AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE FUNGOS E BACTÉRIAS EM MAÇANETA DA ENTRADA DE UM PRÉDIO NA CIDADE DE ITUMBIARA-GO: ANÁLISE DO POTENCIAL DE DESINFECÇÃO DO ÁLCOOL 70% CONTRA FUNGOS E COLÔNIAS DE BACTÉRIAS

RESUMO

Em ambientes com um maior fluxo de pessoas, muitas serão as superfícies de contato comum. Portanto, muitos serão os pontos onde haverá um potencial agente patológico. O objetivo deste estudo é analisar fungos e bactérias nessas superfícies, e os efeitos do álcool a 70% na desinfecção. Foi coletado material da superfície de uma maçaneta, em março de 2020, para cultivo e análise dos microrganismos. Foi utilizado swab estéril descartável para realizar a raspagem da superfície, e colocado em um saco plástico ziplock lacrado para evitar contaminação externa. Antes da coleta, foram preparadas as placas de Petri para o cultivo, esterilizadas previamente a 121 °C durante 15 minutos em autoclave, seguidas da aplicação do meio de cultura ágar batata para o crescimento de fungos e bactérias também esterilizado em autoclave. Com as placas prontas, foi esfregado o material coletado do swab na placa com o meio de cultura por meio de *spread-plate*, e vedadas as laterais da placa para minimizar os riscos de contaminação dentro da estufa, a 27 °C. Após 9 dias, a placa foi retirada para análise e contagem das colônias, utilizando contador de colônias manual. Após a contagem, foi borrifado álcool 70% sobre os microrganismos, para observar como as colônias reagiam com o álcool. Foram encontradas 13 colônias de bactérias e 17 de fungos, apesar da limpeza ser realizada várias vezes por dia com uso de água e álcool 70%, e após a primeira borrifada, notou se o escurecimento quase imediato dos microrganismos, e decorridos 15 minutos, ficou mais evidente, com o aparecimento de gotículas na placa e acúmulo de líquidos, evidenciando que a aplicação do álcool a 70%, cria um meio hipotônico, ocasionando um extravasamento de líquido intracelular para o meio externo, gerando um ressecamento dos microrganismos, desnaturação de proteínas, levando a lise e consequentemente a morte celular. Apesar da limpeza constante diária, foi encontrado um número considerável de colônias de fungos e bactérias, número esse que poderia ser ainda maior, se a frequência de limpeza fosse menor ou inexistente, e em relação ao álcool, foi possível observar que este apresenta ser eficaz na desinfecção de superfícies.

Palavras-chave: Cultivo; Limpeza; Quarentena.

ABSTRACT
In environments with a greater flow of people, there will be many common contact surfaces. Therefore, there will be many points where there will be a potential pathological agent. The aim of this study is to analyze fungi and bacteria on these surfaces, and the effects of 70% alcohol disinfection. Material was collected from the surface of a doorknob, in March 2020, for cultivation and analysis of microorganisms. A sterile, disposable swab was used to scrape the surface, and placed in a sealed ziplock plastic bag to avoid external contamination. Before collection, Petri dishes were prepared for cultivation, previously sterilized at 121 °C for 15 minutes in autoclave, followed by the application of potato agar culture medium for the growth of fungi and bacteria, also sterilized in autoclave. With the plates ready, the material collected from the swab was rubbed onto the plate with the culture medium using *spread-plate*, and the sides of the plate were sealed to minimize the risk of contamination inside the oven at 27 °C. After 9 days, the plate was removed for analysis and colony counting, using a manual colony counter. After counting, 70% alcohol was sprayed on the microorganisms to observe how the colonies reacted with the alcohol. 13 colonies of bacteria and 17 of fungi were found, despite the cleaning being carried out several times a day using water and 70% alcohol, and after the first spray, it was noticed that the almost immediate darkening of the microorganisms, and after 15 minutes, it was more evident, with the appearance of droplets on the plaque and accumulation of liquids, evidencing that the application of 70% alcohol creates a hypotonic environment, causing an extravasation of intracellular liquid to the external environment, generating a drying of microorganisms, denaturation of proteins, leading to lysis and consequently cell death. Despite the constant daily cleaning, a considerable number of colonies of fungi and bacteria was found, a number that could be even higher if the cleaning frequency was lower or non-existent, and in relation to alcohol, it was possible to observe that it is effective in disinfecting surfaces.

