



ESTUDO PRELIMINAR DA PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE DESLIZAMENTO DOS DEDOS EM ÁGAR NUTRIENTE PARA ESTUDO DA MICROBIOTA DAS MÃOS

Gabriel Tezolim (PIBIC/CNPq/UEM), Celso Luiz Cardoso (Orientador),
e-mail: clcardoso@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá,
PR.

Área e Subárea: Ciências Biológicas e Microbiologia.

Palavras-chave: contaminação, mãos, microbiota.

Resumo:

A técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente em placa, devido sua facilidade de execução, é utilizada para investigar a contaminação das mãos dos profissionais da saúde na prática hospitalar. Entretanto, ela não está padronizada para estudos semiquantitativos ou quantitativos da microbiota transitória das mãos. Neste estudo nós tentamos padronizar a técnica de deslizamento para estimar o grau de contaminação transitória das mãos, utilizando como microrganismos testes amostras de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* provenientes de coleções de cultura. A técnica da fricção das pontas dos dedos em tubos contendo líquido de amostragem e pérolas de vidro foi usada como método de referência para as contagens de viáveis dos microrganismos testes. As placas semeadas pelo deslizamento dos dedos e pelo método de referência foram incubadas na estufa a 37°C, durante 24 horas. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) obtidas pelas duas técnicas foi comparado utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman (ρ). Em média, contaminações das pontas dos dedos de 12 milhões, 1,2 milhão e 1500 UFC resultaram em, respectivamente, crescimento confluyente, semiconfluyente e de colônias contáveis na técnica de deslizamento. Houve correlação entre as duas técnicas testadas, encontrando-se os coeficientes de correlação de Spearman (ρ) de 0,90 para *Staphylococcus aureus*; de 0,56 para *Escherichia coli* e de 0,73 para *Candida albicans*. Os resultados sugerem que a técnica de pressão e deslizamento dos dedos pode ser empregada para estimar o grau de contaminação das mãos com a microbiota transitória.



Introdução

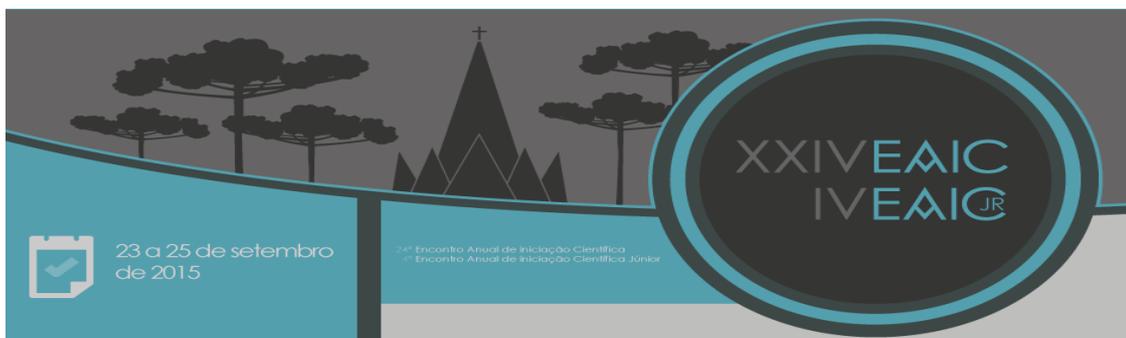
A técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente em placa (Smylie *et al.*, 1959) devido sua facilidade de execução, é utilizada para investigar a contaminação das mãos dos profissionais da saúde na prática hospitalar (Silva *et al.*, 2012). Entretanto, ela não está padronizada para estudos semiquantitativos ou quantitativos da microbiota transitória das mãos. No presente estudo nós tentamos padronizar a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente para estimar o grau de contaminação das mãos com a microbiota transitória.

Materiais e métodos

Staphylococcus aureus ATCC 33591, *Escherichia coli* DSM 11250 e *Candida albicans* ATCC 90028 foram usados como microrganismos testes. Volumes de 0,02 mL do cultivo em caldo de 24 horas do microrganismo teste, contendo 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL), puro e diluído (10^{-1} a 10^{-6}), foram aplicados nas pontas dos dedos da mão esquerda de voluntários, sendo então os dedos friccionados ponta a ponta, com o auxílio dos dedos correspondentes da mão direita durante 40s e deixados secar ao ar por outros 80s (Ayliffe *et al.*, 1978). A seguir, as pontas dos dedos da mão dominante foram amostradas, pela técnica de pressão e deslizamento, padronizando-se o seguinte procedimento: aplicação de leve pressão da ponta dos dedos, um de cada vez, durante 3 segundos na superfície do meio de cultura, seguido do deslizamento por mais 1 a 2 segundos. As pontas dos dedos da mão não dominante foram amostradas, por fricção, durante 3 minutos, em tubos contendo 5mL de salina e 10g de pérolas de vidro (técnica dos tubos com pérolas), usada em paralelo como método quantitativo de referência. As placas semeadas com a suspensão do microrganismo teste em salina e pelo deslizamento dos dedos foram incubadas na estufa a 37°C, durante 24 horas, para a contagem de viáveis. O número de colônias obtidas pelas duas técnicas foi comparado utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman (ρ).

