, como el almacenamiento correcto del equipo utilizado en los hospitales y llevado a la universidad, como una bata de laboratorio y un estetoscopio.

Palabras clave: Microorganismos patógenos; Universidad; Siembra y Cultivo.

1. Introdução

A biossegurança pode ser definida como o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, visando à saúde do homem, dos animais, à preservação do meio ambiente e à qualidade dos resultados (Teixeira, 1996), enquanto o risco pode ser entendido como “uma realidade objetiva, que pode ser medida, controlada e gerenciada” (Althaus, 2005), de maneira exclusivamente científica (Wynne, 2001).

As bactérias são parte integral e inseparável da vida na terra, uma vez que elas são encontradas em qualquer lugar, revestem a pele, as mucosas e cobrem o trato intestinal dos homens e dos animais. Além disso, elas estão intrinsecamente ligadas às vidas de organismos e aos amplos ambientes em que habitam. Muitas bactérias são inofensivas enquanto outras são benéficas para seu hospedeiro (homem, animal, planta) e proveem nutrientes ou proteção contra patógenos e doenças, limitando a habilidade de colonização de bactérias nocivas. (Santos, 2004).

Em centros de saúde, esses microrganismos podem ser transmitidos de pessoa a pessoa através de diversos meios, seja através das mãos ou de instrumentos profissionais contaminados. Essa transmissão de microrganismos pode acontecer no momento em que o profissional está realizando algum processo direto com o paciente ou pela disseminação desses seres pelo ambiente (Andrade, 2002).

Bactérias multirresistentes, que podem provocar doenças como faringites, otites, pneumonia, tuberculose e até mesmo a morte, são carregadas para lugares públicos e retornam das ruas para consultórios médicos, odontológicos, enfermarias e salas de cirurgia nos jalecos dos mais diversos profissionais de saúde. Frequentemente, a seriedade da questão é negligenciada por arrogância ou desconhecimento de alguns conceitos básicos de microbiologia (Carvalho, Madeira, Tapety, Alves, Martins, & Brito, 2009).

A literatura evidencia que os estudantes de ciências da saúde apresentam taxas de exposição a material biológico potencialmente contaminado comparáveis às de um estafe hospitalar e que a prevenção/controla das doenças imunopreviníveis não tem sido tratada de acordo com o recomendado por alguns dos órgãos competentes. Nisso, o profissional de saúde e o estudante de Medicina podem ser fonte de infecção, cabendo-lhes a responsabilidade de proteger a si próprios e os pacientes de infecções iatrogênicas nosocomiais (Chehuen Neto, Sirimarco, Leite, Gonçalves, Delgado, Camilo, & Abreu, 2010).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae*, juntamente com os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Geralmente, esse gênero faz parte da microbiota da pele humana normal e de outros sítios anatômicos. A espécie de maior interesse médico, principalmente em ambiente nosocomial, é o *S. aureus*, que está frequentemente relacionado com diversas infecções em seres humanos. (Cassettari, Strabelli, & Medeiros, 2005).

As enterobacteriáceas são bacilos gram negativos cujas células apresentam membrana citoplasmática, espaço periplásmico, peptidoglicano ou mureína e membrana externa. A maioria apresenta filamento flagelar que nasce no citoplasma e muitas possuem cápsulas ou estrutura tipo capsular conhecidas como antígenos K. A membrana externa contém o LPS, porinas e diferentes tipos de fímbrias. Diferentes tipos de plasmídios são transportados por muitas amostras. O cromossomo é único e circular. Faz parte desse grupo a *Escherichia coli*, que possui diversas categorias patogênicas, desde cepas diarreio-gênicas a enterohemorrágicas. (Trabulsi, 2005)

Nesse sentido, a resistência antimicrobiana tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo, afetando todos os países, desenvolvidos ou não. Ela é uma inevitável consequência do uso indiscriminado de antibióticos em humanos e animais. Na Europa e na América do Norte, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Streptococcus pneumoniae* não susceptível à penicilina (PNSSP), enterococos resistente à vancomicina

(VRE) e *Enterobacteriaceae* produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) têm emergido e se espalhado nos hospitais e nas comunidades. (Santos, 2004).

