

# AVALIAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM UM AMBIENTE LABORATORIAL DE FORMAÇÃO ACADÊMICA

## Evaluation of microbiological contamination in a laboratory environment for academic training

Kelly Aparecida de Arruda Benjamim<sup>1</sup>; Gislaine Aparecida Querino<sup>2</sup>

1. Discente do curso de Farmácia das Faculdades Integradas de Bauru

2. Docente dos Cursos de Biomedicina e Farmácia das Faculdades Integradas de Bauru. Doutorado em Doenças Tropicais –UNESP Botucatu (2018)

### RESUMO

As instituições de formação acadêmica fornecem aos futuros profissionais de saúde um modelo laboratorial representativo ao encontrado no mercado de trabalho, o que pode causar exposição a agentes potencialmente infecciosos. O presente estudo visou avaliar a contaminação de bancada, equipamentos e materiais de uso rotineiro em ambiente laboratorial de formação acadêmica. Foram coletadas amostras de quatro pontos distintos durante a manipulação e após a limpeza com álcool 70% e hipoclorito a 10% utilizando *swab* embebido em soro fisiológico, inoculadas em Caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubadas a 37°C em estufa por 24-48

horas. Posteriormente foram semeadas de forma quantitativa em Ágar Cled e qualitativa em Ágar MacConkey e colocadas na estufa por 24-48 horas a 37°C. A identificação das bactérias foi realizada conforme os protocolos utilizados no laboratório de estágio. Em todas as frentes de estágio avaliadas houve o crescimento de microrganismos, com o predomínio de Gram-positivos, entre eles *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase* negativa, *Enterococcus* e *Bacillus spp* e uma espécie Gram-negativa a *E. coli* lactose negativa. Após a assepsia com álcool 70% a carga microbiana foi reduzida, porém ainda presente em três das quatro frentes de estágio analisadas, e após a assepsia com Hipoclorito de sódio a 10% não foram

encontrados microrganismos viáveis. Observamos que alguns microrganismos encontrados fazem parte da microbiota normal e do ambiente, e são relacionados também a infecções oportunistas o que demonstra a necessidade de seguir os protocolos de segurança, uso de equipamentos de proteção individual e utilização do Hipoclorito de sódio na limpeza.

**Palavras-Chave:** biossegurança; contaminação; laboratório

## ABSTRACT

The institutions of academic degree provide to the future health providers a representative laboratorial model found in the labor market which may cause exposition for potential infectious agents. The present study aimed evaluate the workbench contamination, tools and materials of routine use in laboratory environment of academic degree. Samples were collected from four different points during handling and after cleaning with 70% alcohol and 10% hypochlorite using a swab soaked in saline solution, inoculated in BHI Broth (Brain Heart Infusion) and incubated at 37°C in an oven for 24-48 hours. Subsequently were sown quantitatively on Cled Agar and qualitatively on MacConkey Agar and placed in the greenhouse for 24-48 hours at 37°C. The identification of bacteria was carried out according to the protocols used in the internship laboratory. In all stage fronts evaluated, there was a growth of microorganisms, with a predominance of Gram-positives, including

*Staphylococcus aureus*, coagulase-negative *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Bacillus* spp and a Gram-negative species, lactose-negative *E. coli*. After asepsis with 70% alcohol, the microbial load was reduced, but was still present on three of the four fronts of analyzed stage, and after an asepsis with 10% sodium hypochlorite, no viable microorganisms were found. We observed that some microorganisms found are part of the normal microbiota and the environment, and are also related to opportunistic infections or that demonstrate the need to follow safety protocols, use of personal protective equipment and use of sodium hypochlorite in cleaning.

**Keywords:** biosafety; contamination; laboratory.

## INTRODUÇÃO

Microrganismos são minúsculos seres que não podem ser visualizados a olho nu e estão abundantemente distribuídos pelos mais diversos meios como água, ar, solo e no interior de outros organismos; eles se dividem em milhares de espécies de bactérias, algas, fungos, vírus e protozoários. Algumas espécies de microrganismos são de suma importância para a manutenção do equilíbrio ambiental através dos processos de digestão e decomposição, na geração de alimentos e síntese de produtos, controle de pragas, produção de medicamentos etc.; já outras são consideradas agentes infecciosos importantes e perigosos (BLACK, 2002).

