

IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS ISOLADAS EM JALECOS

Data de submissão: 21/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Débora de Moraes Cordeiro

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/5311382732850145>

Lucas Lemos Garcia

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/5155469161380651>

Lucas Palheta Gomes

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/0013620115346462>

Hélio Longoni Plautz Junior

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/6519859084885905>

Sheyla Mara de Almeida Ribeiro

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/6188651927137776>

Lucimar Di Paula dos Santos Madeira

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/7042813075507177>

Suellen Emilliany Feitosa Machado

Universidade Federal do Pará
Belém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/1188745397501771>
<https://orcid.org/0000-0001-5608-1768>

RESUMO: A utilização de equipamentos de proteção pessoal (EPIs) é essencial na manipulação de amostras biológicas, minimizando o risco de contaminação para os profissionais de saúde. Contudo, EPIs também podem se apresentar como potenciais carreadores de microrganismos, constituindo uma importante ferramenta de transmissão de microrganismos resistentes entre os profissionais de saúde e os pacientes e a comunidade em geral. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi isolar e identificar bactérias presentes nos punhos de jalecos utilizados por professores e estudantes em aulas práticas de manipulação de amostras biológicas, bem como averiguar o perfil de sensibilidade destes microrganismos a antimicrobianos. Utilizou-se *swabs* esterilizados e embebidos em solução salina a 0,9% para coletar amostras de punhos de jalecos de professores e alunos que participaram no estudo. As amostras foram

semeadas em Ágar Nutriente para isolar as colônias, Em seguida, realizou-se coloração de Gram e testes bioquímicos para identificar os microrganismos. Os testes de sensibilidade a antimicrobianos foram realizados por disco difusão, em Ágar Mueller Hinton e 10 antibióticos foram utilizados nesta etapa. Sete colônias de bactérias, macroscopicamente diferentes, foram isoladas. Todas as bactérias foram Gram positivas, sendo 6 cocos e 1 bacilos. Após os testes, as bactérias foram identificadas como pertencentes às espécies *Staphylococcus saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. aureus* e *Bacillus subtilis*. *S. saprophyticus* mostrou a maior resistência aos antimicrobianos dentre as colônias isoladas. Os resultados obtidos neste estudo indicaram o isolamento de microrganismos de diferentes espécies a partir de jalecos utilizados para manipulação de amostras biológicas é possível. Além disso, evidenciou-se o potencial papel que este EPI tem na transmissão de microrganismos no ambiente acadêmico e hospitalar.

PALAVRAS-CHAVE: Antibiograma, contaminação, EPI, microrganismos resistentes.

IDENTIFICATION AND RESISTANCE PROFILE OF BACTERIA ISOLATED IN WHITE COATS

ABSTRACT: The use of personal protective equipments (PPE) is essential for manipulating biological samples, minimizing contamination risks for health professionals. However, PPE can also be potential carriers of microorganisms, constituting an important tool for the transmission of resistant microorganisms between health professionals, patients and the community in general. In this context, the aim of this study was to isolate and identify bacteria present on the cuffs of white coats used by teachers and students in practical classes on manipulating biological samples, as well as to investigate the sensitivity profile of these microorganisms to antimicrobials. Sterile swabs soaked in 0.9% saline solution were used to collect the samples from the white coats of teachers and students who participated in the study. The samples were seeded on Nutrient Agar to isolate the colonies. Then, Gram and biochemical tests were performed to identify the microorganisms. Antimicrobial susceptibility tests were performed by disc diffusion, in Mueller Hinton Agar and 10 antibiotics were used in this step. Seven colonies of bacteria, macroscopically different, were isolated. All bacteria were Gram positive, 6 cocci and 1 bacilli. After the tests, the bacteria were identified as belonging to the species *Staphylococcus saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. aureus* and *Bacillus subtilis*. *S. saprophyticus* showed the highest antimicrobial resistance among the isolated colonies. The results obtained in this study indicated that the isolation of microorganisms of different species from white coats used for manipulating biological samples is possible. In addition, the potential role that this PPE has in the transmission of microorganisms in the academic and hospital environment was evidenced.

