



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LARA BELFORT LUSTOSA MARTINS

**PRESENÇA DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS EM SUPERFÍCIES DE
BANHEIROS DE USO COMUM DE UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO SUPERIOR
EM RECIFE-PE**

Recife

2023

LARA BELFORT LUSTOSA MARTINS

**PRESENÇA DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS EM SUPERFÍCIES DE
BANHEIROS DE USO COMUM DE UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO SUPERIOR
EM RECIFE-PE**

Trabalho de Conclusão de Curso para a
Disciplina de TCC2 como parte dos requisitos
para conclusão da Graduação em Ciências
Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde,
da Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Ana Beatriz
Sotero Siqueira

**Recife
2023**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Martins, Lara Belfort Lustosa.

Presença de bacilos Gram-negativos em superfícies de banheiros de uso comum de uma instituição de ensino superior em Recife-PE / Lara Belfort Lustosa Martins. - Recife, 2023.

31 : il., tab.

Orientador(a): Ana Beatriz Sotero Siqueira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

1. Microbiologia. 2. Contaminação. 3. Microrganismos. 4. Banheiros. 5. Higiene. I. Siqueira, Ana Beatriz Sotero . (Orientação). II. Título.

610 CDD (22.ed.)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA



Aprovada em: 02/05/2023

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br ANA BEATRIZ SOTERO SIQUEIRA
Data: 03/05/2023 08:56:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Ana Beatriz Sotero Siqueira
(Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELLE PATRICIA CERQUEIRA MACEDO
Data: 04/05/2023 17:49:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo
(Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br JORGE BELEM OLIVEIRA JUNIOR
Data: 03/05/2023 13:25:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jorge Belém Oliveira Junior
(Examinador)
Centro Universitário Maurício de Nassau

Documento assinado digitalmente
gov.br SIMONE DA PAZ LEONCIO ALVES
Data: 05/05/2023 13:51:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Simone da Paz Leôncio Alves
(Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Quero iniciar os agradecimentos dizendo que eu nunca conseguiria chegar até aqui se estivesse só. Nunca imaginei passar pela graduação sendo abraçada e auxiliada por tantas pessoas incríveis que sempre me impulsionam para frente e nunca para trás.

Primeiro agradeço aos meus pais, que mesmo de longe se fizeram presentes durante essa jornada tão difícil e nunca desistiram de mim, sempre me encorajando a continuar de cabeça erguida e me acolhendo e compreendendo quando achei que não conseguiria mais. Sem a paciência e o carinho de vocês eu não seria nada. Aos meus irmãos, Brena e Pablo, pelo companheirismo infinito, pelas risadas e momentos de descontração que fizeram essa caminhada mais leve, pela ajuda nos momentos de desespero e por me ensinarem a ser uma pessoa mais responsável. Vocês foram e sempre serão meus primeiros melhores amigos. Amo todos vocês.

Aos maiores presentes que Farmácia poderia me dar, Helô, Felipe e Miferli, não sei o que seria de mim sem a companhia de vocês três durante a graduação. Vocês foram essenciais para que eu conseguisse alcançar esse objetivo. Mesmo com nossa separação vocês mostraram que a distância não é igual a ausência e permaneceram a torcer e vibrar por mim e pelas minhas conquistas. Obrigada, de coração.

Aos meus amigos de infância, Caio, Luiz, Lorena e Ébano, são anos de amizade que não se enfraquecem com o tempo e vocês deixam isso muito claro. A amizade de vocês me fortalece e me mostra que sempre terei alguém com quem contar para rir, chorar, ou apenas jogar conversa fora. Obrigada por me aguentarem todos esses anos.

Ao meu companheiro de vida, o melhor que eu poderia pedir, Gustavo, agradeço por ser meu constante porto seguro em meio ao caos da minha própria mente. Sem seu apoio constante, seus conselhos e abraços reconfortantes, que foram muito importantes para me manter sã e firme nos meus objetivos, eu não teria conseguido essa conquista. Obrigada e amo você.