A contaminação por microrganismos patogênicos pode estar relacionada com o contato com superfícies inanimadas como, por exemplo, superfícies de vasos sanitários, maçanetas, bebedouros, torneiras, além da má higienização das mãos. Estes comportamentos podem levar à contaminação por bactérias patogênicas e, posteriormente, elas podem contaminar o indivíduo no momento da alimentação por via oral, ou no contato da mão com a boca por outros motivos, bem como no contato com o nariz e os olhos (Murray, Rosenthal, Pfaller, 2010).

Diante do exposto traçou-se o seguinte objetivo geral: verificar o nível de infecção por microrganismos em um campus universitário de ciências da saúde de uma universidade de referência. E especificamente objetivou-se: verificar o nível de infecção do ambiente acadêmico em diferentes espaços; detectar *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas maçanetas das portas; disponibilizar os resultados a população e órgãos públicos relacionados.

2. Metodologia

2.1 Preparo dos meios de cultivo

Para o preparo dos meios de cultivo, realizou-se, inicialmente, a diluição de 7,67 g de ágar Hektoen Entérico em 100 ml de água destilada, 3,75 g de ágar EMB em 100 ml de água destilada e de 11,1 g de ágar manitol salgado em 100 mL de água destilada. Após a diluição, as soluções foram aquecidas no micro-ondas até sua fervura.

Em seguida, produziu-se a solução salina diluindo-se 0,9 g em 100mL de água destilada e encheu-se tubos de Falcon com ela. Realizou-se a vedação dos tubos, do ágar EMB e do ágar manitol salgado e levou-se para a autoclave durante 15 minutos na temperatura de 121 °C. Após o resfriamento, realizou-se o despejo dos meios em placas de Petri na capela do laboratório e, em seguida, a sua identificação.

2.2 Coleta do material bacteriano

As coletas foram realizadas no mês de dezembro de 2018 na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Piauí. Utilizou-se 4 swabs que foram, inicialmente, mergulhados em solução salina presente em tubos de Falcon para depois serem passados

suavemente na superfície de 4 lugares diferentes que foram: corrimão da rampa, maçaneta do banheiro masculino da biblioteca, maçaneta do centro acadêmico e assento do centro acadêmico. Após passar os swabs em suas respectivas superfícies, eles foram devolvidos aos tubos de Falcon com a solução salina e levados ao laboratório para análise.

2.3 Semeadura e cultivo

Para a semeadura utilizou-se o “bico de Bunsen” e duas “alças de platina” que foram flambadas e colocadas dentro dos tubos de Falcon contendo as soluções salinas com as amostras dos swabs para que, desta forma, a alça fosse contaminada. Logo após a contaminação da “alça” foram realizadas as estrias nas placas de “Petri” que possuíam os três diferentes meios produzidos. Em seguida, as placas de “Petri” foram levadas à estufa sob a temperatura de 37°C, onde permaneceram pelo período de 72 horas.

2.4 Preparo do caldo nutritivo

Preparou-se um caldo nutritivo através da diluição de 4g de TSB em 100mL de água destilada seguida de seu aquecimento no micro-ondas e sua transferência para tubos de ensaio. Os tubos foram levados para a autoclave e, após a retirada, adicionou-se os swabs que foram utilizados na coleta de material com o objetivo de facilitar o crescimento dos microrganismos que não cresceram na solução salina.

2.5 Testes bioquímicos

Para os testes de E.coli, diluiu-se 10,4g de Triple Sugar Iron Agar (TSI) em 160mL de água destilada, 3,6g de SIM em 120mL de água e 2,91 g de Citrato Simmons em 120mL de água. Em seguida, aqueceu-se cada uma das soluções e transferiu-se para tubos de ensaio identificados.

Para o teste da catalase, utilizou-se 4 lâminas nas quais depositou-se uma gota de água seguida de uma amostra das colônias selecionadas nas placas de petri e, por último, adicionou-se o peróxido de hidrogênio. Já no teste de coagulase, pegou-se amostra das colônias nas placas e deixou-se crescer no TSB. Daí misturou-se 300µL dessa solução com 300µL de plasma de coelho e observou-se o resultado.

