

ISABEL CRISTINA BATISTA

*Centro Universitário Fundação Santo André,
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

MÔNICA LOUISE SANCHES

*Centro Universitário Fundação Santo André,
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

PRISCILA REINA SILIANO

*Centro Universitário Fundação Santo André,
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

*Recebido em outubro de 2020.
Aprovado em dezembro de 2020.*

IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS EM PANOS UTILIZADOS PARA HIGIENIZAÇÃO DE PIAS DOMÉSTICAS

RESUMO

Nas condições que permitam a existência de organismos vivos, as bactérias, seres unicelulares e microscópicos, são amplamente encontradas. Sua localização vai depender das condições do meio ambiente, tais como umidade, nutrição, temperatura, espécie, entre outros fatores. As bactérias que contaminam a cozinha podem ter como origem a manipulação inadequada de alimentos e utensílios. O objetivo do presente estudo foi verificar a presença de enterobactérias em panos utilizados na higienização e limpeza de pias domésticas. A amostragem foi composta de panos de limpeza, distribuídos para vinte pessoas que os utilizaram para higienização da pia da cozinha em um período de sete dias. Após este período os panos foram coletados em bags estéreis e levados ao laboratório para análise microbiológica. As amostras coletadas, uma a uma, foram cortadas com tesoura previamente esterilizada, no formato de 1cm², e inoculadas em tubos de ensaio contendo meio TSB e, em seguida, as amostras foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, utilizando alças descartáveis calibradas, os caldos que apresentaram turvação foram semeados em placas de Petri contendo Agar MacConkey pela técnica de esgotamento e incubadas a 37°C por 24 horas, seguindo para a identificação das espécies utilizando-se o Enterokit B®. Os resultados obtidos mostraram que 100% das amostras estavam contaminadas por enterobactérias, destacando-se a presença do gênero *Serratia* em 25% dos resultados e 20% dos gêneros *Edwardsiella tarda* e *Escherichia coli*. Nas amostras foram identificados também os gêneros bacterianos *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Hafnia* em 5% dos testes. Testes complementares com Hipoclorito de Sódio em concentração para uso doméstico (2,0 a 2,5 % de cloro ativo em 100mL) foram realizados e demonstraram que as diluições 50% (concentração 1% de cloro ativo) e 10% (concentração 0,2% de cloro ativo) são eficientes na eliminação de todos os gêneros de enterobactérias encontrados. A higiene do manipulador, dos utensílios e superfícies dentro da cozinha, mesmo domésticas, se faz necessária evitando contaminações bacterianas prejudiciais a toda família.

Palavras-Chave: enterobactérias; panos para limpeza; cozinha; contaminação bacteriana.

IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIA IN CLOTHS USED FOR DOMESTIC SINK CLEANING

ABSTRACT

Under conditions that allow living organisms to exist, bacteria, single-celled and microscopic beings, are widely found. Its location will depend on environmental conditions, such as humidity, nutrition, temperature, species, among other factors. The bacteria that contaminate the kitchen can be caused by improper handling of food and utensils. The objective of the present study was to verify the presence of enterobacteria in cloths used for cleaning and cleaning domestic sinks. The sample consisted of cleaning cloths, distributed to twenty people who used them to clean the kitchen sink over a period of seven days. After this period, the cloths were collected in sterile bags and taken to the laboratory for microbiological analysis. The collected samples, one by one, were cut with previously sterilized scissors, in the format of 1 cm², and inoculated in test tubes containing TSB medium, and then the samples were incubated at 37 ° C for 24 hours. Subsequently, using calibrated disposable loops, the broths that presented turbidity were seeded in Petri dishes containing MacConkey Agar by the depletion technique and incubated at 37 ° C for 24 hours, followed by species identification using Enterokit B®. The results obtained showed that 100% of the samples were contaminated by enterobacteria, with the presence of the *Serratia* genus standing out in 25% of the results and 20% of the genera *Edwardsiella tarda* and *Escherichia coli*. In the samples, bacterial genera *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Hafnia* were also identified in 5% of the tests. Complementary tests with sodium hypochlorite in concentration for domestic use (2.0 to 2.5% of active chlorine in 100mL) were performed and demonstrated that the dilutions 50% (concentration 1% of active chlorine) and 10% (concentration 0, 2% active chlorine) are effective in eliminating all genera of enterobacteria found. The hygiene of the handler, of the utensils and surfaces inside the kitchen, even domestic ones, is necessary avoiding harmful bacterial contamination to the whole family.

