

MONITORAMENTO BACTERIOLÓGICO EM UM LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Rodolfo Vieira da Silva¹, Antonio Carlos Victor Canettieri²

¹Graduando 8º período de Ciências Biológicas – Bacharel (2006) – UNIVAP – Universidade do Vale do Paraíba – Unidade Villa Branca – Estrada Municipal do Limoeiro, 250, Jd. Dora – 12305-810 – Jacareí – SP; e-mail: rodolfo_vieiradasilva@yahoo.com.br

²Professor Orientador, UNIVAP – Universidade do Vale do Paraíba – Unidade Villa Branca – Estrada Municipal do Limoeiro, 250, Jd. Dora – 12305-810 – Jacareí – SP; e-mail: acanettieri@directnet.com.br

Resumo - O crescimento de microrganismos em um laboratório, assim como na natureza, é influenciado pela temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes. O presente trabalho teve como objetivo monitorar as superfícies de determinados pontos críticos num laboratório de microbiologia, assim como o ar ambiental. As superfícies foram avaliadas microbiologicamente pelo uso de placas tipo RODAC contendo o meio de cultura TSA. No monitoramento do ar, utilizou-se o aparelho RCS com placas com o meio TSA. Após a incubação das placas por 48h, realizou-se a contagem das UFC. O limite de alerta foi atingido em dois pontos (geladeira de contaminados e estufa de 30-35°C) em períodos diferentes. O limite de alerta, em relação à qualidade do ar, foi atingido no mês de novembro de 2005, qualificado como o que possuía as temperaturas mais elevadas. Reforçamos a importância da desinfecção de superfícies no ambiente de trabalho, da higienização periódica do sistema de ventilação e do cuidado com o manuseio de microrganismos pelos trabalhadores de um laboratório de microbiologia.

Palavras-chave: microbiologia, biossegurança, carga microbiana.

Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Os microrganismos estão presentes em todas as partes. São transportados por corrente aérea da superfície do solo até as camadas mais altas da atmosfera, podendo ocorrer mais abundantemente onde puderem encontrar alimentos, umidade e temperatura adequadas para seu crescimento e multiplicação. Felizmente, a grande maioria desses microrganismos é inócua ao homem (PELCZAR et al., 1980 e 1997).

Todo laboratório de microbiologia deve ter uma política de segurança documentada, contendo instruções com as medidas de segurança que o diretor e o responsável pela segurança considerem necessárias. Todos os funcionários devem conhecer os procedimentos autorizados para manipulação de microrganismos, que deve ser executada com a maior atenção, pois pode existir a liberação de uma parte deles no meio ambiente e o surgimento de várias infecções. Essa liberação pode ser totalmente acidental ou intrínseca à técnica ou ao equipamento utilizado, e mesmo o laboratorista mais cuidadoso, usando o melhor método e os equipamentos corretamente, não está imune a acidentes e erros (COLLINS, 1993). As pessoas com maior risco de contrair essas infecções são as que trabalham em laboratórios clínicos e de pesquisa. (OXOID, 2000).

A área onde são realizados testes microbiológicos de produtos médicos hospitalares

está exposta ao ambiente e deve atender aos requisitos de monitoramento de partículas viáveis, estabelecidos por procedimentos específicos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a quantidade de microrganismos viáveis no ar e em superfícies de trabalho, em um laboratório de microbiologia.

Materiais e Método

Esse estudo foi realizado em um laboratório de microbiologia, responsável por certificar a esterilidade de produtos médicos hospitalares, localizado na cidade de São José dos Campos – SP.

O monitoramento foi realizado em quatro períodos: nos meses de agosto e novembro de 2005, e fevereiro e maio de 2006 em função das estações de ano (temperaturas).

Para cada monitoramento foram utilizadas 14 placas de RODAC (*Replicate Organism Detection And Counting*) com o meio de cultura TSA (*tryptic soy Agar*, Difco) e dois *strip* para RCS (Reunter Centrifugal Sampler) devidamente identificadas.

As placas RODAC foram utilizadas para a avaliação de partículas viáveis em superfícies passíveis de toques frequentes pelos trabalhadores (em geladeiras de material esterilizado e contaminado, estufas de 30-35°C e 50-60°C, bancadas e fluxo laminar). Escolheu-se os pontos de maior movimentação, onde cada

placa foi submetida ao contato de seu meio de cultura (TSA) com a superfície através de uma leve pressão por 15 segundos. Após, a superfície avaliada foi limpa com um pano estéril umedecido em álcool 70% e as placas foram fechadas e incubadas a 30-35°C por 48h. Decorrido esse tempo, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) com o auxílio do contador de colônias.