2.6 Observação das placas e seleção de colônias

Observou-se o crescimento bacteriano em cada placa de petri e selecionou-se as colônias com aspecto interessante para a pesquisa. Feita a seleção, usou-se a alça de platina para raspagem do material em cada placa e sua deposição em tubos contendo o TSA. Utilizaram-se oito tubos contendo amostras de bactérias de maçaneta do centro acadêmico no meio manitol salgado e de bactérias do corrimão nos meios manitol salgado, EMB e Hektoen Entérico.

2.7 Coloração de Gram e visualização de colônias

Utilizaram-se oito lâminas nas quais, em cada uma, depositou-se uma gota de água destilada com a alça de platina e, em seguida, depositou-se uma quantidade da amostra presente no tubo e esfregou-se na lâmina com movimentos circulares, formando uma fina camada. Para secar, aproximaram-se as lâminas rapidamente ao bico de Bunsen.

Em seguida, iniciou-se a coloração de gram com o cristal violeta, lugol, álcool acetona e fucsina, ocorrendo lavagens com água destilada entre os despejos das soluções. Aguardou-se o tempo para a secagem das lâminas e levou-se ao microscópio óptico no aumento de 100x para a observação das colônias bacterianas.

3. Resultados e Discussão

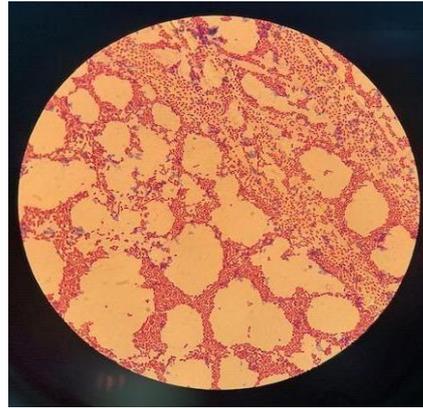
Com a semeadura e cultivo, observou-se que apenas a maçaneta do centro acadêmico e o corrimão apresentavam níveis significativos de bactérias. A ausência nos outros locais pode ser reflexo do fluxo reduzido de pessoas na faculdade durante as férias ou da coleta ter ocorrido em um horário após a limpeza diária.

Com a observação das colônias no microscópio óptico, descobriu-se que na maçaneta havia colônias de bacilos gram negativo e cocos gram positivo, sendo isso uma indicação da presença de *S.aureus* e *E.coli*. Já no corrimão, havia uma forte presença de bacilos gram positivo, mas também se observou bacilos gram negativo e cocos gram positivo.