Keywords: enterobacteria; cleaning cloths; kitchen; bacterial contamination.

INTRODUÇÃO

Nas condições que permitam a existência de organismos vivos, as bactérias, seres unicelulares, microscópicos, são amplamente encontradas. Sua localização vai depender das condições do meio ambiente, tais como umidade, nutrição, temperatura, espécie, entre outros fatores (1).

As enterobactérias são bastonetes Gram negativos anaeróbicos facultativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, também denominados microrganismos entéricos. Estão distribuídos amplamente na natureza, sendo encontrados no solo, na água, nas plantas e, como indica o nome da família, no trato intestinal dos humanos e dos animais (2). Devido ao seu *habitat*, as enterobactérias constituem um indicativo de higiene e contaminação. Do ponto de vista médico, as enterobactérias são um grupo muito importante de bactérias uma vez que causam doenças do trato gastrointestinal e de outros órgãos (1).

Os gêneros da família *Enterobacteriaceae* podem ser potencialmente suspeitos em qualquer tipo de doença infecciosa. O choque endotóxico, ou septicemia, por exemplo, é uma manifestação potencialmente letal da infecção por enterobactérias. As endotoxinas são lipopolissacarídeos (LPS) farmacologicamente ativos que estão contidos no interior da parede celular das espécies gram-negativas e produzem febre, leucopenia, hemorragia capilar, hipotensão e colapso circulatório. Entre os gêneros importantes incluídos como entéricos estão: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, *Erwinia* e *Enterobacter* (2).

Em uma casa, a cozinha é o local que oferece o maior número de condições favoráveis ao crescimento microbiano. Restos de comida, lixo, temperatura elevada, umidade e abrigo (como reentrâncias de superfícies) são ideais para proliferação de microrganismos e contaminação direta de alimentos e utensílios (3,4). O cozimento inadequado ou impróprio, assim como condições sanitárias deficientes durante o preparo dos alimentos, pode causar de um simples desconforto intestinal a doenças graves, devido à presença de microrganismos patogênicos (5).

As bactérias que contaminam a cozinha podem ter como origem à manipulação inadequada de alimentos e utensílios (indicando hábitos precários de higiene) e a presença de animais como meio de transporte. Assim como para as bactérias, a cozinha também é um excelente local para a proliferação de pequenos animais, fonte potencial de contaminação microbiana. Esses animais trazem nas patas e mucosas as bactérias adquiridas em outros locais, como lixo e fezes. Podemos considerar como animais altamente contaminantes, dentro de uma cozinha, as baratas, as formigas e as moscas (6).

Uma das formas mais utilizadas pelas pessoas para auxiliar na limpeza da pia da cozinha é o pano de tecido em viscose, e como este material é passível de contaminação no ambiente, os objetivos do presente estudo foram: pesquisar a presença de enterobactérias em panos utilizados para limpeza e higienização em pias domésticas e determinar a eficácia do desinfetante hipoclorito de sódio, em concentrações para uso doméstico, na eliminação das enterobactérias encontradas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 20 amostras de pano multiuso composto por fibras de viscose, látex sintético, corante e agente bacteriostático. Na primeira fase da pesquisa, as pessoas, que receberam os panos fechados, utilizaram o material para a limpeza e higienização da pia da cozinha da própria casa no período de sete dias. Após este período, as amostras foram recolhidas em *bags* coletoras tipo NASCO®, e levadas ao laboratório para análise microbiológica.

Para cada amostra coletada, foi recortado 1cm² preferencialmente da parte central do pano, utilizando uma tesoura previamente esterilizada por flambagem. Os quadrados amostrados foram inoculados em tubos contendo meio de cultura em caldo TSB

(Tryptic Soy Broth - Caldo Soja Triptona) (Merck, Alemanha), com auxílio de uma pinça previamente esterilizada por flambagem e posteriormente incubados durante 48 horas a 37°C em estufa bacteriológica. Para o teste de fertilidade do meio de cultura, inoculou-se uma cepa de *Escherichia coli* em um tubo do mesmo lote de caldo TSB (controle positivo). Para o teste de esterilidade do meio de cultura, um tubo do mesmo lote de Caldo TSB, sem inoculação foi incubado nas mesmas condições (controle negativo). Para verificação da esterilidade do pano antes de sua utilização, após a abertura do pacote foi recortada uma amostra de 1cm² e inoculada em caldo TSB.