KEYWORDS: Antibiogram, contamination, PPE, resistant microorganisms.

1 | INTRODUÇÃO

Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) são todos os dispositivos de uso individual que se destinam a proteger a saúde e a integridade física do trabalhador. São de grande importância para os profissionais da área da saúde devido à exposição a agentes biológicos que eles sofrem diariamente (PINTO; LEAL, 2022). Logo, devem ser utilizados

para protegê-los de situações de risco contra sua saúde (CARVALHO et al., 2021) e o seu uso constitui uma medida de biossegurança, que é importante para prevenir, eliminar ou minimizar riscos, sendo essenciais ao controle de infecções (ROCHA et al., 2015).

Os EPIs são categorizados de acordo com a área de proteção destinada e o tipo de precaução (PINTO; LEAL, 2022). Dentre eles, destacam-se os jalecos, cujo uso é recomendado por órgãos como o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), visando segurança durante a exposição a fluidos corporais e agentes biológicos (BIM et al., 2020).

Porém, ao passo que promove a proteção do indivíduo que o utiliza, os jalecos são apontados como possíveis veículos de transmissão de infecções. Se contaminados durante atendimentos realizados aos pacientes, tornam-se potenciais carreadores de microrganismos entre pacientes, profissionais e para a família e comunidade, o que pode contribuir para o aumento das infecções (MARGARIDO et al. 2014). De acordo com Goyal et al. (2019), bactérias podem ser abrigadas transitoriamente nas vestimentas do profissional de saúde, incluindo jalecos e aventais cirúrgicos, os quais podem ser potenciais responsáveis pela disseminação de infecções.

Não há estudos publicados que relacionem diretamente os vestuários dos profissionais de saúde às causas das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), que são os eventos adversos mais frequentes na prestação de cuidados de saúde. Contudo, segundo Mishra et al. (2020), alguns grupos de pesquisa descobriram que os jalecos são frequentemente colonizados por bactérias patogênicas, incluindo *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (do inglês: *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* - MRSA) e enterococos resistentes à vancomicina (do inglês: *Vancomycin-resistant Enterococcus* - VRE).

Diante do contexto apresentado, este trabalho objetivou isolar, identificar e verificar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias presentes em jalecos de professores e alunos do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do estudo

O estudo foi realizado com uma professora e alunos do curso de Biomedicina do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA). Foram coletadas amostras de 03 jalecos pertencentes a integrantes do estudo. Os EPIs foram utilizados em aulas práticas anteriores e não foram lavados.

2.2 Coleta das amostras e isolamento das bactérias

As amostras foram coletadas utilizando *swabs* estéreis umedecidos em solução salina a 0,9% esterilizada, através de rolamento na circunferência dos punhos, tanto na

área interna e externa. Posteriormente, os *swabs* foram semeados em Ágar Nutriente (AN), em duplicata, e as placas foram incubadas a 37 °C, por 24 horas. Decorrido este tempo, as colônias foram analisadas e isoladas para novas placas de AN, as quais foram incubadas nas condições já citadas. Realizou-se análises das colônias isoladas, tanto macroscópica (cor, tamanho, textura etc.) e como microscópica (análise morfotintorial por coloração de Gram).

As análises realizadas direcionaram as provas bioquímicas para identificação dos microrganismos. Os cocos Gram positivos foram submetidos aos seguintes testes: prova da catalase, cultivo em ágar Manitol e prova da novobiocina. Os bastonetes Gram positivos passaram pela prova da catalase e foram cultivados nos meios: ágar TSI (do inglês: *Triple Sugar Iron Agar* = Ágar Tríplice Açúcar Ferro) citrato e motilidade.