Poucas são as espécies de microrganismos consideradas

patogênicas, sendo as mais frequentes delas associadas às bactérias, que inclusive fazem parte da microbiota normal e transitória em sítios corporais como a pele, orofaringe, o cólon e a vagina. Elas podem ser benéficas quando em quantidade normal e local comumente encontrado, sendo prejudiciais quando fora desses aspectos principalmente naqueles habitualmente estéreis. Algumas bactérias conseguem transpassar as barreiras físicas como a pele e as membranas mucosas, invadir tecidos, resistir às defesas do organismo ou até mesmo produzir toxinas prejudiciais à saúde, tendo origem da microbiota ou transmitida por fonte externa como solo, água, animais ou por outro ser humano (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Devido à diversidade e importância que os microrganismos possuem despertou-se o interesse no aprofundamento de seus estudos nos mais variados aspectos em laboratório como morfologia, estrutura, fisiologia, etc. (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015); para tanto devem ser seguidas todas as regras de segurança e boas práticas laboratoriais; cumprindo as precauções rotineiras e universais que visam evitar contaminações principalmente os biológicos; o que exige um controle de qualidade e monitoramento dos insumos, equipamentos e do ambiente laboratorial como um todo. Os laboratórios de microbiologia ainda possuem papel importante no diagnóstico de doenças infecciosas principalmente nas fases pré-analíticas que envolvem a coleta e

recebimento de amostras bem como sua avaliação preliminar, o processamento e exame microscópico, inoculação em meios de cultura e procedimentos de identificação dos microrganismos (KONEMAN, 2008).

As instituições de formação acadêmica são o principal e muitas vezes o único ambiente no qual os futuros profissionais da área da saúde terão contato com um modelo igualmente representativo ao encontrado no mercado de trabalho, para tanto já são orientados e cobrados quanto ao cumprimento de normas, regras e legislações vigentes que se apliquem (PIAÚÍ, 2021).

Conforme a RDC 50/02 o espaço físico deve seguir as normas e regulamentos vigentes com área mínima de 20 m<sup>2</sup>, bem como cumprir as exigências em relação à biossegurança e os requisitos de limpeza e sanitização com o intuito de prevenir, minimizar ou eliminar riscos existentes durante as atividades preservando o bem-estar humano, o meio ambiente e a qualidade dos resultados (BRASIL, 2002).

As portas assim como as paredes, teto e pisos não devem ser porosos e necessitam de revestimento lavável; as bancadas devem ser abertas e com pias próximas. Devem ser utilizados os equipamentos de proteção individual (EPI) obrigatórios, jaleco de manga longa, luvas, touca, máscara do tipo cirúrgica e/ou N95, e quando necessário protetor de face e óculos de proteção, bem como equipamentos de proteção coletiva (EPC) com instruções acessíveis,

entre eles extintores de incêndio, lava olhos e chuveiro de emergência (PIAUI, 2021).

O diagnóstico na área laboratorial inclui diversos testes bacteriológicos, sorológicos e moleculares que envolvem diversos equipamentos e instrumentos que devem ser manipulados com cuidado para evitar contaminação. Pressupondo-se que todas as amostras analisadas são potencialmente infecciosas é importante estabelecer protocolos de limpeza e desinfecção ou esterilização para tornar o ambiente seguro. A morte dos microrganismos pode ocorrer através de agentes químicos por ação nas membranas celulares por ruptura dos lipídeos, modificação de proteínas ou modificação do DNA e através de agentes físicos por calor, radiação ou filtração (LEVINSON, 2010).

Diante disso, despertou-se o interesse para fazer-se saber: quais os microrganismos estão comumente presentes em um ambiente laboratorial que segue todas as normas e diretrizes? Quais as contaminações podem ocorrer mesmo em ambiente controlado? Qual a variação nas espécies encontradas antes e durante o uso de um laboratório de análises clínicas? Qual o protocolo de limpeza e desinfecção é o mais eficiente dentre os comumente utilizados?