A minha orientadora maravilhosa, Ana Beatriz, que me acolheu desde a monitoria até a orientação, que me ensinou tudo o que sei hoje sobre microbiologia e confiou e acreditou em mim quando nem eu mesma acreditava. Obrigada por me apresentar a este mundo da micro, por ser a melhor professora, orientadora e amiga.

A Thaís e Lídia, minhas companheiras de laboratório, obrigada pelo auxílio nos bastidores, pelas conversas e risadas nos dias de muito trabalho, por verterem meus meios de

cultura e guardarem meus semeios quando eu não podia. Parece pouca coisa, mas vocês ajudaram a tirar alguns pesos das minhas costas e aliviar o estresse do dia-a-dia.

Um breve agradecimento a todo o pessoal do LAM por me ajudarem nas coletas dos sanitários por pura boa vontade, vocês foram uns anjos.

Gostaria de agradecer especialmente a farmacêutica Andréa Karla e ao RealLab pela ajuda imensa na realização deste trabalho, por tirarem um tempo para me ensinar mesmo com a rotina intensa do laboratório. Com certeza não teria conseguido finalizar o TCC a tempo sem o auxílio de vocês, não tenho palavras para descrever o quão grata me sinto. Muito obrigada!

Por último e mais importante, agradeço a mim por não ter desistido, por perseverar, por ter paciência, por desabar mas seguir em frente logo em seguida, por ter respeitado o meu próprio tempo. Por mais que não estivesse sozinha, minhas conquistas dependem apenas de mim, e agora posso dizer: eu consegui.

RESUMO

Ambientes de uso comunitário são uma grande fonte de contaminação cruzada por conta do manuseio de superfícies e objetos sem a correta higienização das mãos e do ambiente. Banheiros e sanitários públicos favorecem o crescimento de contaminantes por serem ambientes de alta umidade, além do contato frequente com fluidos corporais das pessoas que os utilizam, tendo então uma relação direta com a presença de bactérias nesses ambientes, entre elas os bacilos Gram-negativos, que estão presentes no trato gastrointestinal do ser humano. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar coletas de maçanetas, torneiras e válvulas de descargas de banheiros de uso comum de uma instituição de ensino superior em Recife-PE para analisar a presença de bacilos Gram-negativos nessas superfícies. As amostras foram coletadas por método de rolamento com auxílio de swab estéril e armazenadas em tubos de ensaio contendo meio BHI, que seguiram para estufa a $\pm 37^{\circ}\text{C}$, durante 24h, para crescimento celular. Em seguida, foi feito o semeio primário a partir das coletas no meio Ágar MacConkey, seletivo para gram negativas, com subsequente incubação durante 24h para obtenção das unidades formadoras de colônia que foram posteriormente isoladas e identificadas pelo método automatizado Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF). Os resultados mostraram grande variedade de espécies de bacilos Gram-negativos, predominando a presença de bacilos Gram-negativos não fermentadores (70,3%). Os banheiros masculinos apresentaram maior variedade de espécies quando comparado com os banheiros femininos, e as superfícies com maior índice de contaminação foram válvulas de descargas e maçanetas. Portanto, pode-se concluir que há presença de uma grande variedade de espécies Gram-negativas que permanecem mesmo com a higienização diária dos banheiros de uso compartilhado, fato que causa preocupação por conta da possível disseminação destes microrganismos do banheiro para outros ambientes como áreas de convivência, transporte coletivo, serviços de atenção à saúde, colocando em risco a saúde da população.

Palavras-chave: Bacilos Gram-negativos. Banheiros. Contaminação cruzada. *Pseudomonas stutzeri*.