2.3 Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA)

Para verificar os padrões de sensibilidade ou resistência a antimicrobianos, utilizou-se a metodologia de difusão em discos. As colônias isoladas foram semeadas, inicialmente, em AN e as placas foram incubadas a 37 °C por 18-24 horas. As suspensões microbianas foram padronizadas em solução salina a 0,9%, a fim de ajustar a turbidez com o tubo 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

Posteriormente, as suspensões foram semeadas em placas com ágar Mueller-Hinton utilizando *swabs* estéreis. Foram testados 10 antibióticos frente a cada cepa isolada: Clindamicina (CLI), Levofloxacino (LVX), Amicacina (AMI), Imipenem (IMP), Tetraciclina (TET), Ampicilina (AMP), Oxacilina (OXA), Cloranfenicol (CLO), Gentamicina (GEN) e Cefazolina (CFZ). As placas foram incubadas por 24 horas, a 37 °C. Após o período de incubação, foi verificada a formação de halos de inibição, os quais foram medidos (mm).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, 7 colônias macroscopicamente diferentes foram isoladas para dar sequência aos testes de identificação dos microrganismos: as colônias enumeradas como 1 e 4 eram de cor rosada, cremosas, convexas e brilhosas; as colônias 2, 3, 5 e 6 eram amarelas, cremosas, convexas e brilhosas; a colônia 7 era esbranquiçada, opaca e possuía bordas irregulares. Estas colônias são ilustradas a seguir, na Figura 1.

A coloração de Gram revelou que todas as colônias eram de bactérias Gram positivas e permitiu distingui-las quanto à morfologia: 85,7% das amostras (colônias de 1 a 6) eram cocos e 14,3% (colônia 7) possuía forma de bacilo. Quando submetidas ao contato com peróxido de hidrogênio, todas propiciaram a formação de bolhas; ou seja, as 7 colônias eram catalase positivas.

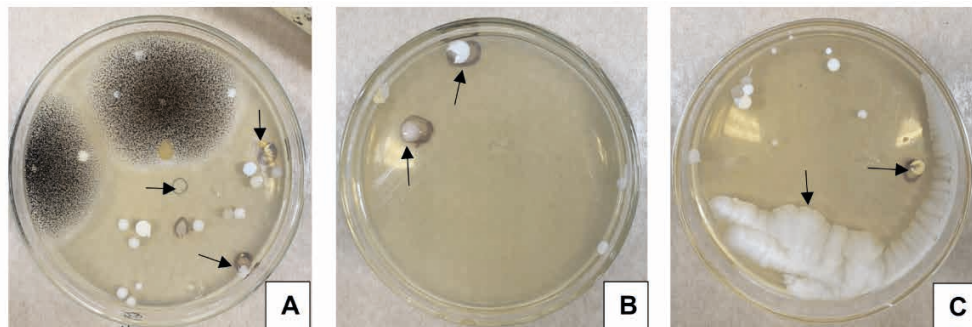


Figura 1. Características macroscópicas das colônias de microrganismos coletados em punhos de jalecos (as colônias sinalizadas por setas foram selecionadas para os testes de identificação e verificação de sensibilidade a antimicrobianos)

Fonte: Os autores.

Para identificação de cocos Gram positivos e catalase positivos, as colônias de 1 a 6 foram cultivadas em ágar manitol (AM). As colônias 5 e 6 foram positivas neste teste após verificação da mudança da coloração do meio de cultura, cuja cor inicialmente é rosa e, após o tempo de incubação e crescimento, mudou para amarelo. De acordo com Margarido et al. (2014), *Staphylococcus aureus* é capaz de fermentar o Manitol do meio, o qual também possui 7,5% de cloreto de sódio; além disso, este meio também contém o indicador de pH vermelho de fenol na sua composição, indicando reação negativa quando permanece avermelhado, e a reação positiva se dá quando o meio ao redor das colônias se torna amarelo. Sendo assim, as colônias 5 e 6 tratam-se da espécie *S. aureus*.

As colônias que cresceram sem proporcionar mudança de coloração no AM foram submetidas à prova da novobiocina (resistência: halo \leq 16 mm) ou sensibilidade. As colônias 1 e 4 foram resistentes, sendo identificadas como *S. saprophyticus*; as colônias 2 e 3 foram sensíveis e determinadas como *S. epidermidis*. Estes resultados dos cocos Gram positivos encontram-se na Tabela 1.