Key Words: Culture; Cleannes; Quarantine

1 INTRODUÇÃO

Diferentemente de bactérias, fungos estão mais adaptados a viverem fixos em superfícies, já que não apresentam motilidade. Essa característica de viverem fixos em superfícies e sua facilidade em criar colônias, – pois são seres que se reproduzem tanto assexuadamente por brotamento, como sexuadamente por meio da esporulação (MORAES; PAES; HOLANDA, 2009), podem dar origem a novos indivíduos em lugares mais distantes – dão aos fungos uma capacidade muito grande de se proliferarem e se manterem em superfícies que não forem devidamente desinfectadas.

Fungos são cosmopolitas, abundantes em quase todo tipo de superfície, sendo capazes de se nutrir através da decomposição de matéria orgânica (MORAES; PAES; HOLANDA, 2009), por isso é muito comum haver fungos em superfícies corriqueiras em que entramos em contato diariamente (como maçanetas, chaves, torneiras), já que o acúmulo de células mortas epiteliais, e de gordura, oferecem um ambiente propício, que auxiliam os fungos a se reproduzirem, já que ao tocar nessas superfícies, podemos estar levando esporos para outras superfície e outros lugares, ressaltando novamente a importância de desinfectar devidamente uma superfície de contato corriqueiro.

Alguns fungos, do tipo saprofágicos, podem apodrecer os materiais em que se encontram, podendo causar prejuízos econômicos, criando biofilmes em máquinas e equipamentos industriais (OLIVEIRA; BRUGNERA; PICCOLI, 2010), em ambientes hospitalares (MARTINI-DINIZ, 2005) e inclusive em ruínas (BARRINUEVO, 2004) e bibliotecas (RIBEIRO, 2016). Alguns fungos também podem ser parasitas, enquanto outros podem viver em harmonia com outros organismos, trocando benefícios (CARVALHO, 2010).

Ressaltamos ainda, que muitas vezes, ao citarmos doenças que podem ser transmitidas por toque em alguma superfície contaminada, nos remetemos a bactérias, pelas superfícies chamadas de fômites (MESQUITA, 2018), que são capazes de reter e transportar microrganismos, mas o mesmo vale igualmente senão ainda mais para fungos, que como citamos anteriormente, são mais adaptados a viverem em superfícies assim. A capacidade de causar doenças não é exclusiva de bactérias, fungos também são responsáveis por patologias, como inflamações de pele, candidíase (*Candida albicans*), dermatofitose (*Tinea spp*), insuficiência respiratória (*Candida auris*), e inclusive infecções crônicas e letais em órgãos inteiros (MORAES; PAES; HOLANDA, 2009), sendo então, patologias de fácil disseminação, devido ao potencial de transmissão por superfícies contaminadas.

Em ambientes com um maior fluxo de pessoas, muitas serão as superfícies que as pessoas possam entrar em contato. Concomitante, muitos serão os pontos onde possivelmente haverá um potencial agente patológico. O objetivo desse estudo é focar em fungos e bactérias nessas superfícies, e avaliar os efeitos do álcool a 70% em sua desinfecção, sendo uma das substâncias utilizadas para esse tipo de limpeza

Foi escolhida a análise de uma maçaneta na porta da entrada do prédio, devido ao risco de ser um potencial fômite, devido ao frequente toque de várias pessoas que entram e saem de um prédio, sendo essas, superfícies propícias para a proliferação e disseminação de fungos e outros microrganismos, pois caso haja microrganismos ali presentes, entrarão em contato com as mãos ao tocar na maçaneta, podendo contaminar o indivíduo e tudo e todos que ele tocar, levando para mais e mais pessoas, dentro e fora do seu ciclo de convívio.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Essa é uma pesquisa do tipo quantitativa, já que aborda a contagem e quantificação de fungos e colônias de bactérias antes e depois dos testes, de caráter aplicado, pois visa a abordagem da solução de problemas específicos, como o estudo avaliativo abordando a desinfecção do álcool a 70%, sendo descritiva quanto aos seus objetivos e os métodos utilizados, experimental quanto aos seus procedimentos, a coleta e contabilização dos resultados e teórico, pela intensa revisão e comparação com estudos de outros autores.