Neste contexto, o presente estudo visou avaliar a contaminação de bancada, equipamentos e materiais de uso rotineiro nos laboratórios de análises clínicas das Faculdades Integradas de Bauru - FIB no qual são ministrados os estágios supervisionados da área da

saúde das diversas disciplinas como Microbiologia, Imunologia, Urinálise e Biologia Molecular antes e durante seu uso.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para atingir os objetivos propostos realizou-se um estudo experimental que conforme Gil (2002) é o melhor exemplo de pesquisa, onde se determina o objeto que se pretende estudar e como as diferentes variáveis podem influenciá-lo, para que através disso, sejam definidas as formas de controle. Segundo ele, experimentos com entidades físicas como os microrganismos não apresentam grandes limitações. Porém devido as variáveis é preciso selecionar os instrumentos apropriados, sendo nesse modelo o pesquisador um agente ativo.

Para referencial teórico foram utilizadas como bases de dados, a biblioteca das Faculdades Integradas de Bauru-FIB e acervo da biblioteca virtual Pearson, Google Acadêmico, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e os Repositórios das Faculdades USP, UNESP E UNICAMP. Foram considerados como fonte de pesquisas, livros, revistas, artigos científicos publicados e trabalhos acadêmicos que demonstraram relevância para o tema. Nas bases de dados digitais, foram utilizados os seguintes descritores para pesquisa: Microrganismos; laboratório; contaminação; biossegurança; bactérias; antissepsia.

Com objetivo de ampliar os resultados, adotou-se como estratégia

de busca a combinação de dois ou mais descritores utilizando as palavras AND e OR. Como critério de exclusão, foi estabelecido a não utilização de artigos e trabalhos acadêmicos publicados a mais de dez anos.

Inicialmente, um estudo piloto foi realizado através da coleta de amostras durante o estágio supervisionado de Bioquímica no Laboratório de Análises Clínicas das Faculdades Integradas de Bauru – FIB no primeiro semestre de 2023 que serviu para padronização da técnica e construção do método utilizado no presente trabalho.

Após adequações e aperfeiçoamento do método as amostras foram coletadas durante os estágios dos alunos do curso de Biomedicina realizados nos laboratórios das Faculdades Integradas de Bauru – FIB no segundo semestre de 2023, nas frentes de Biologia Molecular, Urinálise e fluidos corporais, Imunologia Clínica e Microbiologia no período de agosto a outubro de 2023.

As técnicas utilizadas estão descritas em Oplustil et al. (2010) e nos Manuais da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2013a; BRASIL, 2013b). A coleta com *swab* embebido em soro fisiológico estéril 0,9% foi utilizada para obtenção das amostras em quatro diferentes pontos: bancada, papelreira de manuseio com luva, papelreira de manuseio sem luva e pipeta automática. Uma coleta inicial foi realizada durante o intervalo e duas coletas ao final, perfazendo um total de 12 amostras por aula.

A primeira coleta buscou avaliar quais contaminantes microbiológicos os

alunos estão expostos durante o estágio, à segunda coleta após assepsia com álcool 70% que é o principal desinfetante utilizado por seu poder bactericida, baixo custo, fácil aplicabilidade e ação imediata, e a terceira coleta após a assepsia com Hipoclorito de Sódio a 10% que possui amplo espectro bactericida e esporicida, baixo custo, fácil aplicabilidade e ação rápida; sendo as coletas pós-assepsia utilizadas para avaliar e comparar sua ação sobre a carga microbiana inicial.

Todas as amostras foram inoculadas em tubos de Caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), um meio líquido enriquecido e não seletivo que contém nutrientes de cérebro e coração, de cor original amarelo claro límpido que após incubação a 37°C por 24-48 horas apresentou turvação, indicando a presença de microrganismo. A pesagem e hidratação para seu preparo foram realizadas conforme as instruções do fabricante, distribuído em tubos com tampa de rosca e esterilizados em autoclave por 15 minutos em temperatura de 121°C.

As amostras positivas em Caldo BHI foram semeadas de forma quantitativa em Ágar Cled e de forma qualitativa por esgotamento em Ágar MacConkey, incubados em estufa a 37°C por 24-48 horas para observação de crescimento. Inicialmente no piloto o meio Manitol também foi utilizado nessa primeira semeadura, porém o crescimento apresentado nesse meio acabou dificultando as primeiras análises, optando-se assim por utilizá-lo apenas como método confirmatório.