Na maçaneta: Meio Manitol salgado

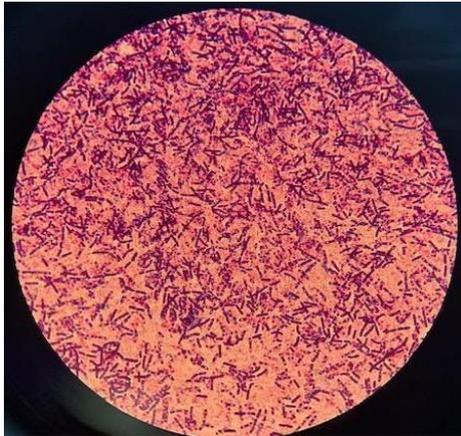


Cocos gram positivo



Bacilos gram negativo

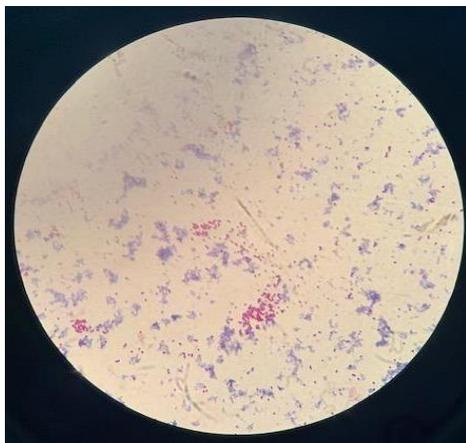
No corrimão: Meio Manitol salgado



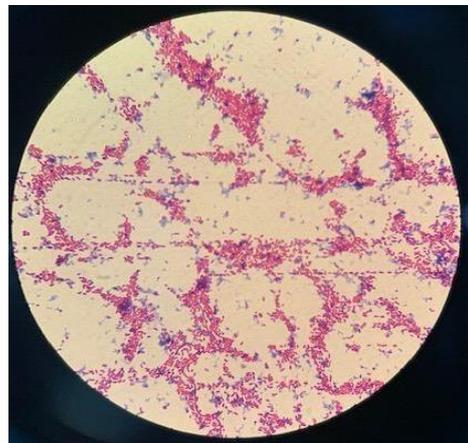
Bacilos gram positivo



Meio: EMB

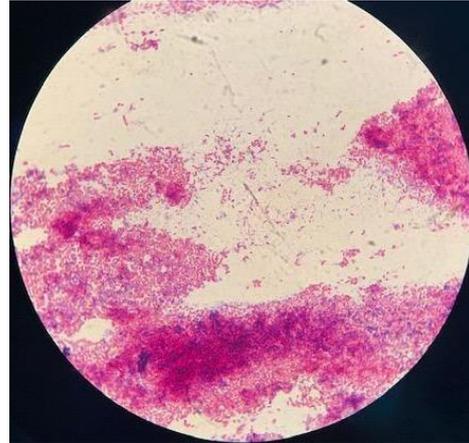
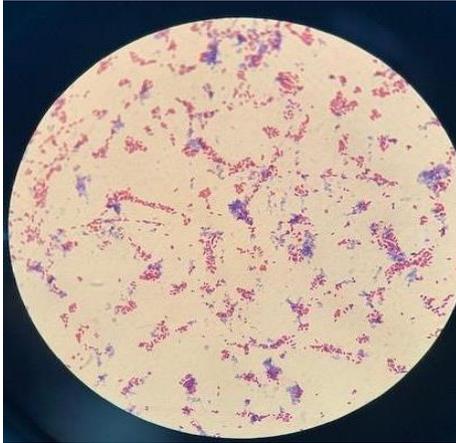


Cocos gram positivo



Bacilos gram negativo

Meio: Hektoen Entérico



Bacilos gram negativo

No exame da catalase, todas as amostras apresentaram resultado positivo, observado pela presença de bolhas nas lâminas, e isso nos indica que as bactérias poderiam ser estafilococos. Ao mesmo tempo, no exame da coagulase, o resultado foi negativo, o que excluiu a possibilidade de presença de *S.aureus*, visto que a coagulase é uma adesina produzida por tal bactéria.

Realizou-se também os testes para os bacilos gram negativo que tinham o objetivo de avaliar a presença de *E.coli*. Entre eles, o teste SIM informou sobre motilidade, indol e sulfeto de hidrogênio.

A motilidade em todas as amostras foi negativa, uma vez que ocorreu crescimento apenas no local da inoculação. O H₂S também foi negativo, visto que não havia um precipitado negro. Já para a leitura do indol, adicionou-se 2 gotas do reagente de Kovacs e notou-se que a cor não se alterou, concluindo-se que o indol era negativo.

Dessa forma, baseando-se no resultado da motilidade e do H₂S, conclui-se que não há a presença de *E.coli* nas amostras. Além disso, o citrato apresentou-se positivo com a alteração de cor do verde para o azul, excluindo novamente a possibilidade da bactéria que pesquisamos. Por último, o teste do TSI demonstrou-se inconclusivo.

4. Conclusão

As amostras foram coletadas do corrimão da rampa de acesso às salas, da maçaneta do banheiro masculino da biblioteca, da maçaneta do centro acadêmico e do assento do centro acadêmico, visto que são considerados os lugares com maior contato dos estudantes de medicina da faculdade. Entretanto, segundo os resultados, apenas o corrimão e a maçaneta do

centro acadêmico apresentaram níveis consideráveis de bactérias, sendo isso um possível reflexo da limpeza correta e frequente aplicação de bactericidas nos lugares mais propensos à contaminação como o banheiro e do fluxo reduzido de pessoas no período da coleta.

