



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 1.162, de 13/10/16, D.O.U nº 198, de 14/10/2016
ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

Kamilla Duarte dos Santos Teixeira

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA COM BASE NAS CARACTERÍSTICAS MACRO E
MOCRICOSCÓPICA DAS MESAS DE PROCEDIMENTO E CIRÚRGICO DO HOSPITAL
VETERINÁRIO DO CEULP ULBRA APÓS HIGIENIZAÇÃO

Palmas – TO

2019

Kamilla Duarte dos Santos Teixeira

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA COM BASE NAS CARACTERÍSTICAS MACRO E
MOCRICOSCÓPICA DAS MESAS DE PROCEDIMENTO E CIRÚRGICO DO HOSPITAL
VETERINÁRIO DO CEULP ULBRA APÓS HIGIENIZAÇÃO

Projeto de Pesquisa elaborado e apresentado como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) do curso de bacharelado em Medicina Veterinária do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA).

Orientadora: Prof. M.a Taísa Tavares dos Santos

Palmas – TO

2019



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 1.162, de 13/10/16, D.O.U. nº 198, de 14/10/2016
AELBRA EDUCAÇÃO SUPERIOR - GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO S.A.

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA ATA DE DEFESA DO TCC

Em 30/11/2019 o(a) acadêmico(a) **Kamilla Duarte dos Santos Teixeira**, matriculado(a) no curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Luterano de Palmas, defendeu seu trabalho referente à disciplina de TCC, com o título AVALIAÇÃO DA DESINFECÇÃO DAS MESAS DE PROCEDIMENTO E CIRURGIA DO HOSPITAL VETERINÁRIO CEULP ULBRA DO MUNICÍPIO DE PALMAS-TO, obtido aprovação reprovação com a nota 9,0 na defesa final. Esta nota está condicionada às correções solicitadas pela banca e a entrega da versão final da monografia, que deverá conter as alterações indicadas abaixo:

- Corrigir os erros ortográficos e de expressão
- Adequar o trabalho às normas da ABNT
- Realizar alterações sugeridas pela banca contidas nos relatórios
- Outros requisitos: _____

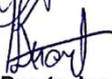
A aprovação está condicionada ao processo a seguir: após a aprovação das correções pelo(a) orientador(a), o(a) aluno(a) deverá enviar duas cópias digitais da monografia, sendo uma em formato pdf e outra em formato word, para o e-mail estagiotccvet@ceulp.edu.br até uma semana após a defesa. Caso o(a) aluno(a) não envie a versão final da monografia nos dois (2) formatos solicitados até a data acima definida, estará automaticamente reprovado(a) na disciplina.

Membros da Banca Examinadora


Professor(a) Orientador(a) e Presidente da Banca: **Taisa Tavares dos Santos**


Avaliador(a): **Cristiane Lopes Mazzinghy**


Avaliador(a): **Deyse Camargo Santos**


Acadêmico(a): **Kamilla Duarte dos Santos Teixeira**

AGRADECIMENTOS

O meu primeiro agradecimento não poderia ser diferente tendo espaço unicamente a Deus que me proporcionou esta oportunidade que a meu ver era um sonho muito distante, e além de me permitir ingressar me abençoou grandiosamente me capacitando e me dando forças, para chegar ao término desta graduação e que estrategicamente me concedeu a dádiva de ser mãe antes desta graduação, pois sem essa motivação que se chama Davi Oldak Duarte Teixeira eu sei que não teria nem começado.

Dedico e agradeço esta conquista aqueles que sempre estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis que enfrentei principalmente meu esposo Oldak Teixeira de Oliveira que incontáveis vezes me encheu de motivação e acreditou no meu potencial e não me deixou desistir mesmo quando essa era a minha única vontade, essa graduação também não poderia acontecer se eu não tivesse ao meu lado pessoas que me ajudaram com meu filho entre elas vizinhos, amigos e principalmente minha sogra Iranildes Teixeira e minha cunhada Geisane Teixeira.

Aos meus entes queridos deixo meu muito obrigada que mesmo distante se fizeram presentes me dando muita força, em especial meu avô Francisco Nogueira dos Santos que por diversas vezes me acalmava com suas sábias palavras e conselhos de imensuráveis valores, a minha mãe Marineide Bezerra Duarte que sempre disposta a me ouvir e tentar solucionar meus problemas mesmo que a única que poderia aplicar as soluções seria eu, minha irmã Lara Rharissa Duarte dos Santos que é minha joia rara e que me transmite tamanha alegria que por inúmeras vezes me ajudou a levantar com o coração mais leve e continuar a caminhada, a pessoa classificada como a que tem as melhores palavras motivadoras minha cunhada Sanna Teixeira que por mais distantes que estamos geograficamente se faz presente emocionalmente.

A todo corpo docente pelo apoio, orientação, paciência, incentivo e persistência, acreditando sempre em meu potencial, mesmo aqueles que se desligaram da instituição, mas que deixaram conhecimentos e exemplos que jamais serão esquecidos, em especial minha orientadora M.a Taísa Tavares dos Santos sem ela esse trabalho não seria possível acontecer, deixo meus sinceros agradecimentos a todos os residentes do Hospital Veterinário que tiveram imensa parcela positiva em minha formação nessa reta final, me passando bastante confiança e me fazendo acreditar que eu era capaz especialmente a Patricia Pernlochner, Erycka Carolina França, Laisa Oliveira Mota e Mayara Ferreira. Aos amigos que fiz durante esse processo os quais pude me apoiar e ser apoio quando precisaram que são os principais proporcionadores de risos sinceros e momentos de felicidades durante toda essa jornada.

RESUMO

TEIXEIRA, Kamilla Duarte dos Santos. **Avaliação microbiológica com base nas características macro e microscópica das mesas de procedimento e cirúrgico do hospital veterinário do CEULP ULBRA após higienização.** 2019. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO, 2019.

Os microrganismos se encontram nos mais diversos ambientes podendo provocar a contaminação de superfícies. O objetivo do presente estudo foi verificar se há contaminação nas superfícies das mesas de atendimento dos consultórios e centro cirúrgico do Hospital Veterinário do CEULP/Ulbra, bem como nos proporciona verificar a eficácia da higienização destes locais. O experimento foi realizado, no Hospital Veterinário, localizado no município de Palmas TO, onde foram coletadas amostras, com auxílio de *swab* estéril, durante oito dias nos consultórios e quatro no centro cirúrgico totalizando em 12 amostras, cada uma semeada em três meios de cultura totalizando em 36 placas. Após a coleta, os *swabs* foram inoculados em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e no laboratório da referida instituição, foram semeadas nos meios de cultura Manitol, MacConkey para verificação de crescimento de bactérias. Entre os resultados, não foi possível realizar a contagem das colônias nos meios devido a multiplicação intensa das mesmas. Nos consultórios houve crescimento em duas amostras no meio Macconkey e no Manitol sete mostras já no centro cirúrgico colonizou em três amostras somente do meio Manitol. A partir da observação macro e microscópica através da coloração de Gram conforme características apresentadas pelas colônias foram sugestivas de *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp* ou *Staphylococcus spp*. enfatizando que para diagnóstico preciso se faz necessário o uso de provas bioquímicas para confirmação de tais bactérias. As amostras com crescimentos de colônias podem ter sofrido influência pelo modo que foi realizado a higienização do local provocando interferências, assim também como a pessoa que realiza tal procedimento e a forma que é aplicada, sendo indicada uma limpeza prévia antes da aplicação do álcool 70%.

Palavras-chave: Avaliação microbiológica; Desinfecção; Coloração de Gram; Superfícies.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Kamilla Duarte dos Santos Microbiological evaluation based on the macro and microscopic characteristics of the procedure and surgical tables of the CEULP ULBRA veterinary hospital after hygiene. 2019. 34 f. Final Paper (Graduation) - Veterinary Medicine Course, Lutheran University Center of Palmas, Palmas / TO, 2019.

Microorganisms are found in the most diverse environments and can cause surface contamination. The objective of the present study was to verify if there is contamination on the surfaces of the service tables of the CEULP / Ulbra Veterinary Hospital operating rooms, as well as to provide us to verify the effectiveness of cleaning these sites. The experiment was carried out at the Veterinary Hospital, located in the city of Palmas TO, where samples were collected with sterile swab for eight days in the offices and four in the operating room totaling 12 samples, each sown in three culture media. totaling in 36 plates. After collection, the swabs were inoculated in BHI broth (Brain Heart Infusion) and in the laboratory of that institution, were sown in the Manitol, MacConkey culture media to verify bacterial growth. Among the results, it was not possible to count the colonies in the media due to their intense multiplication. In the offices there was growth in two samples in the Macconkey medium and in Manitol seven samples already in the operating room colonized in three samples only of the medium Mannitol. From the macro and microscopic observation through Gram staining according to the characteristics presented by the colonies, they were suggestive of *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Pseudomonas* spp or *Staphylococcus* spp. emphasizing that accurate diagnosis requires the use of biochemical evidence to confirm such bacteria. Samples with colony growth may have been influenced by the way the site was sanitized causing interference, as well as the person performing the procedure and the way it is applied, with prior cleaning indicated before 70% alcohol.