Para o monitoramento do ar, foi utilizado o RCS com a utilização de luvas, tomando-se cuidado para não tocar no meio de cultura (TSA). O *strip* foi retirado de sua embalagem e inserido no aparelho com o meio de cultura virado para o lado da hélice. O RCS foi ligado por quatro minutos e, após, o *strip* foi retirado, colocado em sua embalagem original e levado para estufa a 30-35°C, por 48h. Decorrido esse período, realizou-se a contagem das UFC. O número de microrganismos foi calculado por pé cúbico de ar através da seguinte fórmula:

- Microrganismo / pé cúbico de ar =
(número de colônias no ágar x 0,708) / tempo de amostragem.

Os valores obtidos, nos quatro períodos avaliados, na contagem de microrganismos viáveis no ambiente (no ar e superfícies) foram comparados com valores padrões, denominados de limite de alerta e limite de ação.

O valor de UFC estabelecido para o limite de ação estava baseado na média dos dados

colhidos em monitoramentos realizados anteriormente, em quatro trimestres. O limite de alerta foi estabelecido como a metade do limite de ação.

Todas as amostras e culturas bacterianas foram consideradas potencialmente patogênicas, sendo manipuladas de forma asséptica. Após o término da leitura e interpretação dos resultados todo material utilizado foi esterilizado em autoclave sob a temperatura de 121°C por uma hora, sendo descartados para futura incineração.

Resultados

Os resultados obtidos no monitoramento de superfícies foram mostrados na Tabela 1. Podemos observar a ultrapassagem do limite de ação no mês de agosto de 2005 e no mês de fevereiro de 2006, sendo que o primeiro ocorreu na geladeira de contaminados e o segundo, na estufa de 30-35°C. Em relação ao limite de alerta foi observado uma ocorrência em novembro de 2005, na estufa de 30-35°C.

Após analisarmos a Tabela 2, sobre o monitoramento do ar ambiental, foi possível verificar uma tendência de aumento de microrganismos viáveis no ar nos meses em que a temperatura e umidade relativa começavam a se elevar, ou seja, observou-se o aumento do número de UFC/pé³ no mês de novembro de 2005, ultrapassando o limite de alerta.

Tabela 1 - Monitoramento de superfícies (placas RODAC com TSA)

	Média de UFC				L. Alerta	L. Ação
	08/05	11/05	02/06	05/06		
Geladeira estéreis	0	0	1	0	1	2
Geladeira contaminados	41	0	0	0	19	37
Estufa (30-35°)	0	3	6	2	2	4
Estufa (50-60°)	0	2	2	1	2	4
Bancadas	2	4	2	6	9	17
Fluxo laminar	0	1	1	0	1	2

Tabela 2 – Monitoramento do ar (RCS)

	UFC/pe ³	L.Alerta	L. Ação
Agosto – 2005	1	4	8
Novembro – 2005	7	4	8
Fevereiro – 2006	2	4	8
Mai - 2006	4	4	8

Discussão

Há mais de cem anos as infecções laboratoriais têm sido reconhecidas como risco potencial para pesquisadores e técnicos. Segundo a Organização Mundial da Saúde, os profissionais que atuam em laboratórios constituem o grupo de maior risco do total dos

profissionais trabalhadores na área da saúde (TEIXEIRA & VALLE, 2002). Em 1987, o Centro de Controle de Doenças (CDC) criou um manual de precauções universais, que incluía a lavagem de mãos, a não realização de refeições no laboratório, o uso de sapatos que protegessem os pés, o cuidado com a formação de aerossóis e respingos ao se manipular culturas microbianas, a

limpeza das bancadas de trabalho, dentre outras medidas. Essas precauções constituíam um conjunto de normas e procedimentos de segurança, que visavam minimizar os acidentes e aumentar o nível de consciência dos profissionais que trabalham em laboratórios de pesquisa (TEIXEIRA & VALLE, 2002; MURRAY, 2003).

Desse modo, é importante a realização de um controle interno no ambiente laboratorial para averiguar o cumprimento dessas normas de biossegurança. Analisando os resultados obtidos pelo monitoramento de superfícies, pudemos afirmar um aumento de UFC em locais onde havia maior contato manual, o que nos levou a sugerir a necessidade de uma maior conscientização com a desinfecção de superfícies. Quando foram excedidos os limites de ação/alerta, existiu a indicação de que as condições normais de operação deveriam ser investigadas para que se determinassem as causas do aumento da carga microbiana, assim como, para estabelecer uma ação corretiva imediata.

Nos casos do aumento da contagem microbiana em relação à geladeira de material contaminado e à estufa de 30-35^oC, foram tomadas como medidas corretivas, a desinfecção com álcool etílico a 70% e a orientação dos trabalhadores. Já em relação ao mês de novembro de 2005, quando o limite de alerta foi ultrapassado, para a estufa de 30-35^oC, foi realizada uma revisão das normas de biossegurança para os funcionários.