A colônia 7 foi cultivada em ágar TSI e, após incubação, constatou-se ápice e base vermelhos; logo, conclui-se que o microrganismo não fermentou os açúcares do meio. Quando à motilidade, foi negativa. No teste de citrato, apresentou positividade. Estes resultados sugerem que se trata de uma cepa de *Bacillus subtilis*. Um fluxograma das análises e resultados de identificação dos microrganismos isolados nesse estudo estão apresentados na Figura 2.

Isolado bacteriano	Ágar Manitol	Novobiocina	Espécie
1	Negativo	Resistente	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
2	Negativo	Sensível	<i>S. epidermidis</i>
3	Negativo	Sensível	<i>S. epidermidis</i>
4	Negativo	Resistente	<i>S. saprophyticus</i>
5	Positivo	-	<i>S. aureus</i>
6	Positivo	-	<i>S. aureus</i>

Tabela 1. Provas de identificação dos cocos Gram positivos (isolados 1 a 6), coletados a partir de jalecos utilizados por professor e alunos em aulas práticas

Fonte: Os autores.

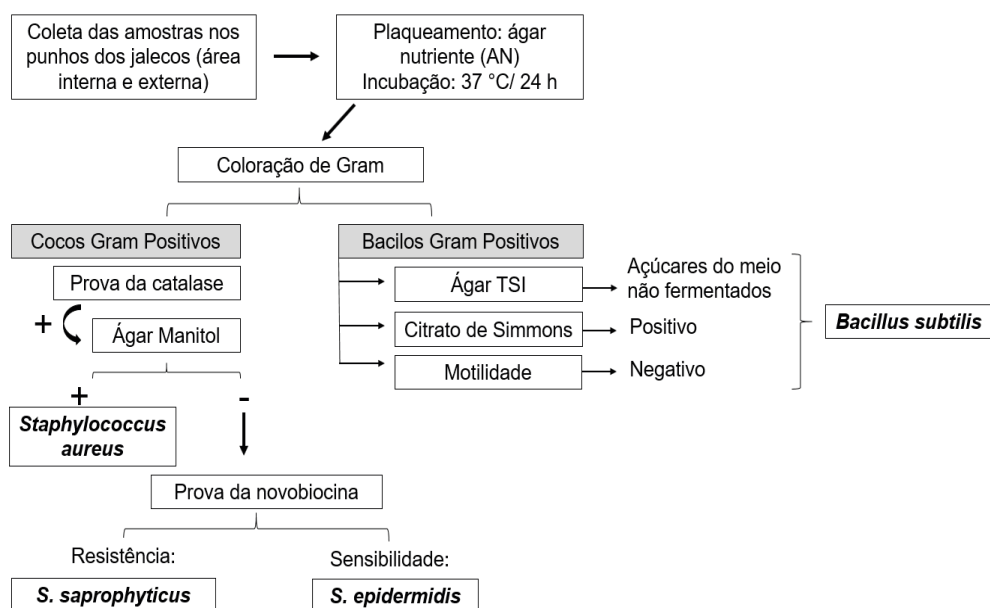


Figura 2. Representação esquemática da sequência de análises para identificação e resultados obtidos nos testes realizados neste estudo

Fonte: Os autores.

Quanto à avaliação dos perfis de suscetibilidade aos antibióticos, as colônias de *S. aureus* foram mais sensíveis aos antibióticos testados, pois o isolado 5 foi sensível a todos e o isolado 6 foi resistente apenas a oxacilina. Ambos os isolados de *S. epidermidis*, assim como *B. subtilis*, foram resistentes a oxacilina e sensíveis aos demais. Os isolados de *S. saprophyticus* foram mais resistentes aos antibióticos utilizados na avaliação: ambos foram resistentes a levofloxacino, tetraciclina, amicacina e gentamicina, e o isolado 4 foi resistente a cloranficol. Estes resultados encontram-se descritos na Tabela 2.

O presente estudo avaliou a presença de microrganismos nos punhos de jalecos utilizados em aulas práticas de microbiologia, sendo isoladas bactérias a partir de todos os jalecos avaliados. Sabendo que jalecos se tornam contaminados à medida que os profissionais realizam suas atividades, sendo esta contaminação pode ser proveniente da microbiota da pele do próprio usuário do jaleco, do ambiente etc. (NEVES et al. 2016) este resultado era esperado.