Com ajuda de alças estéreis descartáveis, os caldos que apresentaram crescimento (turvação) foram semeados em placa de Agar MacConkey (Merck, Alemanha) pela técnica de esgotamento, de modo a obter colônias isoladas. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Para o teste de fertilidade do meio de cultura, inoculou-se uma cepa de *Escherichia coli* em uma placa do mesmo lote de ágar MacConkey (controle positivo). Para o teste de esterilidade do meio de cultura, uma placa do mesmo lote de ágar MacConkey, sem inoculação, também foi incubada nas mesmas condições (controle negativo).

Foi utilizado o kit para identificação de enterobactérias Enterokit B® (Probac, Brasil) que consiste em três meios de cultura, possibilitando os seguintes testes bioquímicos: Meio EPM, onde foi possível testar a produção de gás, a produção de H₂S, a hidrólise da uréia e a desaminação do triptofano; meio MILi, onde foi possível testar a motilidade bacteriana, a descarboxilação da lisina e a produção de indol (com auxílio do reativo de Kovacs que acompanha o kit) e o meio Citrato de Simmons, onde foi possível testar se a bactéria utiliza o citrato como única fonte de carbono. Com ajuda da agulha de inoculação, uma colônia isolada foi semeada nos três meios na seguinte ordem: Citrato, EPM e MILi. Após semeadura, os meios foram incubados a 37°C em estufa bacteriológica durante 24 horas. A leitura foi efetuada utilizando-se o sistema numérico fornecido pelo fabricante do Enterokit B®.

Para o teste de eficácia do hipoclorito de sódio, foi utilizado o desinfetante hipoclorito de sódio comercial para uso doméstico. Segundo o fabricante, o produto contém de 2,0 a 2,5% de cloro ativo em 100ml, que foi considerado como o desinfetante não diluído, uma vez que é a concentração que chega até às casas. A partir do desinfetante não diluído, foram efetuadas duas diluições: 50% de hipoclorito de sódio (solução 1:1, ou seja, uma parte de água, uma parte de hipoclorito de sódio), constituindo assim uma solução com 1% de cloro ativo; 10% de hipoclorito de sódio (solução 1:9, ou seja, 9 partes de água, uma parte de hipoclorito de sódio), constituindo uma solução com 0,2% de cloro ativo. As diluições foram efetuadas com auxílio de pipetas estéreis de 10ml e provetas de 100ml.

O desinfetante não diluído mais as suas diluições foram acondicionadas em tubos de ensaio estéreis, totalizando um conjunto de três tubos para cada amostra do pano (um tubo com o desinfetante não diluído, um tubo com o desinfetante em 50% e um tubo com o desinfetante em 10%). A partir de cada pano coletado, três novos recortes de 1cm² foram produzidos, utilizando o mesmo método dos recortes anteriores. Cada quadrado foi mergulhado em um tubo contendo hipoclorito de sódio não diluído, um tubo contendo hipoclorito de sódio na diluição 50% (concentração 1% de cloro ativo) e um tubo contendo hipoclorito de sódio na diluição 10% (concentração 0,2% de cloro ativo). O tempo de espera para reação do desinfetante em contato com as bactérias do pano foi de 30 minutos. Logo após, com auxílio de alças descartáveis, os panos foram retirados dos tubos contendo o desinfetante e inoculados em tubos contendo o meio de cultura caldo TSB, identificados de acordo com a diluição do hipoclorito. As amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por 48 horas para verificação de turvação. Para o teste de fertilidade do meio de cultura, inocularam-se três amostras contaminadas de panos de limpeza em um tubo do mesmo lote de caldo TSB (controle positivo). Para o teste de

esterilidade do meio de cultura, um tubo do mesmo lote de caldo TSB, sem inoculação, também foi incubado (controle negativo) nas mesmas condições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram a presença de enterobactérias em 100% das amostras analisadas. Conforme o esperado, os controles negativos tanto para a amostra de quanto para os meios de cultura não inoculados, não apresentaram crescimento bacteriano, demonstrando sua esterilidade. Dentre as amostras analisadas, foi constatada a presença do gênero *Serratia* em 25% das análises sendo considerada a maior incidência no parâmetro gênero. Também foi identificada a presença das espécies *Edwardsiella tarda* e *Escherichia coli* em 20% das amostras. Em 5 % das amostras foram identificados os gêneros *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Hafnia*.