O Ágar Cled trata-se de um meio enriquecido e diferencial que inibe o véu de cepas de *Proteus* spp. Seu preparo foi realizado em balão de fundo chato, pesado e hidratado conforme as instruções do fabricante, autoclavado por 15 minutos a 121°C, distribuído em placas de Petri estéreis de 90 mm e resfriado em temperatura ambiente, apresentando inicialmente cor esverdeada.

O Ágar MacConkey é um meio seletivo e diferencial que inibe o crescimento de Gram-positivos e verifica a fermentação ou não da lactose. Seu preparo foi realizado em balão de fundo chato, pesado e hidratado conforme instruções do fabricante, aquecido sob agitação para fusão completa do meio, esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C e distribuído em placas de Petri estéreis, apresentando-se inicialmente na cor vermelha.

As colônias que cresceram em quantidade significativa em Ágar Cled foram coradas pelo método de Gram para a classificação em cocos e bacilos Gram-positivos e Gram-negativos. O procedimento foi realizado em ambiente limpo e estéril, onde as lâminas foram previamente limpas com álcool utilizando gaze estéril; diluiu-se a amostra em uma gota de solução salina, após secagem foi realizada a fixação da mesma utilizando calor do Bico de Bunsen. Na técnica de coloração de Gram a lâmina foi coberta com corante Cristal Violeta por um minuto; desprezou-se o excesso e adicionou-se Lugol por um minuto; em seguida realizou-se a descoloração

com Álcool-cetona por 15 segundos; utilizando água destilada a lâmina foi lavada e coberta com o corante Fucsina por 30 segundos; por fim, a lâmina foi novamente lavada com água destilada. Após secas as lâminas foram observadas em microscópio óptico em objetiva de imersão 100x.

Para as bactérias que foram classificadas como cocos Gram-positivos foi realizada a prova de catalase em lâmina utilizando-se uma gota de peróxido de hidrogênio a 3% sobre uma lâmina de microscopia. Quando catalase positivas, ou seja, houve produção de bolhas devido à conversão do peróxido de hidrogênio em oxigênio pela enzima catalase, foi realizada a semeadura em Ágar Manitol por ser um meio seletivo e diferencial para o isolamento de estafilococos que possui cor inicial vermelha e deve ser preparado em balão de fundo chato conforme as orientações do fabricante, autoclavado por 15 minutos a 121°C e distribuído em placa de Petri estéril, quando positiva para *Staphylococcus aureus* a cor do meio e das colônias se apresenta de cor amarela. Posteriormente realizou-se a prova da coagulase utilizando um tubo contendo coagulase de plasma de coelho com EDTA liofilizado, que reage com a protrombina formando coágulo quando positivo. Quando catalase negativas realizou-se semeadura em Ágar sangue para observação do padrão de hemólise, beta (total), alfa (parcial) ou gama (ausente).

As colônias que cresceram em Ágar MacConkey passaram por

série bioquímica para diferenciação e identificação de bactérias Gram-negativas com base na fermentação da glicose, fermentação da lactose, motilidade, utilização de citrato, descarboxilação da lisina, produção de Sulfeto de Hidrogênio (H<sub>2</sub>S), produção de gás (CO<sub>2</sub>), oxidase e produção de Indol utilizando: Meio Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Ágar Citrato de Simmons, Meio Sim e Ágar Lisina Ferro.

O Meio Tríplice Açúcar Ferro (TSI) foi preparado conforme as instruções do fabricante, fundido, distribuído em tubos com tampas de rosca, esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C e solidificado inclinado em bico de flauta (ângulo de 45°). Inicialmente apresentou cor vermelho-cereja que se alterou para amarelo quando houve fermentação na base de glicose e no ápice de lactose e/ou sacarose; presença de bolhas ou fragmentação na presença de gás (CO<sub>2</sub>) e precipitado negro quando ocorreu produção de Sulfeto de Hidrogênio.

O ágar Citrato de Simmons é um meio de cor inicial verde, utilizado para verificar a capacidade da bactéria de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono juntamente com sais de amônia, que torna o meio alcalino e altera sua cor para azul. Foi pesado e hidratado conforme instruções do fabricante e realizado ajuste do pH, aquecido sob agitação para fusão do meio, distribuído em tubos com tampa de rosca, esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C e solidificado inclinado em forma de bico de flauta.