Na microbiota da pele encontram-se bactérias Gram-positivas como *S. aureus* e *S. epidermidis*, que são encontradas principalmente nas camadas externas do estrato córneo (FOURNIÈRE et al. 2021). Também presente na microbiota da pele humana, *S. saprophyticus* está predominantemente localizado na região periuretral de humanos. Apresenta baixa patogenicidade, mas está associada a causa de infecções urinárias em mulheres jovens (MENDES et al. 2016).

B. subtilis pode ser transferida para os jalecos através do contato dos profissionais com as bancadas contaminadas. Esta espécie é capaz de sobreviver em forma de esporos, o justificando o isolamento de uma cepa neste estudo. Espécies do gênero *Bacillus* vivem no solo e em superfícies, e podem causar intoxicação alimentar pois produzem toxinas (NEVES et al. 2016).

Apesar da baixa patogenicidade, os isolados de *S. saprophyticus* obtidos neste estudo foram resistentes a 40% (isolado 1) e 50% (isolado 4) dos antibióticos testados, dados que merecem atenção diante da problemática da resistência bacteriana aos antibióticos. Inclusive, segundo Wang et al. (2022), pesquisadores estão identificando *S. saprophyticus* multirresistente a partir de alimentos prontos para consumo de origem animal com frequência, e a presença de microrganismos resistentes em alimentos pode ser uma grave ameaça à saúde pública devido à possível disseminação de resistência a antibióticos.

Antib.	Isolados						
	(1) <i>S. saprophyticus</i>	(2) <i>S. epidermidis</i>	(3) <i>S. epidermidis</i>	(4) <i>S. saprophyticus</i>	(5) <i>S. aureus</i>	(6) <i>S. aureus</i>	(7) <i>B. subtilis</i>
CLI	S	S	S	S	S	S	S
LVX	R	S	S	R	S	S	S
AMI	R	S	S	R	S	S	S
IMP	S	S	S	S	S	S	S
TET	R	S	S	R	S	S	S
AMP	S	S	S	S	S	S	S
OXA	S	R	R	S	S	R	R
CLO	S	S	S	R	S	S	S

GEN	R	S	S	R	S	S	S
CFZ	S	S	S	S	S	S	S

Legenda: Antibióticos (Antib.), Sensível (S), Resistente (R), Clindamicina (CLI), Levofloxacino (LVX), Amicacina (AMI), Imipenem (IMP), Tetraciclina (TET), Ampicilina (AMP), Oxacilina (OXA), Cloranfenicol (CLO), Gentamicina (GEN) e Cefazolina (CFZ).

Tabela 2. Resultados do teste suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA) realizado com as 7 cepas isoladas obtidos a partir de coletas realizadas em jalecos

Fonte: Os autores.

De acordo com Mishra et al. (2020), as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são responsáveis por afetar centenas de milhões de pacientes em todo mundo a cada ano, levando a mortalidade que poderia ser evitada, além de ônus econômico para os sistemas de saúde, pacientes e suas famílias. As IRAS estão relacionadas a ambientes hospitalares, contudo podem ser causadas pela disseminação de microrganismos inclusive por objetos. Goyal et al. (2019) mencionaram que a transmissão horizontal de bactérias, especialmente organismos multirresistentes continua sendo uma preocupação importante em todo o mundo.

Sabendo que as bactérias uma capacidade muito grande de se adaptarem em diferentes lugares e ambientes (TROVA; MELLO, 2021), faz-se necessário enfatizar a importância, na prevenção da dispersão de patógenos, da lavagem do jaleco (MARGARIDO et al. 2014), o que fomenta a necessidade de orientação desses profissionais acerca do uso devido de seu material de proteção.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo apontam que microrganismos de diferentes espécies podem ser isolados a partir de EPIs, podendo exibir perfil de resistência a antibióticos. Tendo em vista que avanço da resistência microbiana é preocupante, defende-se a realização de mais pesquisas deste nível, a fim de minimizar riscos de infecções e conscientizar os profissionais quanto às práticas de higiene e biossegurança.