Os resultados do teste com hipoclorito de sódio demonstraram que o desinfetante é eficiente quanto à eliminação de enterobactérias, tanto em sua concentração comercial original (2,0 a 2,5% de cloro ativo em 100mL) quanto nas concentrações 1% e 0,2% de cloro ativo, já que não houve crescimento em nenhum caldo inoculado após o tempo de reação da amostra com a substância.

Verifica-se pelos resultados obtidos que uma das espécies mais encontradas nas amostras foi a bactéria *E.coli*, um dos microrganismos mais estudados em todo o mundo. Como parte da flora fecal humana, *E.coli* tem um papel crucial na área de contaminação alimentar e algumas cepas patogênicas podem causar diarreias severas, produzindo uma potente endotoxina (7).

A outra bactéria mais encontrada nas amostras analisadas foi a *Edwardsiella tarda*, que está presente geralmente em animais aquáticos, principalmente peixes de água doce e raramente isolada no homem, podendo causar uma gastroenterite leve (2). Uma das explicações para o aparecimento desta espécie nas amostras analisadas pode ser o fato de que o pano ter sido contaminado devido à limpeza de peixes e derivados, preparados para a refeição da família que utilizava o material.

Outro patógeno encontrado foi a *Serratia* sp., que tem origem ambiental, com propriedades invasivas e tendência a resistir aos antibióticos da atualidade (2,8). *Enterobacter* sp. e *Hafnia* sp., também encontradas nas amostras, são espécies de importância médica e estão amplamente distribuídas na água, esgoto, solo e vegetais, fazendo parte da microbiota entérica comensal, podendo ser encontradas em alimentos contaminados e ocasionar diarreias (2). *Citrobacter* sp. e *Klebsiella* sp. estão relacionadas aos casos de diarreia e infecções do trato urinário, e já foram isoladas de amostras de alimentos, como queijos, contaminados (7) e tubérculos e em solo de cultivo de mandioca e de cana-de-açúcar (9).

Muitos autores demonstraram que na cozinha os maiores índices de contaminação e suscetibilidade para adesão bacteriana estão nas superfícies de trabalho confeccionadas em plástico e madeira, nos equipamentos destinados a corte de alimentos e nos utensílios auxiliares como processadores, liquidificadores e panos de limpeza (4,10, 11,12).

É provável que a contaminação do pano utilizado aconteça de maneira cruzada, devido à proximidade com utensílios contaminados, superfícies contaminadas, manipulação contínua e modo de higienização do pano, considerando também o fato de que a proliferação bacteriana é favorecida pela umidade típica do local e que o detergente utilizado pela e casa na cozinha não seria suficiente para eliminar as bactérias do pano (10).

Alguns autores demonstraram que a utilização de detergentes comuns e água quente na limpeza doméstica não reduzem a contaminação microbiana. Porém o mesmo experimento demonstrou que a aplicação pequena e diária de hipoclorito de sódio e desinfetantes fenólicos pode reduzir substancialmente a contaminação bacteriana no ambiente doméstico (13,14).

Testes realizados demonstraram a eficiência do hipoclorito de sódio em concentração 0,5% de cloro ativo na eliminação de bactérias em utensílios e equipamentos de cozinha. O hipoclorito de sódio tem ação efetiva quando utilizado todos os dias, porém é necessária atenção especial às concentrações das soluções que são preparadas e ao uso de luvas de borracha, evitando assim reações alérgicas e tóxicas (11).

A maioria dos pesquisadores acredita que o efeito bactericida do hipoclorito de sódio provém do ácido hipocloroso, formado quando o cloro elementar ou os hipocloritos são adicionados a água. Sabe-se também que o ácido hipocloroso afeta a síntese proteica dos microrganismos atuando como oxidante sobre os grupos sulfidrílica de enzimas-chaves do metabolismo, além de alterar a permeabilidade da parede celular promovendo perda do material citoplasmático (15).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de enterobactérias nas amostras de panos para limpeza e higienização de pias, principalmente a das espécies consideradas patógenas humanas, vem alertar sobre o risco de infecção com agravos à saúde no ambiente da cozinha.