Meio SIM avaliou a motilidade por turvação; apresentou cor enegrecida quando houve produção de Sulfeto de

Hidrogênio, além da leitura de Indol por adição de reagente Kovacs que apresentou cor púrpura quando positivo. Foi pesado e hidratado conforme as instruções do fabricante, aquecido sob agitação até fusão do meio, distribuído em tubos com tampa de rosca, esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C e solidificado em posição vertical.

O ágar Lisina Ferro foi utilizado para diferenciação de microrganismos com base na descarboxilação e desaminação da lisina através da alteração do meio para a cor roxa e produção de H<sub>2</sub>S. Foi preparado conforme as informações do fabricante, aquecido e frequentemente agitado até completa dissolução, distribuído em tubos com tampa de rosca, esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C e solidificado em posição levemente inclinada com base larga.

Os dados foram apresentados em tabelas contendo os dados obtidos em cada etapa realizada para todas as amostras coletadas nos três diferentes momentos até a identificação dos microrganismos encontrados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microrganismos são agentes infecciosos tradicionais como bactérias, fungos, parasitas e vírus. Os testes laboratoriais são essenciais para a determinação do agente infeccioso, sendo as bactérias as que contêm maior número quando se trata de espécies patogênicas para os seres humanos (KONEMAN, 2008).

Algumas bactérias podem crescer em variados meios de cultura o que

possibilita muitas vezes a identificação de forma primária, além da análise das colônias deve-se conhecer a forma que as separa em cocos e bacilos e a classificação em Gram-positivas e Gram-negativas para identificação até o nível de espécie (OPLUSTIL *et al*, 2010).

Neste estudo foram encontradas predominantemente bactérias Gram-positivas do tipo cocos e alguns bacilos que normalmente são encontradas na

microbiota natural dos seres humanos e amplamente espalhados no meio ambiente, isso ocorre devido à espessa camada de peptidoglicano em sua parede celular o que garante sua manutenção e proteção. (Tabelas 1, 2, 3 e 4)

Dentre as bactérias Gram-positivas foram encontradas as espécies de interesse clínico estafilococos, enterococos e estreptococos que normalmente fazem parte da microbiota

**Tabela 1:** Resultados da coleta de material da bancada após a utilização pelos estudantes, após a higienização com álcool e após a higienização com Hipoclorito de sódio a 10%

FRENTE DE ESTÁGIO	SEM LIMPEZA	PÓS ALCOOL	PÓS HIPOCLORITO
Biologia Molecular	<i>Enterococcus</i> spp <i>Streptococcus</i> spp	<i>Enterococcus</i> spp -	-
Urinálise e fluidos corporais	<i>Bacillus</i> spp	<i>Bacillus</i> spp	-
Imunologia clínica	<i>Escherichia. coli</i> lactose negativa <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Microbiologia	<i>Bacillus</i> spp	-	-

Fonte: elaborada pelos autores, 2023

**Tabela 2:** Resultados da coleta de material da pipeta após a utilização pelos estudantes, após a higienização com álcool e após a higienização com Hipoclorito de sódio a 10%

FRENTE DE ESTÁGIO	SEM LIMPEZA	PÓS ALCOOL	PÓS HIPOCLORITO
Biologia Molecular	<i>Bacillus</i> spp <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	- <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	- -
Urinálise e fluidos corporais	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus</i> spp	- <i>Bacillus</i> spp	- -
Imunologia clínica	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacillus</i> spp -	- - - <i>Enterococcus</i> spp	- - - -
	<i>Staphylococcus</i>		

Fonte: elaborada pelos autores, 2023



**Tabela 3:** Resultados da coleta de material da papelreira manuseada com luva após a utilização pelos estudantes, após a higienização com álcool e após a higienização com Hipoclorito de sódio a 10%

FRENTE DE ESTÁGIO	SEM LIMPEZA	PÓS ALCOOL	PÓS HIPOCLORITO
Biologia Molecular	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	-	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
	<i>Bacillus spp</i>		
Urinálise e fluidos corporais	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Imunologia clínica	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>		
Microbiologia	<i>Bacillus spp</i>		
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>		