Keywords: Microbiological Evaluation; Disinfection; Gram stain; Surfaces.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ágar macconkey, colônias róseas.....	23
Figura 2 – Ágar Manitol, colônias brilhantes e amarelas.....	24
Figura 3 – Cocos Gram Positivos, sugestivos de <i>Staphylococcus sp.</i>	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação das bactérias dos consultórios presumida a partir da análise de características macroscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.....	22
Tabela 2 – Identificação das bactérias do centro cirúrgico presumido a partir da análise de características macroscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.....	23
Tabela 3 – Identificação das bactérias dos consultórios presumida a partir da análise de características microscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.....	25
Tabela 4 – Identificação das bactérias do centro cirúrgico presumido a partir da análise de características microscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	<i>American Public Health Association</i>
ATM	Atmosfera
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CEULP	Centro Universitário Luterano de Palmas
CME	Centro de Material Esterilizado
CO2	Dióxido de Carbono
HV – UPF	Hospital Veterinário de Passo Fundo
POP	Procedimento Operacional Padrão
SCIH	Serviço de Controle de Infecção Hospitalar
TSI	Meio tríplice açúcar ferro
UFC	Unidades formadoras de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Problema de pesquisa.....	10
1.2 Hipóteses.....	10
1.3 Objetivos.....	10
1.3.1 Objetivo geral.....	10
1.3.2 Objetivos específicos.....	10
1.4 Justificativa.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Microorganismos.....	12
2.1.1. Bactérias.....	13
2.2 Meios de cultura mais utilizados.....	14
2.3 Métodos de identificação dos microrganismos por coloração de Gram.....	15
2.4 Características das colônias.....	17
2.4.1 Macroscópicas.....	17
2.4.2 Microscópicas.....	17
2.5 Higienização de superfície.....	17
3 METODOLOGIA.....	19
3.1 Coletas das amostras.....	19
3.2 Inoculações das amostras.....	19
3.3 Caracterizações morfológicas dos microrganismos.....	20
4 RESULTADOS.....	21
5 DISCUSSÃO.....	27
6 CONCLUSÕES.....	31
7 REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos são organismos que só podem ser visualizados com ajuda de microscópio, fazem parte da microbiota normal dos seres vivos e ambientes, podendo ser identificados como bactérias, fungos, vírus e protozoários, são caracterizados por serem unicelulares ou acelulares, mas cada um tem sua complexidade e forma estrutural diferenciada um do outro, podem ser encontrado em todos os tipos de ambientes desde água, terra, ar (EEEP, 2012).

Os microrganismos habitam os mais diversos ambientes. Esta propriedade é denominada de ubiquidade, podendo habitar os diferentes ecossistemas e também fazem parte da microbiota normal do corpo humano, dos animais e das plantas. Entre estes organismos são estabelecidas relações em diferentes graus de parasitismo, mutualismo e comensalismos (MIMS et al. 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Estes microrganismos podem ter um alto grau de patogenicidade, vivem de oportunidades como, por exemplo, uma imunossupressão de um animal ou ser humano, e podem acarretar os mais diversos tipos de doenças, desde as mais simples até as mais complexas como, por exemplo, uma gastroenterite ou até mesmo a raiva (CAETANO et al. 2007)

O meio hospitalar pode ser considerado como uma poderosa fonte de infecção secundária ou contaminação para os pacientes, pois traz consigo um alto índice de microrganismo nocivos e oportunistas, devido ao ambiente a disseminação das infecções ocorrem de forma mais potencializada quando comparada a outros locais normais (CAETANO et al. 2011).

De acordo com Júlio (2013), as infecções hospitalares acontecem constantemente e tem grande importância em pacientes hospitalizados, sendo causadas na maioria das vezes por incontáveis microorganismos cuja progressão é relacionada a inúmeros fatores, entre eles lavagem incorreta das mãos, procedimentos invasivos, técnicas incorretas, visitantes, imunossupressão de pacientes, limpeza inadequada de materiais e ambientes, entre outros.

As infecções hospitalares tem ligação profunda com o próprio ambiente incluindo a água, ar e superfícies inanimadas que a todo o momento ficam próximas ao paciente servindo de guia para focos infecciosos de contato e transmissão. Apesar das causas de infecções hospitalares sejam mais referentes ao doente susceptível, o método de diagnóstico e a terapêutica utilizada, não podemos desconsiderar a responsabilidade ligada aos padrões de assepsia e de higiene do ambiente hospitalar (MENDESGIANNINI, 2001; TELES, 1997).

O presente estudo analisou a eficácia da higienização das mesas dos consultórios e do centro cirúrgico do Hospital Veterinário do CEULP/ULBRA se está sendo efetiva com os produtos utilizados para a mesma, tendo em vista que microrganismos colonizam superfícies e podem ser prejudiciais a saúde principalmente quando se trata de pacientes com imunidade comprometida que no caso é corriqueiro na rotina do hospital.

1.1 Problema de pesquisa

A higienização feita nas mesas de atendimento e centro cirúrgico, após os atendimentos dos animais estava sendo eficaz em relação aos produtos utilizados?

1.2 Hipóteses

Os produtos não foram eficazes na realização da higienização feita após o atendimento dos animais;

Os produtos foram eficazes na realização da higienização feita após o atendimento dos animais.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

Caracterizar macro e microscopicamente as colônias de bactérias das mesas dos consultórios e cirúrgica do hospital veterinário do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA).

1.3.2 Objetivos específicos

- a) Identificar se há presença de bactérias nas superfícies das mesas de atendimento dos consultórios pós-atendimento, do hospital veterinário do CEULP/ULBRA.
- b) Identificar se há presença de bactérias nas superfícies das mesas dos centros cirúrgicos pós-procedimentos, do hospital veterinário do CEULP/ULBRA.

c) Destingir se os microrganismos encontrados nas superfícies das mesas dos consultórios e dos centros cirúrgicos em Gram positivos ou Gram negativos, do hospital veterinário do CEULP/ULBRA.

d) Propor melhorias na forma de descontaminação nas superfícies dos consultórios e dos centros cirúrgicos, do hospital veterinário do CEULP/ULBRA.

1.4 Justificativa

A relevância da presente pesquisa constitui-se em podermos observar se ocorreu à presença de bactérias nas mesas de atendimentos dos consultórios e centro cirúrgico do Hospital Veterinário do CEULP/ULBRA e se a forma e os produtos utilizados na limpeza após os atendimentos foram efetivos, nos possibilitando melhorias na forma como serão efetuados e contribuindo com a atenuação da frequência da propagação das infecções.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Microrganismos

De acordo com Tortora, Funke e Case (2012), os microrganismos são seres tão pequenos que se torna impossível serem visualizados a olho nu. Neste grupo incluem os fungos, bactérias, algas microscópicas e os protozoários, os vírus que são acelulares também são considerados microrganismos.

Segundo Nóbrega e Bossolan (2010), por muito tempo apenas estes seres habitavam a terra por volta de 3 bilhões de anos. Foram encontrados em rochas com aproximadamente 3,5 bilhões de anos fósseis desses seres.

Há um sistema de classificação criado por Lineu, onde Carvalho e Guimarães (2011), relatam que o aperfeiçoamento feito por outros estudiosos a partir do ano de 1969, onde a classificação dos seres vivos passa a ser dividida em cinco reinos que são: os dos animais, das moneras, fungos, plantas e protistas. As bactérias e cianobactérias pertencem ao grupo do reino monera.

Conforme Godoy e Ogo, (2012), todos os seres vivos tem algo em comum, pois são todos formados por células, no entanto se observando uma bactéria, animal ou vegetal consegue-se notar várias outras diferenças quando se diz respeito ao tamanho e aparência.