Não encontramos na literatura artigos que avaliassem a carga microbiana em pontos críticos, dentro de um laboratório de microbiologia, relacionados ao contato manual dos usuários e, portanto, com uma possível criação de infecção cruzada. Quando se analisa microbiologicamente superfícies de objetos e materiais têm-se como principal preocupação a saúde humana. Assim, Tomasi et al. (1994) detectaram a presença de coliformes fecais em chupetas de 49% das crianças avaliadas, de um total de 354. Barbieri et al. (1999) reforçaram atenção para a higienização de brinquedos em consultórios odontopediátricos, após a detecção de estafilococos e coliformes totais nos mesmos. Russo et al. (2000) chamaram a atenção para a utilização de barreiras em seringas tríplex nos consultórios odontológicos, após a verificação de um número incontável de UFC, após o atendimento de pacientes. Vargas & Quintaes (2003) contra-indicaram o uso de caixas tipo monobloco no armazenamento e transporte de pescados em São Paulo, após a verificação da variedade de microrganismos isolados nesses objetos.

A avaliação da carga microbiana no ar de ambientes específicos foi encontrada na literatura

como a avaliação feita por Russo (2003), que examinou, em consultórios odontológicos, o grau de contaminação ambiental gerada pelos aerossóis emitidos durante procedimentos restauradores. Hernandez et al. (2001) detectaram microrganismos do ambiente e da microbiota normal humana em uma câmara hiperbárica de um hospital, no intuito de controlar as infecções hospitalares.

O ministério da Saúde, pela portaria MS 3.523 de 1998, determinou um conjunto de medidas a serem seguidas em ambientes climatizados artificialmente, considerando a preocupação com a saúde, o bem-estar, a produtividade dos ocupantes desses ambientes. Dentre essas medidas, citamos a higienização de ductos do sistema de ar condicionado, higienização da caixa do condicionador de ar e análise da qualidade do ar ambiental (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998). A análise da qualidade do ar refere-se não só a avaliação microbiológica, mas também em relação a quantidade de gases produzidos e de matéria particulada existente, para que não se estabeleça a Síndrome dos Edifícios Doentes. Esta consiste no surgimento de sintomas que são comuns à população em geral, mas que, numa situação temporal, podem estar relacionados a um edifício em particular (SANTOS et al., 1992). Nesse trabalho constatamos um aumento na UFC/pé³ nos meses de maior temperatura e com base nesses dados pudemos sugerimos maior atenção na manutenção do ar condicionado, nesses meses mais críticos, e no controle da temperatura do ar no laboratório.

Conclusão

Nesse trabalho detectou-se o aumento de UFC em determinadas superfícies, de um laboratório de Microbiologia, relacionadas com o contato manual dos operadores, assim como o aumento das UFC/pé³ nos meses de maior temperatura analisados. Destacamos a importância da conscientização dos profissionais de laboratório em relação à biossegurança no ambiente de trabalho.

Referências Bibliográficas

- BARBIERI, D. S. V. et al. Isolamento e identificação de microrganismos em brinquedos utilizados em consultórios. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.** V.53, n.3, p.243-8, 1999.
- COLLINS, C. H. **Laboratory Acquired Infections.** 3. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1993.

- HERNANDEZ, R. N.; ULLOA, V. L.; LÓPEZ, L.M. Estudio microbiológico de la contaminación ambiental em uma câmara hiperbárica multiplaza. **Rev. Cubana Med. Milit.** V.30, n.4, p.217-23, 2001.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria MS 3.523.** 28 ago. 1998.
- OXOID. **Manual Oxoid.** 1. ed. 2000 São Paulo: Oxoid Brasil Ltda, 2000.
- MURRAY, P. Manual of clinical microbiology. 8.ed. Washington: Ed. Backweel Publishing. 2003.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S., **Microbiologia.** 2. ed. São Paulo: Ed.McGranw-Hill. 1980.
- PELCZAR, M.; CHANE, E. C. S.; KRIEG, R. N. **Microbiologia conceitos e aplicações.** 2. ed. São Paulo: Ed.McGranw-Hill, 1997.
- RUSSO, E. M. A. Avaliação do grau e da extensão da contaminação durante os procedimentos restauradores, no ambiente do consultório, antes e depois do uso de um aparelho de filtragem de ar. 125f. Livre Docência (Livre Docente em Odontologia) – Universidade de São Paulo, 2003.
- RUSSO, E. M. A. et al. Avaliação da intensidade de contaminação de pontas de seringa tríplice. **Pesq. Odontol. Bras.** V.14, n.3, p.243-7, 2000.
- SANTOS, U. P. et al. Síndrome dos edifícios doentes em bancários. **Rev. Saúde Pública,** V.26, n.6, p.1-9, 1992.
- TEIXEIRA, P.; VALLE, S. **Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz.2002.
- TOMASI, E. et al. Uso de chupeta em crianças: contaminação fecal e associação com diarreias. **Rev. Saúde Pública,** V.28, n.5, p.373-9, 1994.
- VARGAS, D. S. T.; QUINTAES, K. D. Potencial perigo microbiológico resultante do uso de caixas plásticas tipo monobloco, no armazenamento e transporte de pescados em São Paulo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** V.23, n.3, p.517-22, 2003.