Fonte: elaborada pelos autores, 2023

**Tabela 4:** Resultados da coleta de material da papelreira manuseada sem luva após a utilização pelos estudantes, após a higienização com álcool e após a higienização com Hipoclorito de sódio a 10%

FRENTE DE ESTÁGIO	SEM LIMPEZA	PÓS ALCOOL	PÓS HIPOCLORITO
Biologia Molecular	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	-	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
	<i>Bacillus spp</i>		
Urinálise e fluidos corporais	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Imunologia clínica	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>		
Microbiologia	<i>Bacillus spp</i>		
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>		

Fonte: elaborada pelos autores, 2023

normal. Após a assepsia com álcool 70% a carga microbiana foi reduzida, porém ainda presente durante os estágios em três das quatro frentes em uma média de 30% das amostras, após a assepsia com Hipoclorito a 10% não foram encontrados microrganismos viáveis.

Rodrigues *et al* (2016) avaliaram a contaminação laboratorial de bancada antes e após as aulas, sendo que na coleta anterior às aulas foi realizada a limpeza com álcool 70% para controle mostrando que toda a contaminação presente na coleta posterior às aulas ocorreu durante as mesmas e observaram que 65% das amostras foram positivas para o crescimento de bactérias em sua maioria cocos Gram positivos e bacilos Gram positivos, assim como no presente trabalho.

O gênero *Bacillus* compreende um grande grupo de bastonetes comuns do ambiente; algumas espécies podem formar esporos em condições aeróbicas, e são responsáveis por infecções oportunistas em imunocomprometidos principalmente gastroenterites (KONEMAN, 2008).

Na análise de pipeta durante o estágio de Imunologia após a limpeza com álcool houve crescimento de bactérias do gênero *Enterococcus* que não foi encontrada antes da limpeza, isso pode ser explicado por alguma contaminação causada entre a coleta sem limpeza e a coleta após limpeza por terem sido realizadas com horas de diferença.

Os enterococos são comuns do trato gastrointestinal, cavidade oral,

vagina e uretra masculina, são a segunda maior causa de infecções no ambiente hospitalar, estão envolvidas em superinfecções graves devido sua resistência a maioria dos antibióticos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Ao manipular materiais clínicos proveniente do intestino como as fezes sem cuidados de biossegurança podemos contaminar o ambiente com bactérias desse gênero.

O gênero *Staphylococcus* foi à espécie de maior prevalência dentre as bactérias que ainda apresentaram crescimento mesmo após a limpeza com álcool, mesmo resultado obtido no estudo realizado por Figueiredo, Freitas e Melo (2021) para identificação microbiológica em superfícies laboratoriais, quem em sua análise observaram a presença de microrganismo em superfícies de bancadas após rotina de limpeza do laboratório com álcool 70%. Neste estudo, foram identificados em duas superfícies a presença de *Staphylococcus aureus*, além de *Pantoea agglomerans*, uma espécie de bacilo Gram-negativo encontrado em plantas, solo, água e a alimentos e a presença do bacilo *Enterobacter aerogenes* causador de infecções oportunistas.

O *Staphylococcus aureus* é o patógeno humano mais importante dos estafilococos, fazem parte da microbiota normal e são encontrados no ambiente externo das narinas anteriores, períneo, axilas e vagina, são oportunistas e podem desencadear doenças infecciosas em quadros de baixa imunidade, produzem toxinas que são capazes de aumentar sua virulência, sua capacidade de se tornar

resistente aos antibióticos de forma rápida é um problema no ambiente hospitalar. Os *Staphylococcus coagulase* negativas são comuns da flora da pele e algumas espécies são encontrados no meio ambiente, e podem causar infecções em seres humanos (KONEMAN, 2008).