Com os testes bioquímicos realizados, chegou-se à conclusão de que naquelas amostras não havia a presença de *S. aureus* e de *E. coli*, entretanto, constatou-se a presença de estafilococos coagulase negativa (ECN) e de bacilos gram positivos e gram negativos.

Como se sabe, os estafilococos coagulase-negativa (ECN) são considerados patógenos potencialmente causadores de infecções no homem, principalmente aquelas relacionadas ao uso de dispositivos médicos. Por isso, os tratamentos destas infecções têm se tornado cada vez mais um desafio para a saúde pública, uma vez que os ECN têm apresentado resistência a múltiplas drogas antimicrobianas. Os desinfetantes de superfícies, como os compostos quaternários de amônio, amplamente usados em ambiente hospitalar, muitas vezes também se tornam ineficientes contra estes patógenos hospitalares o que pode ser evidenciado pelo surgimento de cepas resistentes ou mesmo apresentando susceptibilidade reduzida a estes compostos (Teixeira, 2009).

Nesse sentido, seria importante um estudo mais aprofundado com o intuito de descrever melhor as cepas existentes no centro de saúde estudado para poder entender os reais riscos aos quais as pessoas que circulam nesse ambiente estão correndo. Além disso, é extremamente necessário o investimento em técnicas de antisepsia como a disponibilização de álcool em gel e técnicas de biossegurança como o correto armazenamento dos equipamentos utilizados nos hospitais e que são levados até à faculdade, como por exemplo o jaleco e o estetoscópio.

Referências

Althaus, C. E. (2005). A disciplinary perspective on the epistemological status of risk. *Risk Analysis*, 25(3), 567-588.

Andrade, G. M. (2002) Infecção hospitalar: mitos e verdades, velhos hábitos, novas atitudes. *Brasília méd*, 39(1), 58.

Carvalho, C. M. R. S., Madeira, M. Z. A., Tapety, F. I., Alves, E. L. M., Martins, M. C. C., & Brito, J. N. P. O. (2009). Aspectos de biossegurança relacionados ao uso do jaleco pelos

profissionais de saúde: uma revisão da literatura. *Texto & Contexto – Enfermagem*, 18(2), 355-360.

Cassettari, V. C., Strabelli, T., & Medeiros, E. A. S. (2005). Staphylococcus aureus bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 9(1), 70-6.

Murray, P.G., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A. (2010). Microbiologia médica: classificação, estrutura e replicação bacteriana. Mosby: Elsevier.

Chehuen Neto, J. A., Sirimarco, M. T., Leite, I. C. G., Gonçalves, M. P. C., Delgado, Á. A. A., Camilo, G. B., & Abreu, N. A. (2010). Situação vacinal dos discentes da Faculdade de Medicina da UFJF-MG. *Revista Brasileira de Educação Médica*, 34(2), 270-277.

Santos, N. Q. (2004). A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. *Texto contexto - enferm.*, 13(spe), 64-70.

Teixeira, P., & Valle, S. (1996). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz.

Teixeira, C. F. (2009). *Estafilococos coagulase-negativa: um risco real para a saúde pública* (Tese de Doutorado). Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Trabulsi, L. R. (2005). *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu.

Wynne, B. (2001). Creating public alienation: expert cultures of risk and ethics on GMOs. *Science as Culture*, 10(4), 445-481.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Francisco das Chagas Araújo Sousa – 10%

Ana Clara Barradas Mineiro – 10%

Rian Felipe de Melo Araújo – 10%

Evaldo Hipólito de Oliveira – 10%

Wenderson Costa da Silva – 10%

Luis Alberto de Sousa Rodrigues – 10%

Roseane Mara Cardoso Lima Verde – 10%

Lorena Rocha Batista Carvalho – 10%

Marcelo de Moura Carvalho – 10%

Lenara de Siqueira Coelho – 10%