Foi utilizado um swab estéril descartável para realizar a raspagem de material da superfície da maçaneta usando,e em seguida, colocado em um saco plástico ziplock, lacrado em seguida, para evitar contaminação externa. Antes da coleta do material, foram preparadas as placas de Petri para o cultivo após a coleta, esterilizadas previamente a 121 °C durante 15 minutos em autoclave, seguidas da aplicação do meio de cultura também esterilizado em autoclave, do tipo ágar batata, para o crescimento de fungos e bactérias. Com as placas prontas, e feita a coleta, foi esfregado o material coletado do swap na placa com o meio de cultura utilizando a técnica de *spread-plate,* ser usada para análises de superfícies (RODRIGUES; WEISSMANN; MELLO, 2016). Em seguida, foram vedadas as laterais da placa para minimizar os riscos de contaminação dentro da estufa, e logo após, levada para esta, para o cultivo dos microrganismos, a 27 °C.

Após o período de 9 dias, a placa foi retirada da estufa para a análise e contagem das colônias nela presentes, utilizando um contador de colônias manual.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o auxílio do contador de colônias manual, foram contadas 13 colônias pequenas de bactérias, e 17 fungos, de tamanho médio e grande, com alguns semelhantes aos do bolor encontrado em pães (Fig. 1). O prédio possui uma lanchonete, podendo então correlacionar os fungos encontrados na maçaneta com aqueles presente em pães, possivelmente, levado a maçaneta por algum visitante que não lavou as mãos após comer, antes de tocar na maçaneta.

Figura 1. Placa de Petri antes da aplicação de álcool 70%

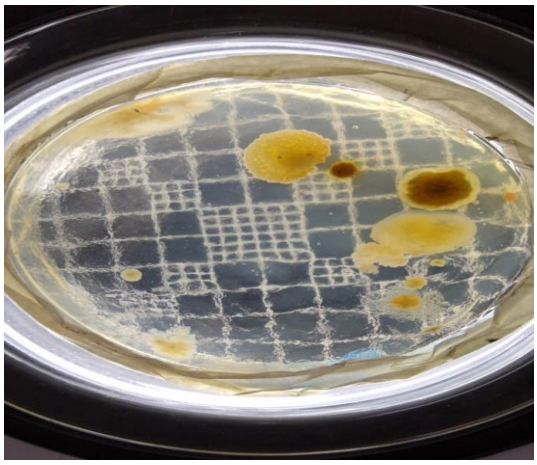

Figura 1. Placa de Petri antes da aplicação de álcool 70%. Fonte: Autoria própria.

Após a contagem, a placa foi aberta, e borrifada 3 vezes com álcool a 70%, com uma distância de aproximadamente 15cm. Em seguida, a placa foi novamente fechada, e foram aguardados 15 minutos para se observar as mudanças que o álcool a 70% causou aos microrganismos

Logo após a primeira borrifada, notou-se o escurecimento dos fungos quase imediatamente em resposta ao álcool. Decorridos 15 minutos após a aplicação de mais duas borrifadas com intervalo de 30 segundos, o escurecimento ficou mais evidente, com o aparecimento de gotículas de água no vidro da placa, junto com o acúmulo de líquidos, proveniente dos fungos, já que a aplicação do álcool a 70%, cria um meio hipotônico, ocasionando um extravasamento de líquido intracelular para o meio externo, gerando um ressecamento dos microrganismos, além da desnaturação de proteínas, levando a lise, e consequentemente a morte celular (Fig. 2).

Figura 2. Placa de Petri após a aplicação da primeira borrifada/decorridos 15 minutos