Apenas na análise de bancada identificou-se bactéria do gênero *Streptococcus*, bactérias esféricas que tipicamente ocorrem em cadeias, algumas pertencem a um reservatório natural do ser humano, são na maioria anaeróbios facultativos e possuem características que contribuem para sua virulência, podem causar uma variedade de doenças como meningite, pneumonia, faringite, otite, infecções cutâneas superficiais e etc., devido a suas toxinas hemolisinas podem ser classificadas em alfa-hemolítica, beta-hemolíticas ou gama-hemolíticas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Apenas uma bactéria do tipo Gram-negativa foi encontrada, sendo um bom indício se considerarmos que elas estão associadas a infecções mais severas que as bactérias Gram-positivas. A *Escherichia coli* (*E. coli*) é um bacilo Gram-negativo que tipicamente fermenta lactose, é comumente isolada em laboratórios clínicos, é comum do trato gastrointestinal, sendo assim um indicador de contaminação fecal quando encontrada, não costumam ser patogênicas, mas ao sofrerem alterações genéticas criam linhagens causadoras de infecções do trato urinário e pneumonia em imunocomprometidos; algumas cepas são toxigênicas produzem quadros

diarreicos e doenças de origem alimentar (KONEMAN, 2008).

De acordo com Sangioni *et al.* (2013) o fator humano é o principal causador de acidentes em laboratórios, por isso a importância da educação em biossegurança no cotidiano das instituições de ensino devido ao fato que durante a execução das atividades acaba-se por menosprezar os riscos, informar acerca dos princípios de biossegurança e capacitar os usuários do ambiente laboratorial da maneira correta para mantenha o ambiente seguro minimiza os riscos. Também é comum observar que durante a realização das atividades de estágio os alunos apresentam falta de cuidado ao manusear os materiais e pressa na realização dos procedimentos, o que pode resultar em acidentes com risco de contaminação (RODRIGUES *et al.*, 2016)

As instalações laboratoriais são planejadas e adequadas de modo a minimizar ou eliminar riscos de contaminação e perigos ao qual se pode expor durante a prática laboratorial, sendo a limpeza geral a atividade mais importante para a segurança e manutenção da área física e dos equipamentos (OPLUSTIL *et al.*, 2010).

Para o controle microbiano existem vários métodos físicos ou químicos que vão agir na alteração da permeabilidade da membrana ou causando danos às proteínas e aos ácidos nucléicos que as compõem. Um dos compostos mais utilizados na rotina laboratorial é o álcool na concentração 70% que causa a desnaturação de proteínas e

pode romper membranas e dissolver lipídeos o que o torna eficiente para a remoção de bactérias e fungos, mas não endósporos e vírus envelopados enquanto os halogênios como o cloro e sua combinação com outras substâncias os torna desinfetantes eficazes como o hipoclorito de cálcio e sódio (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

O encontro de microrganismos mesmo após a desinfecção com álcool 70% mostra que este não deve ser o único método utilizado na desinfecção no laboratório. Importante ressaltar também que a coleta de material pós limpeza de bancada foi realizada quando as atividades de estágio estavam finalizadas e os alunos já haviam efetuado uma limpeza com álcool 70%. Assim, a utilização do Hipoclorito de Sódio a 10% apresentou capacidade de remoção de todos os microrganismos previamente encontrados e deve ser incorporado nos protocolos de desinfecção e limpeza de bancadas, utensílios e limpeza no laboratório.

Das quatro frentes de estágio analisadas a de Microbiologia foi a que apresentou menor contaminação durante a rotina e a única que não apresentou contaminação após a limpeza com o álcool 70%, tais resultados podem ser explicados pelo fato do conhecimento prévio do potencial patogênico das amostras, isso fez com que houvesse um maior cuidado durante a rotina laboratorial, além de induzir a uma limpeza constante dos utensílios e o cumprimento de normas de segurança na manipulação desse

tipo de material como a criação de zona estéril próxima ao Bico de Bunsen. Além disso, nessa frente de estágio, os alunos são orientados sobre os procedimentos de descontaminação antes do início e ao término dos procedimentos, cuidados durante a execução como a troca de luvas caso ocorra contaminação com o material e constante vigilância das condições de limpeza de bancadas e equipamentos.

## CONCLUSÃO

Conforme os resultados do estudo experimental, verificou-se a presença de microrganismos tanto na bancada como nos materiais utilizados no laboratório, o que demonstra a importância de protocolos de biossegurança, o uso de EPI (equipamentos de proteção individual) e o cumprimento de todas as orientações que visem prevenir acidentes nesse ambiente, uma vez que o fator humano é passível de acidentes.