REFERÊNCIAS

BIM, F.L.; BIM, L.L.; MONTEIRO, R.M.; MACHADO, M.B.; SANTOS, A.P.; ANDRADE, D.; *et al.* **Jalecos em têxteis de poliéster agem como barreira contra fluidos e bactérias?** Acta Paulista Enfermagem, v. 33, p. 1-8, 2020.

CARVALHO, A.A.G.; AIDAR, A.L.S.; SANTOS, B.C.; KURAMOTO, D.A.B.; PEREDA, M.R.; CORREIA, R.M.; *et al.* **Recomendações de uso de equipamentos de proteção individual (EPI) em procedimentos cirúrgicos durante a pandemia de SARS-Cov.** Jornal Vascular Brasileiro, v. 20, p.e 20200044, 2021.

- FOURNIÈRE, M.; BEDOUX, G.; SOUAK, D.; BOURGOUGNON, N.; FEUILLOLEY, M.G.J.; LATIRE, T. **Effects of *Ulva* sp. extracts on the growth, biofilm production, and virulence of skin bacteria microbiota: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Cutibacterium acnes* Strains.** *Molecules*, v. 26, p. 1-20, 2021.
- GOYAL, S.; KHOT, S.C.; RAMACHANDRAN, V.; SHAH, K.P.; MUSER, D.M. **Bacterial contamination of medical providers' white coats and surgical scrubs: A systematic review.** *American Journal of Infection Control*, v.47, p.994–1001, 2019.
- MARGARIDO, C.A.; BOAS, T.M.V.; SIQUEIRA MOTA, V.S.; SILVA, C.K.M.; POVEDA, V.B. **Contaminação microbiana de punhos de jalecos durante a assistência à saúde.** *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 67, n. (1), p. 127-32, 2014.
- MENDES, R.R.; COSTA, B.J.S.; HATANO, N.T.; MENDES, G.O.; GONDO, F.H.B.; BORGES, J.C.; *et al.* **Perfil bacteriológico das mãos de profissionais de saúde no centro cirúrgico e no pós-operatório do Hospital Geral de Palmas, Tocantins.** *Revista de Patologia do Tocantins*, v. 3, n. 1, p. 44-62, 2016.
- MISHRA, S.K.; MAHARJAN, S.; YADAV, S.K.; SAH, N.P.; SHARMA, S.; PARAJULI, K.; SHERCHAND, J.B. **Bacteria on Medical Professionals' White Coats in a University Hospital.** *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, p.1-6, 2020.
- NEVES, J.D.B.; VANDESMET, V.C.S.; MENDES, C.F.C.; SOUSA JÚNIOR, D.L.; SANTOS, N.M.; CORDEIRO, P.M.D.; *et al.* **Análise bacteriológica de jalecos de profissionais da saúde de uma clínica escola na cidade de Juazeiro do Norte, Ceará.** *Revista INTERFACES SAÚDE, HUMANAS E TECNOLOGIA*, v. 3, n. 9, p. 50-54, 2016.
- PINTO, M.P.L.V.; LEAL, T.P. **Conhecimento dos estudantes de Medicina a respeito dos equipamentos de proteção individual.** *Braz J Infect Dis.*, v.26, S1, p.101996, 2022.
- ROCHA, A.P.F.; REZENDE, B.A.; LIMA, F.A.F.; BORGES, M.G.S.; OLIVEIRA, R.C.; SANTOS, J.N. **Medidas de biossegurança adotadas por profissionais atuantes em audiologia.** *Revista CEFAC*, v. 17, p. 96-106, 2015.
- TROVA, A.B.; MELLO, P.L. **Contaminação microbiológica em punho de jalecos de profissionais da saúde na cidade de Guarulhos.** *RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR*, v. 2, n. 2, p. 83-91, 2021.
- WANG, J.; MENG, J.; ZHU, J.; QIU, T.; WANG, W.; DING, J.; LIU, Z.; LI, K.; WANG, D.; LIU, J.; WU, Y. **Reversal of Azithromycin Resistance in *Staphylococcus saprophyticus* by Baicalin.** *Frontiers in Veterinary Science*, v.9, p.1-10, 2022.