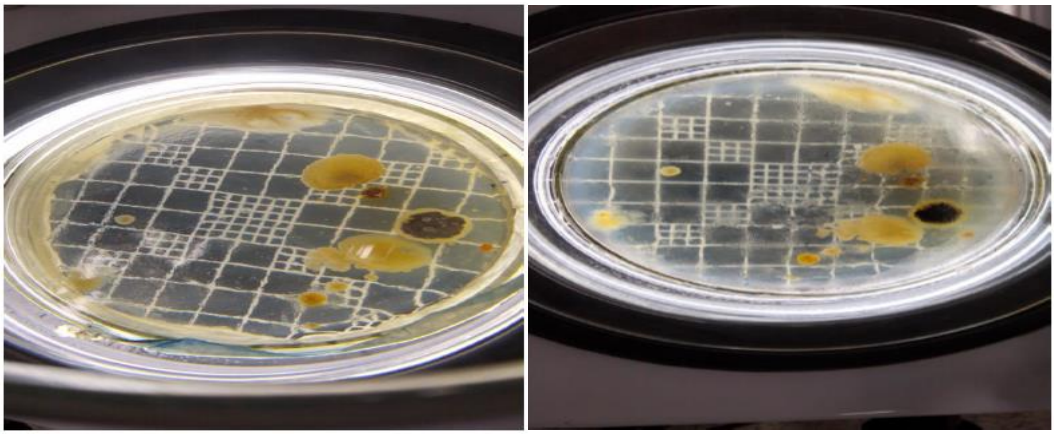

Figura 2. Placa de Petri após a aplicação da primeira borrifada/decorridos 15 minutos. Fonte: Autoria própria.

Esse estudo, realizado durante o período de e quarentena na pandemia do novo coronavírus, levou as pessoas a se higienizarem e a lavar mais as mãos com mais frequência, até mesmo a limpeza nessas superfícies passou a ser mais intensa. Devido a isso, é provável que o número de colônias de microrganismos seja menor do que o encontrado em estudos anteriores a esse período.

De acordo com os resultados de RODRIGUES; WEISSMANN; MELLO, 2016, o álcool 70% eliminou todas as bactérias em uma bancada de laboratório, independentemente de sua classificação quanto aos componentes da membrana, Gram negativa e Gram positiva.

De acordo com o Módulo 1 de microbiologia da Agência Nacional de Segurança Sanitária (ANVISA, 2013), o uso de álcoois recebeu nota satisfatória para a desinfecção por fungos, enquanto o detergente, que era o principal produto utilizado nesse tipo de limpeza antes da pandemia, não obteve resultados.

4 CONCLUSÃO

Com a realização deste presente estudo, foi possível verificar que a utilização de apenas água e álcool a 70% na limpeza de superfícies de toque corriqueiro, não elimina a possibilidade da instalação de colônias de bactérias e fungos, mesmo com a limpeza sendo realizada várias vezes por dia, uma vez que, após o álcool ser evaporado, a superfície fica novamente sujeita a instalação de microrganismos, fazendo então, a complementação de outros produtos junto com o uso do álcool a 70% para esse tipo de limpeza.

REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde**. Módulo 1: biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica. 1 ed. Brasília: ANVISA, 2013. 100 p.

BARRINUEVO, M. R. E. **Biodeterioração produzida por biofilmes de fungos e cianobactérias nas ruínas jesuíticas das missões e avaliação de seu controle**. Orientador: João Ruy Jardim Freire. 2004. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2004.

CARVALHO, I. **Microbiologia básica**. 1 ed. Recife: UFRPE, 2010. 110 p.

MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Volume 4, capítulo 4. 1 ed. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009. 97 p.

MARTINI-DINIZ, J. N.; SILVA, R. A. M.; MIRANDA, E. T.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 398-405, 2005.

MESQUITA, G. L.; SUGITA, D. S.; JAIME, J. C.; MESQUITA, A. L.; AZEVEDO, C. V. S.; BELTRÃO, D. I.; BASTOS, V. V.; BARBOSA, K. C. A. Prevalência bacteriana em fômites e mãos de profissionais e acadêmicos de saúde em enfermarias de um hospital de Anápolis. **Revista Educação em saúde**, Goiás, v. 6, n. 2, p. 65-75, 2018.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 277-284, 2010.

RIBEIRO, A. L. P. C.; LUBISCO, N. M. L. Redução de fungos em ambiente de biblioteca: viabilidade de aplicação de neblina ativada. **Perspectivas de Gestão & Conhecimento**, Paraíba, v. 6, n.2, p. 250-260, 2016.

RODRIGUES, J. A.; WEISSMANN, A. G.; TELLES, T. M.; MELLO, R. M. Avaliação de contaminação bacteriana de mobiliário de laboratório de microbiologia de uma universidade do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio Grande do Sul, v. 48, n. 1, p. 68-73, 2016.