Segundo Tortora, Funke e Case (2012), desde o momento que nascemos até a nossa morte nós vivemos em um mundo repleto de microrganismos, até mesmo em nosso corpo já que eles compõem nossa microbiota normal e podem ser benéficos. Há microbiotas normais que chegam a nos proteger de doenças impedindo o crescimento de microrganismos nocivos, já outras produzem substâncias úteis. Porém dependendo das condições a microbiota normal pode nos fazer adoecer e até mesmo repassar para pessoas que mantemos contato.

Para corroborar sobre a presença de microrganismos nos seres vivos, Madigan, et al. (2010), alega que os mamíferos em seu desenvolvimento intrauterino permanecem em um ambiente estéril e só a partir do nascimento a colonização e o crescimento de microrganismos inicia-se a medida que somos expostos aos mesmos.

Conforme Tortora, Funke e Case (2012), a maioria dos microrganismos podem ser benéficos aos vegetais e animais. Elementos químicos essenciais para a manutenção da vida e abundantes na natureza como o nitrogênio, carbono, enxofre, oxigênio e fósforo, não podem ser utilizados pelos seres vivos nesta forma, portanto os microrganismos são responsáveis por essa importante conversão, tornando possível a utilização.

2.1.1. Bactérias

As bactérias têm em sua composição células procariotas, vista como um tipo de célula morfolologicamente simples, porém com um metabolismo (conjunto de processos que acontecem no interior das células) tão diversificado e complexo como em uma célula eucariota. Bactérias são células autotróficas (cianobactérias) e heterotróficas (SILVA e SOUZA, 2013).

Os autores Carvalho e Guimarães (2011), relatam que bactérias são unicelulares e procariontes, significando que são compostas por uma célula apenas e também não possui membrana que envolve o material genético e o separa do restante da célula. O envoltório das células das bactérias é bem resistente e denomina-se parede celular permitindo que esse ser se adapte aos mais variados meios, como a água, solo e até mesmo parasitando outros organismos.

As células bacterianas podem apresentar várias formas, tais como: Bacilos (em forma de bastão), cocos (esféricos ou ovoides) e os espirilos (em forma de saca-rolha ou curvados), que são as formas mais comuns. Também, podem apresentar forma de estrela ou quadrada. Podem formar pares, cadeias, grupos ou outros agrupamentos (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Conforme Silva e Souza (2013), grande parte deste grupo se reproduz por forma assexuada por fissão binária transversa, onde a partir da célula mãe se dá origem a duas células filhas idênticas. Podendo haver troca de material genético entre elas se houver compatibilidade, isso ocorre com desencadeamento de alguns processos chamados de conjugação (elas irão trocar materiais genéticos utilizando suas fimbrias ou pili sexual que são encontrados na superfície da célula), transformação (processo ao qual ela absorve material genético que estão circulando no meio onde ela vive) e transdução (onde vírus são usados como vetores para transferir as moléculas de DNA de uma bactéria para outra).

Ladeia e Royer (2014), afirmam que é normal relacionar as bactérias com doenças como, por exemplo, pneumonia, tétano, tuberculose, entre outras e também a decomposição dos alimentos que se tornam prejudiciais à saúde. É pouco conhecido que pequena parte desses microrganismos são nocivos a saúde e que são indispensáveis à biosfera ajudando com a manutenção de nossos organismos e com o equilíbrio da estrutura química do planeta.

Segundo Silva e Souza (2013), os gêneros e espécies mais estudados e conhecidos das bactérias incluem: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Streptococcus*, *Lactobacillus C. perfringens*, entre outros.

2.2 Meios de cultura mais utilizados

O caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) é usado na recuperação de microrganismos fastidiosos ou não, incluindo também bactérias aeróbicas e anaeróbicas e os fungos. O princípio de ação do caldo BHI que possui em sua formulação peptona e infusão cérebro-coração que irão servir de fonte de nitrogênio, carbono, vitaminas e enxofre. A glicose é um carboidrato que os microrganismos utilizam para fermentação. É um meio rico e utilizado para o crescimento de microrganismos exigentes como as enterobactérias, estreptococos, pneumococos, leveduras, fungos e não fermentadores (CALDO BHI, 2010).

Conforme Martinez; Tadei (2005), a eleição do meio de cultura que será utilizado, para o isolamento é determinado pela suspeita do patógeno bacteriano. O isolamento de rotina de vários patógenos envolve inoculação em placas de ágar MacConkey e ágar Sangue, em seguida de incubação por 24 até 48 horas. Fatores determinantes como a temperatura e a atmosfera (atm) estão intimamente ligados ao sucesso no isolamento e em seguida a identificação do microrganismo. Normalmente a temperatura de incubação usada para a grande maioria dos microrganismos é em torno de 36 até 37 °C. Quanto à atm, algumas bactérias necessitam cinco ou 10% de CO₂ no ar, algumas são microaerófilas ou anaeróbias estritas.

Araújo (2010) discorre sobre os microrganismos que necessitam de fontes de carbono, de energia, fontes de sais minerais, fatores de crescimento (vitaminas e outras substâncias), água. Estas substâncias são oferecidas a partir de fatores inorgânicos e/ ou orgânicos. Primeiramente o meio de cultura tem que ser o mais parecido das condições normais onde habita o microrganismo, para que ele cresça corretamente. Existem microrganismos que consegue crescer em variados meios de cultura, outros apenas em meios especiais.

Um meio de cultura utilizado para o crescimento de bactérias gram negativas é o Ágar MacConkey. Isso acontece, pois ele traz em sua composição duas substâncias que irá inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas: cristal violeta e ácido biliar. Sendo assim, ele proporcionará apenas o crescimento de bactérias Gram-negativas este meio é utilizado para o crescimento de membros da família da *Pseudomonas aeruginosa* e Enterobacteriaceae. Assim, para diagnóstico, este é o meio de maior preferência para isolar *Enterobactérias* e *Pseudomonas* (ANVISA, 2004).

As colônias que se apresentam mucoide cor de rosa e grandes são sugestivas de *Enterobacter spp*, já as *Pseudomonas spp* são colônias irregulares, incolores ou cor de rosa e dimensão variável (ÁGAR MACCONKEY 2018). Já as colônias de *Escherichia coli* para Quinn et al. (2005) se apresentam na cor rosa em ágar MacConkey. As colônias em meios

nutrientes sólidos em placa apresentam cerca de um a três mm de diâmetro, podendo apresentar as formas lisas e rugosas, mas podem existir também colônias com características intermediárias e mucóides. As colônias lisas são convexas e brilhantes, possuem bordos regulares, enquanto as rugosas apresentam aspecto e aparência grosseiros e contornos irregulares. (QUINN et al. 2005; BERCHIERI JUNIOR et al. 2009).

A bula do Ágar Manitol (2010) diz que o meio favorece o crescimento de bactérias estafilococos, sendo mais utilizado para isolamento de *Staphylococcus aureus*. Sendo um meio de cultura especial, é um meio salino com indicador do pH que altera sua cor quando acontece o processo de fermentação e a produção de ácido, possui 7,5% de cloreto de sódio, que inibe completamente ou parcialmente o crescimento de outras bactérias que não são os estafilococos e contém peptonas e extrato de carne bovina, que oferecem nutrientes essenciais para o seu crescimento. A fermentação do manitol resulta na alteração do indicador do pH vermelho de fenol o que ajuda na diferenciação das espécies de estafilococos.

O princípio de ação da degradação do meio manitol se dá pela produção de ácido mudando a cor do meio de rosado para amarelo, as colônias que se formam de *Staphylococcus* não patogênicos são geralmente de tamanho pequeno e rodeadas de uma zona vermelha. As colônias de *Staphylococcus aureus* patogênicas ou fermentadores do manitol são maiores e rodeadas de uma zona amarela (KONEMAN; CURY, 2001).

2.3 Métodos de identificação dos microrganismos por coloração de Gram

As preparações coradas têm permitido o início de uma observação em microscópico. Como o material celular e os microrganismos são regularmente transparentes e podem ser mais bem visualizados e distinguidos com o uso de corantes, existem vários tipos de montagens para visualização direta de amostras clínicas como a lamínulas, a fresco, entre lâminas que nos mostram motilidade, morfologia e composição celular (MARTINEZ; TADEI, 2005; TORTORA et al. 2003).

No momento podemos relatar dois tipos de métodos gerais que são utilizados para o preparo de espécimes microbiológicos para observarmos através de um microscópio luminoso. O primeiro emprega uma suspensão de microrganismos vivos em alguma camada líquida ou em uma gota. No segundo a camada fina de espécime precisa ser secada e corada em seguida, deste modo os microrganismos se fixam à superfície e possibilita a visualização através de sua cor (PELCZAR JR et al. 2005).