ABSTRACT

Community use environments are, without a doubt, a major source of cross-contamination due to the handling of surfaces and objects without proper hand and environment hygiene. Bathrooms and public toilets favor the growth of contaminants because they are high humidity environments, in addition to frequent contact with fluids and body fluids of the people who use them, thus having a direct relationship with the presence of bacteria in these environments, including Gram-negative bacilli, which are present in the gastrointestinal tract of humans. Therefore, the objective of this work was to carry out samples of doorknobs, faucets and flushing valves of common toilets in a higher education institution in Recife-PE to analyze the presence of Gram-negative bacilli on these surfaces. Samples were collected by rolling method with the aid of a sterile swab and stored in test tubes containing BHI growth medium, which were sent to an oven at $\pm 37^{\circ}\text{C}$ for 24 hours for cell growth. Then, the primary seeding was performed from the samples on MacConkey Agar medium, selective for gram negatives, with subsequent incubation for 24 hours to obtain the colony-forming units that were later isolated and identified by the automated Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time- of-Flight (**MALDI-TOF**). The results showed a great variety of species of Gram-negative bacilli, predominating the presence of non-fermentative Gram-negative bacilli (70.3%). Men's restrooms had a greater variety of species when compared to women's restrooms, and the surfaces with the highest rate of contamination were flushing valves and doorknobs. Therefore, we can conclude that there is the presence of a wide variety of Gram-negative species that remain even with the daily cleaning of shared bathrooms, a fact that causes concern due to the possible dissemination of these microorganisms from the bathroom to other environments such as living areas, public transport, health care services, putting the health of the population at risk.

Keywords: Gram-negative bacilli. Bathrooms. Cross contamination. *Pseudomonas stutzeri*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
2.1 ASPECTOS GERAIS DE BACILO GRAM-NEGATIVOS.....	8
2.2 IMPORTÂNCIA CLÍNICO-LABORATORIAL DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS.....	9
2.3 AMBIENTES PROPÍCIOS À CONTAMINAÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS E IMPACTOS PARA O PROCESSO DE SAÚDE/DOENÇA.....	12
3 OBJETIVOS.....	13
3.1 GERAL.....	14
3.2 ESPECÍFICOS.....	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO.....	14
4.2 SEMEIO E ISOLAMENTO.....	14
4.3 IDENTIFICAÇÃO.....	15
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
6 CONCLUSÕES.....	22
7 REFERÊNCIAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

Bactérias são microrganismos unicelulares, com morfologia variada, que podem ser classificadas de acordo com a estrutura da sua parede celular em Gram-positivas e Gram-negativas (TORTORA *et al.*, 2017). São transmitidas por contato, gotículas, propágulos, dentre outros, entre pessoas ou por meio de objetos inanimados e superfícies colonizadas (FILHA *et al.*, 2018; QURESHI; NIAZI, 2021).

São encontradas no meio ambiente, porém, algumas espécies estão presentes também na microbiota do indivíduo e outras relacionadas a infecções. tais como: de pele, pulmonar, do trato urinário e de meninges (FRACAROLLI; MARZIALE, 2019) Algumas espécies se destacam pela frequência e capacidade patogênica, tais como *Acinetobacter baumannii* (LYNCH *et al.*, 2022), *Escherichia coli* (BONTEM *et al.*, 2021), *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (POZZATO; PARISI, 2018) e *Staphylococcus aureus* (GUO *et al.*, 2020).

Entre os grupos bacterianos merecem destaque os bacilos Gram-negativos, pois predominam na frequência etiológica, tanto relacionados a IRAS (Infecções Relacionadas à Assistências à Saúde) como a infecções comunitárias, podendo ser pneumonias, infecções do trato urinário (ITU) e meningites (FRACAROLLI; MARZIALE, 2019) sendo classificadas em bactérias fermentadoras e não fermentadoras de carboidratos, uma característica utilizada para a identificação desses patógenos.