É unânime que são necessárias para a manutenção da segurança no ambiente laboratorial tanto para aqueles que o utilizam quanto para os funcionários que ali circulam medidas de educação continuada, campanha de higienização principalmente das mãos, utensílios, equipamentos e bancadas. São necessários métodos mais eficientes que álcool para desinfecção de superfícies inanimadas, sendo o hipoclorito a 10% uma opção de baixo custo e fácil aplicabilidade na limpeza após a rotina laboratorial, sendo eficaz tanto para superfícies, quanto para equipamentos e materiais utilizados nas análises.

Importante também conscientizar os alunos que todo material biológico é potencialmente infectante e que o comportamento apresentado no estágio de Microbiologia deve acontecer também durante os outros estágios, independente do material clínico presente.

## REFERÊNCIAS

BLACK, J. G. *Microbiologia: Fundamentos e Perspectivas*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 830 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução da Diretoria Colegiada número 50, de 21 de fevereiro de 2002*. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Brasília, DF, fev. 2002. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0050\\_21\\_02\\_2002.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0050_21_02_2002.html). Acesso em: 24 mar. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde*. Procedimentos laboratoriais: da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final. Brasília, DF. v.1. 2013a. 100p. Disponível em: [https://www.saude.gov.br/images/imagens\\_migradas/upload/arquivos/2017-02/modulo-4---procedimentos-laboratoriais---](https://www.saude.gov.br/images/imagens_migradas/upload/arquivos/2017-02/modulo-4---procedimentos-laboratoriais---)

[da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final.pdf](#). Acesso em: 02 jun. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde*. Tecnologias em Serviços de Saúde: Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos. Brasília, DF. v.2. 2013b. 100p. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-5-tecnologias-em-servicos-de-saude-descricao-dos-meios-de-cultura-empregados-nos-exames-microbiologicos>. Acesso em: 02 jun. 2023.

FIGUEIREDO, T. F. B.; FREITAS, T. S.; MELO, L. H. M. S. Identificação microbiológica em superfícies de bancadas laboratoriais de uma instituição de ensino superior de Cacoal, Rondônia. *Dê Ciência em Foco*, v. 5, n. 1, p. 8–20, 2021. Disponível em: <https://revistas.uninorteac.edu.br/index.php/DeCienciaemFoco0/article/view/110>. Acesso em: 17 mar. 2023.

GIL, A. C. *Como elaborar projetos de pesquisa*. 4 ed. São Paulo: Editora Atlas, 2002. 176p.

KONEMAM, E. W. *Diagnóstico microbiológico: Texto e atlas colorido*. Tradução: Elier Fritsch Toros. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1565 p.

- LEVINSON, W. *Microbiologia Médica e Imunologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 664p.
- OPLUSTIL, C. P et al. *Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2010. 530p.
- PIAUI. *Secretaria do Estado da Saúde. Normas e condutas para laboratórios de análises clínicas* [internet]. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Atenção primária à Saúde e Municípios. Teresina, PI, 2021. Disponível em: [http://www.saude.pi.gov.br/uploads/warning\\_document/file/905/E-book\\_Biomedicina.pdf](http://www.saude.pi.gov.br/uploads/warning_document/file/905/E-book_Biomedicina.pdf). Acesso em: 24 mar. 2023.
- RODRIGUES, J. A. et al. Avaliação de contaminação bacteriana de mobiliário de laboratório de microbiologia de uma universidade do Rio Grande do Sul. *RBAC*, v. 48, n.1, p. 68-73, 2016. Disponível em: [https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/05/ARTIGO-12\\_VOL-48\\_1\\_2016-ref-23-1.pdf](https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/05/ARTIGO-12_VOL-48_1_2016-ref-23-1.pdf). Acesso em: 24 mar. 2023.
- SANGIONI et al. Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. *Ciência Rural*, v.43, n.1, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/psYvv5Tr3qRKz6DpSG9LN8L/>. Acesso em: 17 mar. 2023.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 895p.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM F. *Microbiologia*. 6 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2015. 889p. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br/Account/n?redirectUrl=%2FLeitor%2FPublicacao%2F168178%2Fpdf%2F0%3F%3Fcode%3DpYROIBLi7ExxURzl4ZMVCqZxrr1efYRNQcqnlqoBpo1OwiuX3adXYNz0hHD4JZMD2bWdkNXCpWeqJlxFng%3D%3D.%2520> Acesso em: 10 abr. 2023.