De acordo com Martinez; Tadei (2005) a coloração de Gram foi criada em 1884 pelo dinamarquês Hans Christian Gram. A coloração de Gram é procedimento bem útil, pois através dele conseguimos classificar as bactérias em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas (TORTORA et al. 2003).

Os microrganismos Gram-positivos são aqueles que retêm o corante cristal violeta devido ao aumento na quantidade de ácido teicoico e a diminuição da permeabilidade na parede celular aos solventes orgânicos, por conterem menos lipídeos na parede celular. A parede das bactérias Gram-negativas apresenta grande quantidade de lipídeos, que aumenta a permeabilidade aos solventes orgânicos, permitindo a descoloração. Estes microrganismos perdem, portanto, o cristal violeta, corando-se com o corante de fundo, como a fucsina (MARTINEZ; TADEI, 2005, QUINN et al. 2005).

Este espectro consegue incluir basicamente todas as bactérias, vários fungos e parasitas, como por exemplo, *Trichomonas*, *Strongyloides* e cistos de diversos protozoários. Temos exceções que incluem o *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Treponema* e *Rickettsia* que são muito pequenos para serem visualizados pela microscopia óptica de luz direta ou quando perderam a parede (ANVISA, 2004).

Segundo Tortora et al. (2003), no procedimento de coloração o calor fixa um esfregaço e é recoberto por um corante básico púrpura, normalmente a violeta genciana que embebe todas as células, iniciando a coloração primária. Após um pequeno período, o corante púrpura é levado em água corrente rapidamente e o esfregaço é recoberto com iodo, novamente a lâmina é lavada e com a retirada do iodo, ambas as bactérias gram-negativas e gram positivas são vistas na cor violeta, a seguir a lâmina é introduzida no álcool ou em uma solução de álcool-acetona, ocorrendo a descoloração das bactérias gram-negativas que possuem uma espessa camada de lipídios se tornando permeável permitindo que haja a descoloração. O álcool precisa ser lavado e a lâmina passa pela coloração com um corante básico vermelho, permitindo a coloração das colônias que se encontravam sem cor e novamente o esfregaço é lavado.

2.4 Características das colônias

2.4.1 Macroscópicas

As características macroscópicas são aquelas que podemos enxergar a olho nu, essas colônias podem ser classificadas de acordo com: Tamanho que pode atingir até 10 mm; suas bordas que podem apresentar-se como lisas, onduladas, filamentosas ou lobuladas;

Pigmentação, podendo ou não apresentar cores; Elevação que as classificam como: convexas, chatas, côncavas, elevada, protuberante ou ondulada; e a forma podendo ser irregular, circular, rizoide, puniforme ou filamentosa (SILVA E SOUZA, 2013).

2.4.2 Microscópicas

Embora existam milhares de espécies de bactérias podemos agrupa-las em três tipos morfológico: cocos, bacilos e espiralados. Os cocos tomam denominações diferentes de acordo com o seu arranjo (VIEIRA E FERNANDES, 2012).

A maioria dos bacilos apresenta-se isolados, podendo formar-se em diplobacilos e estreptobacilos, ou ainda podem apresentar-se em formato de cocobacilo. As bactérias espirais possuem uma ou mais curvaturas. A forma que é semelhante a uma "vírgula" é denominada vibrião. Outra forma é espirilo, que possuem forma helicoidal. Aquelas que se apresentam em forma de espiral são denominadas de espiroquetas (REIS E SANTOS, 2016).

2.5 Higienização de superfície

De acordo com Martins et al. (2016), é conhecido como higienização ou limpeza hospitalar o processo que compreende em remover a sujidade de superfícies inanimadas.

O ambiente hospitalar é classificado em três áreas sendo elas: área crítica onde ficam os pacientes mais graves, imunologicamente deprimidos e há um maior número de procedimentos invasivos que podem gerar maiores riscos de infecção, área semi crítica: onde há paciente internado sendo o risco de infecção menor e área não crítica: são todas as áreas onde não há risco nenhum de infecção e que não existem pacientes (VRANJAC, 2019).

Martins et al. (2016), relata que a higienização só é alcançada através de procedimentos de descontaminação, desinfecção e/ou limpeza. Limpeza é definida como remoção de toda sujidade de superfícies ou ambiente, os processos são efetuados com auxílio de água, uso de detergente e também ação mecânica manual.

Conforme ANVISA (2010), para que a limpeza ocorra de forma correta e eficaz, torna-se indispensável o uso de produtos saneantes, como por exemplo, os sabões e detergentes sempre na diluição recomendada. Já em locais onde há presença de matéria orgânica é imprescindível a utilização de produtos de outra categoria conhecidos como desinfetantes.

Ricci et al. (2010), relata que entre os principais produtos que são utilizados para limpeza de superfícies estão os álcoois, entre os serviços de saúde os principais desinfetantes

usados são os álcoois etílicos e o isopropílico que podem ser empregados em superfícies ou artigos através da fricção. Compostos inorgânicos como hipocloritos de sódio, cálcio e de lítio são indicados para desinfetar superfícies fixas, porém são inativados na presença de matéria orgânica.

A desinfecção é a destruição de microrganismos patogênicos em sua forma vegetativa que se encontra em artigos ou superfícies, após a superfície previamente limpa se aplica a solução germicida. Segundo Graziano et al. (2013), a contaminação microbiana de superfícies tocadas pelas mãos de profissionais da saúde, deve ser eliminadas através de métodos seguros já que na maioria das vezes ocorre negligência na higienização das mãos método este que ajudaria na quebra do ciclo de transmissão do reservatório até o hospedeiro (o paciente) podendo haver infecção cruzada na execução de procedimentos assistenciais.

A descontaminação é a aplicação da solução desinfetante diretamente sobre o agente contaminante ocorre à remoção de materiais orgânicos presentes na superfície (MINISTÉRIO DA SAÚDE et al. 1994). Segundo Graziano et al. (2013), a orientação clássica de um método seguro para descontaminar superfícies consiste na limpeza prévia do lugar antes da aplicação do agente microbicida como, por exemplo, o álcool 70%, que é o germicida mais utilizado por sua disponibilidade e acessibilidade de valor.

A remoção mecânica é de suma importância na retirada de sujidades para que não ocorra somente a passagem de pano úmido técnica a qual ajuda a espalhar a sujeira a escolha das técnicas de limpeza e desinfecção está diretamente relacionada ao tipo de superfície a ser higienizada e a quantidade e o tipo de matéria orgânica presente (ASSAD et al. 2012).

3 METODOLOGIA

Esta pesquisa tem como objetivo analisar a microbiota das mesas dos consultórios e centro cirúrgico do Hospital Veterinário do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA) para verificar se o procedimento de higienização foi eficaz durante o período avaliado. O estudo foi executado por meio de pesquisa básica laboratorial.

3.1 Coletas das amostras

As coletas das amostras ocorreram no Hospital Veterinário do CEULP/ULBRA localizado no município de Palmas TO. Após a autorização do responsável pelo estabelecimento, foram selecionadas as áreas do hospital as quais passariam pelas coletas e análises microbiológicas. Assim foram escolhidas as mesas de atendimento veterinário dos consultórios, bem como as mesas dos centros cirúrgicos.

Nas mesas foram realizadas as coletas após o atendimento e a higienização habitual das superfícies, desse modo, as amostras foram colhidas com auxílio de swab estéril umedecido com solução salina, por meio de fricção nas áreas a serem amostradas, com movimentos na horizontal e na vertical da esquerda pra direita. O procedimento foi realizado durante 8 (oito) dias no setor de consultórios, sendo coletado 1 (uma) amostra por dia, e no setor do centro cirúrgico ocorreu por 4 (quatro) dias também com 1(uma) amostra por dia. Assim, foi totalizado um número de 12 (doze) amostras. As amostras controles foram coletadas antes da higienização das mesas de atendimento e centro cirúrgico apenas no primeiro dia, totalizando em duas amostras.

Após a coleta, as amostras foram identificadas e armazenadas em caixa de isopor com gelo comercial, de forma a não sofrerem alterações e encaminhado ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA) para realização das análises.

3.2 Inoculações das amostras

Em condições laboratoriais, os *swabs* usados nas amostragens foram utilizados para inocular tubos de ensaio de 20 ml, contendo caldo BHI (*Brain Heart infusion*) e incubados em estufa bacteriológica a 37° C, durante 24 horas. Após esse período, as amostras dos tubos de ensaio foram utilizadas para semear os meios de cultura Manitol e MacConkey, que foram

posteriormente incubados a 37° C, durante 24 horas. Após isto foi realizado a identificação das colônias com as características macroscópicas e microscópicas através da coloração de Gram.