Resultados e Discussão

A contagem de viáveis média (\pm DP) do inóculo inicial de cada microrganismo teste (i.e., o cultivo de 24 horas em caldo nutriente), expresso pelo \log_{10} de UFC/mL, foi de: $9,14 \pm 0,38$ (*S. aureus*); $9,32 \pm 0,11$ (*E. coli*) e de $8,02 \pm 0,10$ (*C. albicans*). O número de experimentos e o total de contagens selecionadas para cada microrganismo teste, considerando-se as diluições do inóculo (10^{-2} a 10^{-5}) que não apresentaram crescimento confluyente ou



semiconfluente de colônias na técnica de deslizamento para possibilitar a correlação com a técnica dos tubos com pérolas, foram de, respectivamente, cinco e 73 para *S. aureus*; sete e 50 para *E. coli* e três e 63 para *C. albicans*. Os experimentos foram feitos em dias diferentes e sempre que possível foram ensaiados de três a quatro indivíduos do grupo dos sete voluntários. Considerando-se a hipótese de que a contaminação inicial da ponta do dedo da mão esquerda com 20 μ L do inóculo inicial do microrganismo teste fosse distribuída igualmente para a ponta do dedo correspondente da mão direita, pela fricção dos dedos ponta a ponta, por 40 segundos, podemos estimar que a contaminação de cada ponta de dedo na prática foi com 10 μ L do inóculo inicial. Assim, a dose contaminante do inóculo puro, expressa em log₁₀ por ponta de dedo, para cada microrganismo teste, utilizada no presente estudo foi: de 7,14 \pm 0,38 para o *S. aureus*, de 7,32 \pm 0,11 para a *E. coli* e de 6,02 \pm 0,10 para *C. albicans*.

A contaminação das pontas dos dedos dos voluntários com 10 μ L do inóculo inicial dos microrganismos testes variou de 1 milhão de UFC (*Candida albicans*) a 22 milhões (*Escherichia coli*). Em média, os dedos altamente contaminados com o inóculo puro (em torno de 12 milhões de UFC) e diluído 1:10 (cerca de 1.200.000 de UFC) resultaram, respectivamente, em crescimento confluyente e semiconfluente na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente. Em contraste, baixas contaminações (i.e., 90 a 2.500 UFC/dedo) proporcionaram crescimento de colônias contáveis (Figuras 1 a 3).

Houve correlação entre as duas técnicas testadas, encontrando-se os coeficientes de correlação de Spearman (ρ) de 0,90 para *Staphylococcus aureus*; de 0,56 para *Escherichia coli* e de 0,73 para *Candida albicans*.

Os dados demonstram que a técnica de deslizamento detectou altos e baixos níveis de contaminação das mãos.

Técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente. Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica no texto.



Figura 1. Microrganismo teste: *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591). **A**, crescimento confluyente (~14 milhões de UFC/dedo); **B**, crescimento semiconfluente (~1,4 milhão de UFC/dedo); **C**, crescimento de aproximadamente 2.500 UFC/dedo (voluntário B).

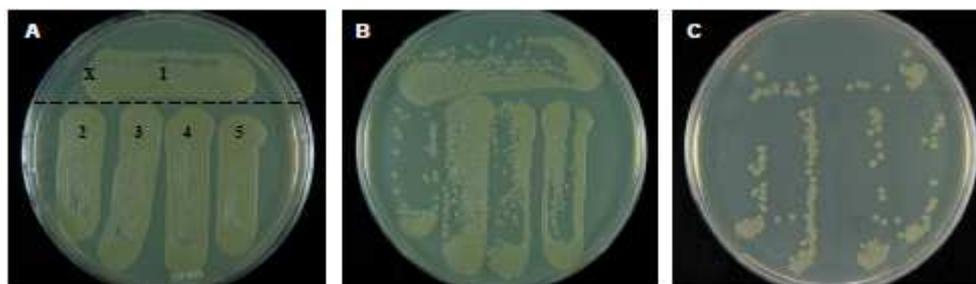


Figura 2. Microrganismo teste: *Escherichia coli* (DSM 11250). **A**, crescimento confluinte (~22 milhões de UFC/dedo); **B**, crescimento semiconfluinte (~2,2 milhões de UFC/dedo); **C**, crescimento de aproximadamente 2.000 UFC/dedo (voluntário C).



Figura 3. Microrganismo teste: *Candida albicans* (ATCC 90028). **A**, crescimento confluinte (1 milhão de UFC/dedo); **B**, crescimento semiconfluinte 100.000 UFC/dedo); **C**, crescimento de 90 UFC/dedo (voluntário B).

Conclusões

Os resultados sugerem que a técnica de pressão e deslizamento dos dedos pode ser empregada para estimar o grau de contaminação das mãos com a microbiota transitória.

Agradecimentos

A UEM pela bolsa de iniciação científica concedida ao primeiro autor (Gabriel Tezolim) através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq-Fundação Araucária-UEM.

Referências

- AYLIFFE, G. A. J.; BABB, J. R.; QUORAISHI, A. H. A test for hygienic hand disinfection. **Journal of Clinical Pathology** 1978, 31, 923.
- SILVA, S. R. B.; ROSA, N. M.; WINGETER, M. A.; PINTO, N. B.; TOGNIM, M. C. B.; GARCIA, L. B.; CARDOSO, C. L. Hand contamination during hospital patient care. **International Journal of Infectious Diseases** 2012, 16, e641.
- SMYLIE, H. G.; WEBSTER, C. U.; BRUCE, M. L. "PhisoHex" and safer surgery. **British Medical Journal**, 2: 606-609, 1959.