Diante da presença de enterobactérias no pano, foi testado um agente bactericida amplamente utilizado nos domicílios: o hipoclorito de sódio. O desinfetante mostrou-se eficaz como agente bactericida nas três concentrações utilizadas: não diluída (como é comercializada), contendo de 2,0 a 2,5% de cloro ativo, diluição com 1% de cloro ativo e diluição com 0,2% de cloro ativo, eliminando totalmente as bactérias.

Considerando-se os resultados obtidos neste trabalho, faz-se necessária a instrução quanto à possibilidade de contaminação do ambiente onde se prepara os alimentos, quanto à correta higienização da cozinha, das superfícies e utensílios utilizados nela, com a finalidade de evitar a proliferação microbiana no ambiente doméstico, cuidando assim da saúde das pessoas da família.

REFERÊNCIAS

1. TORTORA, Gerard J; FUNKE, Berdel R; CASE, Christiane. Microbiologia. 6. ed. Porto Alegre: Artemed. 2000. 827p.
2. KONEMAN, Elmer W. et al. Diagnóstico Microbiológico. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi. 2001. 1465 p.
3. COGAN, T. A; SLADER J; BLOMFIELD, S. F.; HUMPHREY, T. J. Achieving hygiene in the domestic kitchen: the effectiveness of commonly used cleaning procedures. Journal of Applied Microbiology. v. 92, p. 885, Maio. 2002.
4. PIRAGINE, Karin. Aspectos higiênicos e sanitários do preparo da merenda escolar na rede estadual de ensino de Curitiba. 2005. Tese (mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em: dspace.c3sl.ufpr.br/.../1884/1885/1/Aspectos_HigiSanit_da_MEscolar_n_REstadualEnsino_Curitiba_20.pdf. Acesso em 10/08/2006.
5. PELCZAR, Michel Joseph; REID, Roger; CHAN; E.C.S. Microbiologia. São Paulo: McGraw-Hill. 198. v. 2. 566 p.
6. FILHO, Romeu Garbin. Controle Integrado de Pragas in: Programa de Controle Integrado de Pragas/Insetcenter, 1998, São Paulo, p. 8. 12
7. SILVA, Carlos Henrique Pessoa de Menezes. Bacteriologia: Um texto ilustrado. Rio de Janeiro: Eventos. 1999. 531 p.

8. MIYAGI, Fumie; TIMENETSKY, Jorge; ALTERTHUM, Flávio. Avaliação da contaminação bacteriana em desinfetantes de uso domiciliar. artigo científico. Disponível em: www.scielo.br. Acessado em: 18/11/2006
9. BALOTA, ELCIO L. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. artigo científico. Disponível em: www.scielo.br. Acessado em: 18/11/2006.
10. OLIVEIRA LR; SILIANO PR. Análise microbiológica em tábuas de corte de madeira e de acrílico de cozinhas domiciliares. Revista UNILUS Ensino e Pesquisa. 2017; 14(34):165. 168
11. BORNEFF, J; HASSINGER, R; WITTIG, J; EDENHARDER, R. The distribution of microorganisms in household kitchens. I. Problems, experiments results. Zentral Bakteriöl Mikrobiöl Hyg. Germam, v. 186, p. 1. 29, Mar. 1988.
12. FRANK, J. F.; CHMIELEWSKI, RA. Effectiveness of sanitation with quarternary ammonium compound or chlorine on stainless stell and other domestic food. preparation surfaces. artigo científico. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov. Acessado em: 03/10/2006.
13. BARKER, J.; NAEENI, M.; BLOMFIELD, S. F. The effects of clening and disinfection in reducing Salmonella contamination in laboratory model kitchen. Journal of Applied Microbiology. v. 95, p. 1351, Dez. 2003
14. SCOTT, E.; BLOOMFIELD, S.F.; BARLOW, C.G. Evaluation of desinfectants in the domestic evironment under “in use” conditions. Journaul of Hygiene (Cambridge). v. 92, p. 193. 206, Abril. 1984.
15. OLIVEIRA, Sônia Maria. Desinfetantes utilizados na indústria de alimentos in: Seminário de chefes de garantia da qualidade/Laboratórios de fábricas Nestlé, 1996, São Paulo, p. 3. 10.