O meio manitol foi escolhido por ser um meio de cultura frequentemente utilizado para o isolamento de *Staphylococcus aureus*; o meio MacConkey devido ser um meio seletivo para enterobactérias destinado à detecção, isolamento, contagem de coliformes e patógenos intestinais.

3.3 Caracterizações morfológicas dos microrganismos

Após o período de incubação as placas foram inspecionadas e realizadas a caracterização macroscópicas das colônias, com o objetivo de observar alguns aspectos como: cotonoso, pulverulento, coreáceo, pastoso, coloração no meio de cultura, forma e brilho.

Depois se realizou análise microscópica para distinguir colônias cujo aspecto era duvidoso entre “bactéria” e “levedura”. Assim, os microrganismos foram macro e microscopicamente caracterizado e posteriormente classificado em grupos morfológicos.

Para a realização da classificação das bactérias foi feito a Coloração de Gram, porém foram selecionadas apenas as placas no qual foi possível obter colônias isoladas, totalizando em 12, para assim separa-las em gram positiva ou negativa. Então, a partir das colônias que cresceram em Ágar Manitol, foram selecionadas as que apresentaram coloração amarelo. Já para as que cresceram no meio Agar MacConkey, foram as colônias de cor rósea.

4 RESULTADOS

Foi realizada a amostragem dos consultórios após o atendimento e a higienização habitual das superfícies com álcool a 70%, utilizando *swab* estéril, umedecido em solução salina, por meio de fricção nas áreas a serem amostradas com movimentos na horizontal e vertical da esquerda pra direita. As coletas das amostras ocorreram durante o mês de setembro de 2019, assim foram realizadas nos consultórios uma coleta por dia. Já a coleta realizada no centro cirúrgico, foi feita após higienização com hipoclorito de sódio e álcool 70% no decorrer de quatro dias contabilizando uma amostra ao dia. As amostras controles foram coletadas após o atendimento dos animais e antes da higienização de rotina.

Com relação à contagem global de colônias não foi possível realizar a contagem das colônias nos meios devido à multiplicação intensa, analisou-se apenas as características macroscópicas das mesmas, no qual se observou que resultados nas amostras inoculadas no meio Macconkey, houve crescimento de microrganismos apenas na amostra sete, somente no meio Manitol houve crescimento em seis amostras inoculadas. Na Tabela 1, é apresentada a identificação das características macroscópicas das bactérias nos respectivos meios de cultura seletivos.

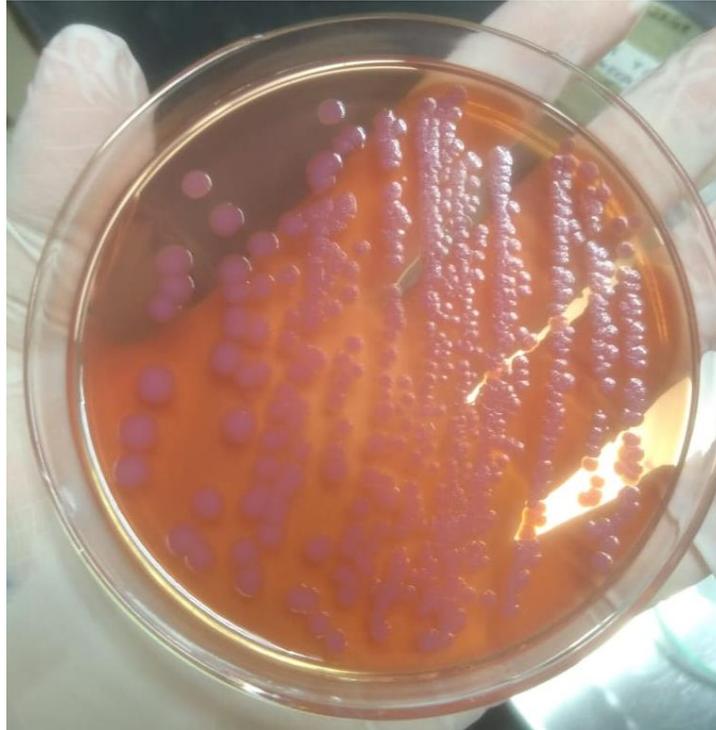
Tabela 1 – Identificação das bactérias dos consultórios presumida a partir da análise de características macroscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.

Meio Cultura	Amostras dos Consultórios	Características Macroscópicas
MacConkey	Amostra controle	Aspecto: Circular; Elevação: Elevada; Margem: regular; Cor: Rósea.
	1	Não houve crescimento
	2	Não houve crescimento
	3	Não houve crescimento
	4	Não houve crescimento
	5	Não houve crescimento
	6	Não houve crescimento
	7	Forma: Circular; Elevação: Plana; Margem: Regular; Cor: Rósea.
Manitol	Amostra Controle	Aspecto: Brilhante; Elevação: Plana; Margem: lisa; Cor: Amarela.
	1	Aspecto: Brilhante; Elevação: Plana; Margem: lisa; Cor: Amarela.
	2	Aspecto: Brilhante; Elevação: Convexa; Margem: Lisa; Cor: Amarela.
	3	Aspecto: Brilhante; Elevação: Convexa; Margem: lisa; Cor: Amarelo.
	4	Aspecto: Brilhante, Elevação: Plana; Margem: Regular; Cor: Amarelo.
	5	Aspecto: Brilhante; Elevação: Convexa; Margem: Lisa; Cor: Amarela.
	6	Aspecto: Brilhante; Elevação: Plana; Margem: lisa; Cor: Amarela.
	7	Não houve crescimento

É possível observar na Tabela 1, as características de crescimento das colônias nos meios utilizados quanto à aspecto, elevação, margem e cor das colônias.

É possível observar que, nos consultórios houve crescimento no meio manitol com coloração amarela, elevação plana, margens circulares e aspecto brilhante. Verifica-se crescimento somente na amostra controle e amostra sete inoculada no meio MacConkey, apresentando-se com coloração rósea, brilhante.

Figura 1 – Ágar MacConkey, com 24 hr de incubação à 37° graus apresentando colônias róseas, brilhantes com bordas lisas.



Fonte: Arquivo próprio.

Com relação a contagem global das colônias nas amostras coletas no centro cirúrgico, também apresentaram, como resultados, quantidades incontáveis nos meios de cultura utilizados, devido intenso crescimento. Com isso, observou-se apenas o aspecto macroscópico das mesmas nos respectivos meios de cultura seletivos, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2 – Identificação das bactérias do centro cirúrgico presumido a partir da análise de características macroscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.

Meio Cultura	Centro Cirúrgico	Características Macroscópicas
Manitol	Amostra Controle	Aspecto: Brilhante; Elevação: Plana; Margem: lisa; Cor: Amarela.
	1	Não houve crescimento
	2	Aspecto: Brilhante; Elevação: Plana; Margem: lisa; Cor: Amarela.
	3	Aspecto: Brilhante; Elevação: Plana; Margem: lisa; Cor: Amarela

Nas análises macroscópicas realizadas através das amostras do centro cirúrgico podemos verificar que não houve colonização em nenhuma amostra inoculada no meio

MacConkey, apresentando somente no meio Manitol na amostra controle e amostras dois e três com coloração amarela, elevação plana, margens circulares e aspecto brilhante.

Figura 2 – Ágar Manitol, com 24 hr de incubação à 37° mostrando o padrão de crescimento das colônias como brilhantes e amarelas.



Fonte: Arquivo próprio.

As análises microscópicas que foram realizadas através da Coloração de Gram permitiu classifica-las em Gram positivas ou negativas, como consta na Tabela 3 e 4, apresentando as características das bactérias coletadas nos consultórios e no centro cirúrgico respectivamente. Esta se baseou nas características incluindo a forma de agrupamento, cocos ou bacilos das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.

Tabela 3 – Identificação das bactérias dos consultórios presumida a partir da análise de características microscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.

Meio Cultura	Consultório	Características Microscópicas
MacConkey	Amostra Controle	Cocos Gram Negativos
	1	Não houve crescimento
	2	Não houve crescimento
	3	Não houve crescimento
	4	Não houve crescimento
	5	Não houve crescimento
	6	Não houve crescimento
	7	Cocos Gram Negativos
Manitol	Amostra Controle	Cocos Gram Positivos
	1	Cocos Gram Positivos
	2	Cocos Gram Positivos
	3	Cocos Gram Positivos
	4	Cocos Gram Positivos
	5	Cocos Gram Positivos
	6	Cocos Gram Positivos
	7	Não houve crescimento

Na Tabela 4, apresenta-se apenas o resultado das amostras inoculadas no meio Manitol, pois somente nesse meio houve crescimento para as amostras semeadas do Centro cirúrgico do Hospital Veterinário.

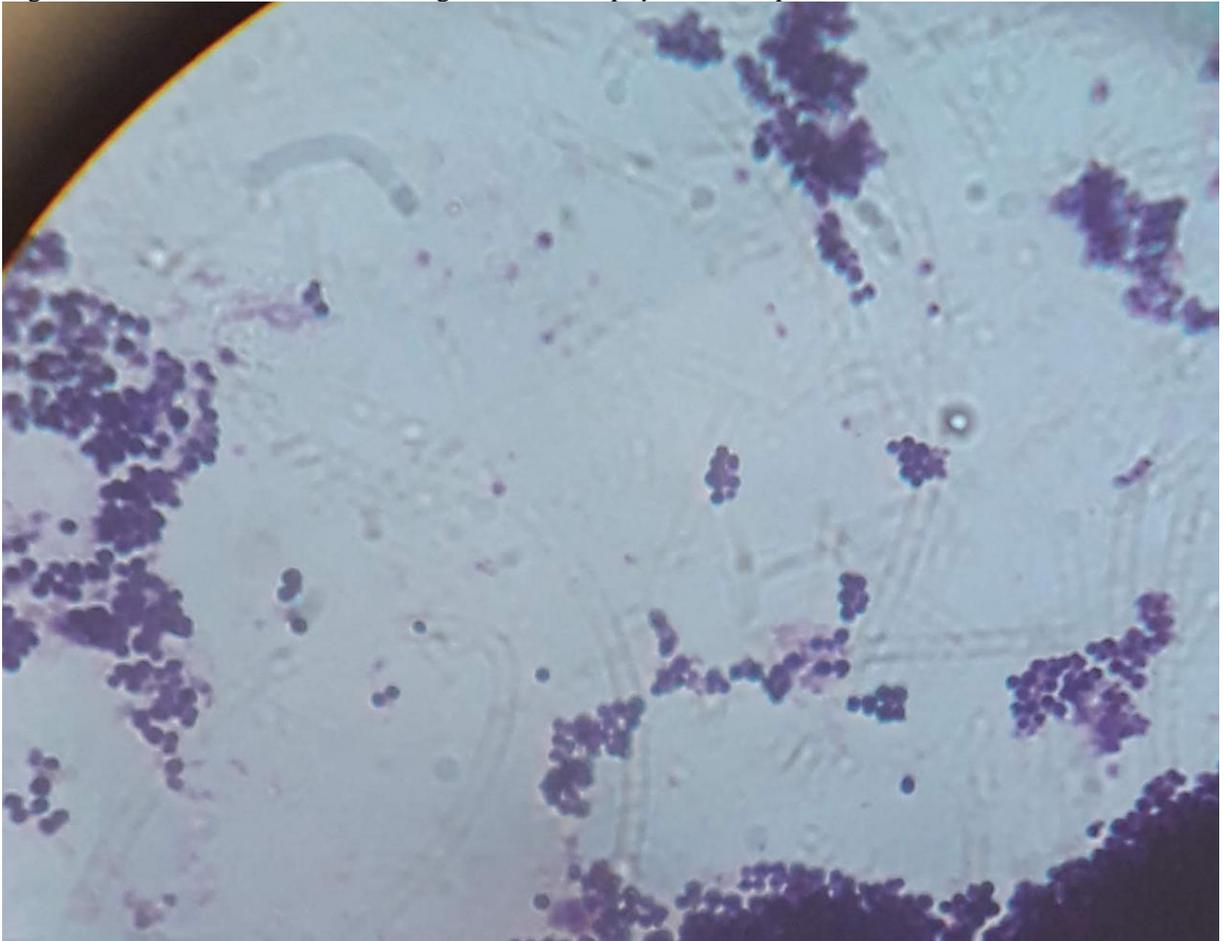
Tabela 4 – Identificação das bactérias do centro cirúrgico presumido a partir da análise de características microscópicas das colônias nos respectivos meios de cultura seletivos.

Meio Cultura	Centro Cirúrgico	Características Microscópicas
Manitol	Amostra Controle	Cocos Gram Positivos
	1	Não houve crescimento
	2	Cocos Gram Positivo
	3	Cocos Gram Positivos

No Ágar macconkey verificamos crescimento apenas em duas amostras do consultório sendo na amostra controle e a de número sete. No meio Manitol houve crescimento de todas as

amostragens coletadas nos consultórios se apresentando em cor amarela, brilhante e borda lisa, bem como cocos gram positivo. Já no centro cirúrgico as amostras semeadas no meio macconkey não foram detectadas nenhum crescimento em nenhuma das quatro amostragens, e no manitol houve crescimento nas amostras dois e três.

Figura 3 – Cocos Gram Positivos, sugestivos de *Staphylococcus sp.*



Fonte: Arquivo pessoal.

Como previamente mencionado, essa análise foi presumida a partir das características macro e microscópicas dessas bactérias, bem como pela coloração de Gram. Para a confirmação dos resultados seria necessário a realização de provas bioquímicas ou até mesmo ensaios envolvendo biologia molecular para se obter uma taxonomia acurada.

5 DISCUSSÃO

A literatura revela que a contaminação cruzada ocorre devido a objetos possivelmente contaminados por estarem em contato com várias pessoas propagando assim infecções, que para saúde pública é um ponto crítico principalmente para organismos imunocomprometidos. Desse modo fica claro a ocorrência de uma íntima ligação entre infecções e as superfícies contaminadas, sendo as mãos o veículo que transfere os microrganismos adquiridos dos objetos para o interior do organismo (BONATO et al. 2007). O presente trabalho investigou a contaminação microbiana de mesas de atendimento e centro cirúrgico veterinário.

Durante o mês de setembro de 2019 foram coletadas 12 amostras para a presente pesquisa, sendo oito dos consultórios no qual coletou-se uma por dia, bem como quatro do centro cirúrgico, pois a rotina era menor. A coleta procedeu-se com auxílio de *swab estéril* e inoculadas em caldo BHI. A metodologia de coleta foi semelhante à realizada por Santos et al. (2007), no qual para avaliação da eficácia da higienização antes e após a limpeza e desinfecção dos ambulatorios utilizou-se a técnica de fricção de *swabs* nas superfícies. Os pontos de coleta foram: mesas de atendimento aos animais, pias de aço inoxidável e mesas de trabalho dos veterinários.

Segundo Graziano et al. (2013), a orientação clássica de um método seguro para descontaminar superfícies consiste na limpeza prévia do lugar antes da aplicação do agente microbicida como, por exemplo, o álcool 70%, que é o germicida mais utilizado. Foi observado durante a execução da pesquisa que a limpeza das mesas dos consultórios destinada a atendimentos dos animais eram limpas após a consulta com álcool 70% lançado diretamente sobre a mesa e retirado com papel toalha, e no centro cirúrgico é realizado a limpeza prévia apenas na presença de matéria orgânica.

É interessante ressaltar que os tempos de contato do produto com a superfície a ser higienizada nos hospitais normalmente são inferiores aos recomendados, por causa do elevado número de atendimentos e do reduzido período entre as consultas. Para solucionar a baixa eficácia dos produtos utilizados devem-se utilizar os tempos mínimos de contato para ação dos produtos conforme recomendação do fabricante (SANTOS et al. 2007). Durante a pesquisa foi observado que não foi respeitado o período mínimo de ação dos agentes de limpeza devido a rotina dos atendimentos.

Conforme Amorim et al. (2010), para que a limpeza ocorra de forma correta e eficaz, torna-se indispensável o uso de produtos saneantes, como por exemplo, os sabões e detergentes sempre na diluição recomendada. Já em locais onde há presença de matéria orgânica é

imprescindível a utilização de produtos de outra categoria conhecidos como desinfetantes. A ANVISA (2010) orienta também realizar limpeza com sabão ou detergente na superfície a ser desinfetada, com o auxílio de panos de mobília, após limpeza do mobiliário, realizar a fricção com álcool a 70% ou outro desinfetante definido pelo SCIH. Na presente investigação as superfícies eram desinfetadas sem previa limpeza, fato esse que pode ter contribuído para o intenso crescimento de microrganismos nos meios de cultura seletivos utilizados.

O teste de eficácia de desinfetantes realizado com as bactérias isoladas do ambiente do Hospital Veterinário de Passo Fundo (HV-UPF) demonstrou que o hipoclorito de sódio foi ineficaz contra todas as bactérias testadas, pois era diluído no momento do uso, de forma empírica, permitindo assim a contaminação cruzada para os demais ambientes, equipamentos e instalações. Com relação ao álcool 70% se mostrou ineficaz contra a *Enterobacter agglomerans* e *S. epidermidis* com trinta segundos de tempo de contato. A amônia quaternária 3,5% foi ineficaz contra a *E. coli* nos tempos de trinta segundos, um e cinco minutos, e a *Pseudomonas aeruginosa* após trinta segundos de contato (SANTOS et al. 2007).

Merianos (1991) corrobora que a eficácia de alguns produtos em destruir células bacterianas depende de fatores como a concentração do desinfetante, a natureza e densidade da célula bacteriana, tempo de contato, temperatura do meio, o pH e a presença de matéria orgânica. Nas amostragens do centro cirúrgico podemos observar crescimentos sugestivos de algumas bactérias, esta contaminação pode ter ocorrido por alguns fatores, como por exemplo, a pessoa que realizou a limpeza, enfatizando que cada pessoa executa a limpeza de sua forma, as diluições dos produtos também são influenciadores de eficácia, pode ocorrer diferenciação se os produtos sofrem alternância na ordem que são aplicados.

No trabalho realizado por Simch et al. (2018), identificaram a microbiota presente em superfícies hospitalares de um Centro de Material Esterilizado (CME) antes e depois da higienização, nos resultados obtidos perceberam que, antes da higienização houve crescimento microbiano em todas as superfícies, já após a higienização não houve crescimento em duas superfícies apenas, na abertura da torneira de metal e no frasco de detergente. No presente estudo podemos verificar que o maior crescimento também ocorreu antes da higienização das superfícies no qual correspondeu a amostra controle.

De acordo com um trabalho semelhante realizado por Silva et al. (2012), bactérias identificadas como coco Gram positivas foram submetidas ao teste de catalase, as que tiveram resultado como catalase positivas, foram inicialmente classificadas como *Staphylococcus spp.* No presente estudo realizamos coloração de Gram para caracterização microscópica das

colônias e também baseado nas características teve como sugestivo cepas de *Staphylococcus sp.*, porém para confirmação se faz necessário a realização de provas bioquímicas.

Moreira et al. (2018), identificaram uma grande variedade de gêneros bacterianos circulantes em ambiente hospitalar veterinário. Dentre as principais espécies e gêneros encontrados destacaram-se: *Staphylococcus* coagulase-negativo, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*, *Enterococcus sp.*, *Escherichia coli* e *Proteus sp.* Os microrganismos sugestivos na presente pesquisa corroboram com os resultados do estudo acima, no qual as colônias que se formaram no meio de cultura macconkey, conforme suas características rósea, regulares e bacilos Gram negativas são sugestivas de *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp* ou *Escherichia coli*. No meio manitol o crescimento se apresentou de cor amarela, brilhante e borda lisa, bem como cocos Gram positivo, que é sugestivo de *Staphylococcus*.

As bactérias isoladas do ambiente do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo foram *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* e *Arcanobacterium pyogenes* (SANTOS et al. 2007). Dados semelhantes aos encontrados no presente estudo, onde sugerimos a presença de *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli* e *Enterobacter sp.*

Os *Staphylococcus* são encontrados naturalmente nas mucosas do trato respiratório, urogenital e digestivo de seres humanos e animais mesmo sendo considerada parte da flora natural dos seres, em algumas condições podem tornar-se patogênicos e causar uma ampla variedade de infecções. (GELATTI et al. 2009) As doenças provocadas por *Staphylococcus* vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras) (SANTOS, 2007). Dentre as espécies de estafilococos, *Staphylococcus aureus* é considerado um importante patógeno transmitido por alimentos e causador de doenças transmitidas entre seres humanos e animais, incluindo infecções da glândula mamária, também conhecidas como mastites (LEE et al. 2012)

As *pseudomonas* pertencem a microbiota normal das superfícies da pele de humanos e animais e plantas (FUENTEFRÍA et al. 2008) também podem ser encontradas em ambientes hospitalares (FILE et al. 1995), raramente causa infecções em indivíduos saudáveis pois possui papel patógeno oportunista (POLLACK 2000). Em um estudo realizado por Souza et al. (2005) observou-se a prevalência de *Pseudomonas aeruginosa* em 17,07% dos otopatas, revelando a importância desse microrganismo nas infecções otológicas. Seol et al. (2002), ao estudarem a

sensibilidade in vitro de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* observaram que mais da metade eram provenientes de cães Cocker Spaniel.

A *Escherichia coli* é um microrganismo comensal, presente no intestino de mamíferos e aves (FERREIRA & KNÖBL, 2009), entretanto é apontado como um dos agentes bacterianos mais frequentes em diarreias de seres humanos e animais. Além de ter grande importância nas lesões extra intestinais em aves. (ALMEIDA et al. 2013)

As enterobactérias têm sido associadas à gênese da endometrite equina, reconhecida como um dos principais problemas reprodutivos na espécie, determinando prejuízos decorrentes da queda de fertilidade, morte embrionária, aborto e descarte de animais (AGUIAR et al. 2005). Para Menezes et al. (2005) entre os microrganismos frequentes responsáveis por infecções hospitalares do trato urinário está este tipo de bactéria multirresistente, como *Enterobacter*.

6 CONCLUSÕES

Perante os resultados obtidos neste estudo conclui-se que o álcool 70% para superfícies é o produto mais indicado enfatizando o seu risco mínimo de alergias ou processo corrosivo quando em contato com a pele. Conclui-se ainda que possivelmente as amostras com crescimento de colônias podem ter sofrido influência pelo modo que foi realizado a higienização do local provocando interferências, assim também a pessoa que realiza tal procedimento e a forma que é aplicada, sendo indicada uma limpeza prévia antes da aplicação do álcool 70%. Já no centro cirúrgico além de sofrer influência pela pessoa que realiza a limpeza também pode ser as diluições dos produtos, a ordem que são aplicados, o armazenamento, a temperatura, entre outros fatores, sendo indicada limpeza prévia também e o uso de produtos saneantes, e desinfetantes principalmente na presença de matéria orgânica.

A influência que a limpeza sofre devido a pessoa que esta realizando é muito grande, após esta pesquisa percebe-se a deficiência em atitudes que melhorariam estes resultados como, por exemplo, a capacitação da equipe de limpeza em linguagem simples e de fácil entendimento para eles, visto que trata-se de uma equipe que realiza um papel com bastante importância no ambiente hospitalar e encartes nas paredes do hospital mostrando a melhor forma de realizar a limpeza também facilitaria pois tratando-se de um hospital escola várias pessoas têm acesso às áreas de atendimentos auxiliando na limpeza das superfícies.

Lembrando que é um estudo pioneiro e que testes mais específicos, como provas bioquímicas, antibiogramas, culturas podem ser realizados para identificação certa das bactérias oferecendo um diagnóstico definitivo e claro estes testes serão realizados de acordo com a disponibilidade dos laboratórios para que seja possível tal identificação.

Estudos como este nos possibilita concluir que microrganismos estão realmente interligados com a falta ou a forma incorreta de higienização e o aumento de doenças está relacionado com microrganismos patogênicos que transmitem vários tipos de doenças como a diarreia, infecção urinária, doenças de pele se aproveitando de indivíduos imunossuprimidos.

7 REFERÊNCIAS

ÁGAR MAC CONKEY, Elisa Hizuru Uemura. Pinhais/PR: Laborclin, 2018. Bula de meio de cultura.

ÁGAR SAL MANITOL, Fabrício Galvão de Brito. Contagem / MG: MBiolog, 2010. Bula meio de cultura.

AGUIAR, D.M; M.G. Ribeiro; T.E. Ueno; G. Nardi Júnior; A.C. Paes, J. Megid, F.J.P. Listoni. **Etiologia e Sensibilidade In Vitro de Microrganismos Aeróbicos Isolados de Endometrite Equina**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. São Paulo: 2005.

ALMEIDA, A. M. S; **Características Biológicas e Antigênicas de *Escherichia coli* com Ênfase aos Genes de Virulência**. Goiânia: 2013.

AMORIM E. S; REINEHR E; SILIPRANDI E. M. O; MESIANO R. A. B; **Produtos Saneantes**. 5 cáp. Brasil: 2010.

ANVISA, **Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos**. iv mod. Brasil: 2004.

ANVISA, **Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos**. iv mod. Brasil: p.17, 2004.

ANVISA, **Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos**. iv mod. Brasil: p.01, 2004.

ANVISA, **Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos**. v mod. Brasil: p.77, 2010.

ANVISA, **Produtos Saneantes**. 5 cáp. Brasil: 2010.

ARAÚJO A. S; Universidade Federal de Campina Grande Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar Unidade Acadêmica de Agronomia e Tecnologia De Alimentos. **Microbiologia de Alimentos**. POMBAL: 2010.

ASSAD, C; REINEHR, E; SILIPRANDI, E. M. O; COSTA, G; **Limpeza e desinfecção de superfície**. 7 cáp. Brasília: 2012.

BAGGIO, L. A; **Unidade Didática: “Fungos: Quem São Esses Seres tão Presentes em Nosso Cotidiano?”**. Versão On-line, 11 ed., Londrina – PR: 2013.

BONATO, B. S.; CASTRO, F. F.; C., T. C.; HELENA, R. P. G. **Oculares de microscópios podem ser veículos de contaminação?** *News Lab*, v 81 2007.

CAETANO, J. A; **Cuidado humanizado em terapia intensiva: um estudo reflexivo**. Esc. Anna Nery, 2007.

CAETANO, J.A; **Identificação de contaminação bacteriana no sabão líquido de uso hospitalar.** Rev. esc. Enferm, 2011.

CALDO BHI, Fabrício Galvão de Brito. Contagem / MG: MBIolog, 2010. Bula meio de cultura.

CARVALHO, W. L. P; GUIMARÃES, M. A. **Ciências Para o Nosso Tempo.** 7º ano. 1. ed., Curitiba: Positivo, 2011.

Escola Estadual de Educação Profissional – EEEP **MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS.** Fortaleza – Ceara: 2012.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. **Enfermidades bacterianas.** In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves.** Campinas: Facta, 2009.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. **Enfermidades bacterianas.** In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves.** Campinas: Facta, 2009.

FILE, T. M; **Na outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* ventilador – associated respiratory infections due to contaminated food coloring dye, further evidence of significance os gastrict colonization preceding nasocominal paneumonia.** Infection Control and Hospital Epidemiology, Thorofare, v.16: 1995.

FUENTEFRIA, D. P; ***Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba, v. 41, n. 5, out. 2008.

GELATTI, L.C; **Sepse por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquirida na comunidade no sul do Brasil.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba, v. 42, n. 4, Aug. 2009.

GODOY, L. P. de; OGO, M. Y. **Vontade de Saber Ciências.** 7º ano. 1. ed., São Paulo: FTD, 2012.

GRAZIANO, M. U; PINTO, F. M. G; BRUNA, C. Q. M. de; SOUZA, R. Q. de; LASCALA, C. A; **Eficácia da desinfecção com álcool 70% (p/v) de superfícies contaminadas sem limpeza prévia.** São Paulo: 2013.

JÚLIO, H. G. **Infecção na Unidade de Terapia Intensiva: Principais Fatores Causadores, Departamento Nacional de Pós Graduação e Atualização.** FACREDENTOR Formando Amigos e Profissionais, Campinas, SP. 2013.

KONEMAN, E. W; CURY, A. E. **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido.** 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

LADEIA, M. J. F; ROYER M. R. R.; **Os Desafios da Escola Pública Paranaense na Perspectiva do Professor PDE.** Paraná: 2014.

LEE, S. H. I; CAMARGO, C. H; GONÇALVES J.L; Cruz A.G., SARTORI B .T; MACHADO M. B; OLIVEIRA C. F .A; 2012. **Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates in milk and the milking environment from small-scale dairy farms of.** São Paulo, Brazil: 2012.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12.ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

MARTINEZ, M.B., TADEI, C.R. In: **Microbiologia**, TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F. 4ª Ed, São Paulo: Atheneu, 2005.

MARTINS, D. L; BARRETO, S. B de; DANTAS V. P. C. de; **Procedimento Operacional Padrão, Higienização Hospitalar**. POP/CCIH/009/ Brasil: 2016.

MENDES-GIANNINI, M. J; MELHEM, M. S. C. Fungos In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001

MENEZES J. S. da; LIMA L.S; MOREIRA B.S. de; LOIOLA C. F; CHAVASCO J. K; **Análise Microbiológica de Formigas Capturadas em Ambiente Hospitalar da Cidade de Alfenas/MG**. 2005.

MERIANOS J. J; **Quaternary ammonium antimicrobial compounds**. In: Block S.S. (Ed). *Disinfection, Sterilization and Preservation*. 4th edn. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; Secretaria de Assistência à Saúde; Departamento de Assistência e Promoção à Saúde; Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar; **Processamento de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde**. 2 ed. Brasília – DF: 1994.

MOREIRA T. S; SOUZA J. B. B; STELLA A. E.; PAULA E. M. N; **Microrganismos Isolados em Estabelecimentos Veterinários na Região Sudoeste do Estado de Goiás**. Mineiros – GO: 2018.

NOBREGA, F. G. da; BOSSOLAN, N.R.S. **Invisíveis, hóspedes e bem-vindos: os micro-organismos**. In: PAVÃO, A.C. (Coord.). **Ciências: Ensino Fundamental**. Brasília: Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, cap. 8, 2010.

PADILLA G; **Apostila das Aulas Práticas Microbiologia Básica para Farmácia**. São Paulo: p. 16, julho de 2017.

PELCZAR JR, M.J., CHAN, E.C.S., KRIEG, N.R. In: **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2ª Ed, v. 1, São Paulo: Pearson, 2005.

POLLACK, M. *Pseudomonas aeruginosa*. In: MANDELL, G.L; BERNNETT, J.E; DOLIN, R. **Principles and Practice of infectious diseases**. 5 ed. New York: Churchill Livingstone, 200.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 1ª ed. Porto Alegre: editora Artmed, 2005.

REIS A. A. da; SANTOS R. S. da; **Microbiologia básica**. Aparecida de Goiânia: Faculdade Alfredo Nasser, 2016.

RICCI R.C de; ALFREDO M. A. C; SILVA F. A. B. da; CUNHA F. M. B. de; **Manual de Boas Práticas para o Serviço de Limpeza Abordagem Técnica e Prática**. São José dos Campos São Paulo: 2010.

SANTOS E. R. D; **Material Complementar ao Livro Sistemática Vegetal I: Fungos.** Florianópolis, 2015.

SANTOS L.R; NETO J.F.S; RIZZO N. N; **Avaliação dos procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (HV-UPF).** Passo Fundo – RS, 2007.

SEOL, B.; NAGLIC, T.; MADIC, J. & BEDEKOVIC, M. **In vitro antimicrobial susceptibility of 183 Pseudomonas aeruginosa strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents** *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health.* v.49, 2002.

SILVA E. R. da; SOUZA A. S de; **Introdução ao Estudo da Microbiologia: Teoria e Prática.** EDITORA IFB Brasília–DF: 2013.

SILVA E. R; SOUZA A. S de; **Introdução ao Estudo da Microbiologia: Teoria e Prática.** EDITORA IFB Brasília–DF: p. 39, 2013.

SILVA R. R; COELHO G. D; **Fungos Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas.** São Paulo, outubro de 2006.

SILVA E. C. B. F; **Colonização pelo *Staphylococcus aureus* em profissionais de enfermagem de um hospital escola de Pernambuco.** *Rev. esc. enferm. USP* [online]. v. 46, n. 1, 2012.

SIMCH B; DRESCH F; MACIEL J. M; **Análise Microbiológica de um Centro de Material Esterilizado Hospitalar: Identificação e Resistência a Antibióticos.** *Rev.* 18 vol. Julho: 2018.

SOUZA, A. V. G; SALERNO, T; SIQUEIRA, M. G; PAES, A C & LISTONI, F. J. P; **Perfil de sensibilidade microbiana em 135 linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de cães com otite.** Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu, 2005.

TELES, F. Q; SEVERO, L . C; **Infecções causadas por fungos.** In: RODRIGUES, E. A. C. et al. **Infecções hospitalares: prevenção e controle.** São Paulo: Sarvier, 1997.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R, CASE, C. L. **Microbiologia**, 10^a. ed. Porto Alegre, Artmed, 2012.

TORTORA, G; FUNKE, B; CASE, C; **Microbiologia.** 6.ed. São Paulo: Artmed, 2003.

Vieira D. A. P; FERNANDES N.C.A; **Microbiologia Geral.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Inhumas – GO: 2012.

VRANJAC A; **Melhores práticas para Higiene e Limpeza em Ambiente Hospitalar.** São Paulo: 2019.