Torna-se relevante considerar a presença de bactérias em superfícies de uso compartilhado e a possibilidade de disseminação ampla para outros ambientes (ZHAO *et al.*, 2019). Além de superfícies, alguns objetos de uso comum também podem ser reservatórios de microrganismos, tais como jalecos a partir do isolamento de *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus* spp. e *Serratia* spp. (OLIVEIRA; SILVA, 2015; MISHRA *et al.*, 2020), estetoscópios devido ao isolamento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus epidermidis* (HELDEWEG *et al.*, 2022) e dispositivos móveis de comunicação utilizados por profissionais de saúde a partir do isolamento de *Streptococcus* sp. e *Salmonella* spp. (QUEIRÓS, *et al.*, 2020), Dessa forma, é possível afirmar que existem infinitas possibilidades de contaminação cruzada, tanto por bactérias da microbiota quanto por bactérias carreadas de um ambiente a outro por contato humano.

Banheiros e sanitários são naturalmente fontes de contaminação por conta do contato

frequente com fluidos e líquidos corporais das pessoas que os utilizam, tendo então uma relação direta com a presença de bactérias Gram-negativas, já que estão presentes no trato gastrointestinal do ser humano. Além disso, maçanetas, válvulas de descarga e torneiras são superfícies onde há constante interação com as mãos dos usuários dos banheiros, além de ser um ambiente com elevada umidade, o que facilita a proliferação desses microrganismos (REZENDE, *et al*, 2018). Desta forma, dependendo da higienização do local e pessoal, a colonização destes locais e a contaminação cruzada é inevitável.

Em 2018, Oliveira Filha *et al.* isolaram *S. aureus*, *P. aeruginosa* e Enterobactérias de torneiras de uma instituição de ensino superior em Maceió, Alagoas. Também foram avaliados em outro estudo a presença de *E. coli* e *Morganella morganii* em torneiras, vasos sanitários e maçanetas de banheiros em um centro de ensino de Minas Gerais (SILVA *et al*, 2019). Outras superfícies como paredes de banheiros também foram investigadas por Oluymi *et al.* (2018) na Nigéria, sítio que apresentou um alto valor na contagem de bactérias totais.

Tendo isso em vista, torna-se válida a obtenção de dados atuais sobre o isolamento e identificação de bactérias de ambientes compartilhados, reforçado pela forte possibilidade de contaminação cruzada que reflete em impactos importantes na saúde do ser humano. Tais contaminações podem ocorrer no dia-a-dia, no manuseio de aparelhos pessoais, manuseio de alimentos, no uso coletivo de ambientes comuns, entre outros. No âmbito hospitalar, o uso incorreto de equipamentos de proteção individuais (EPIs) e falta de higiene pessoal e ambiental são causas de contaminação cruzada, podendo levar ao agravamento do quadro clínico de pacientes internados e até ao óbito (OLIVEIRA; SILVA, 2015). No dia a dia, um indivíduo pode ser carreador de um microrganismo patogênico de baixa virulência, mas que, quando em contato com pessoas mais vulneráveis, como os imunodeprimidos e neonatos, pode ser uma ameaça à saúde (CDC, 2016).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS GERAIS DE BACILOS GRAM-NEGATIVOS

Os bacilos Gram-negativos (BGN) possuem forma de bastonete que podem ter extremidades retas ou curvadas e ser alongados ou curtos, podem apresentar ou não flagelos que os garantem motilidade, raramente se dispõem em arranjos. Elas possuem uma bicamada lipídica externa que contém lipopolissacarídeos, lipoproteínas e porinas, além de uma camada

de peptidoglicano no espaço periplasmático (KONEMAN *et al.*, 2018).

Alguns aspectos morfológicos, reação tintorial e arranjo celular são observados microscopicamente através do método de coloração de Gram. Esse método permite que as bactérias sejam classificadas em Gram-positivas e Gram-negativas, dependendo da capacidade da parede celular em reter o complexo cristal violeta-lugol no citoplasma, durante um tratamento com descolorante. As bactérias Gram-negativas apresentam uma delgada camada de peptidoglicano e por isso o complexo é removido pelo descolorante, sendo essas bactérias novamente coradas pela Fucsina (ou Safranina), caracterizando a reação tintorial vermelha ou rosa (TRIPATHI; SAPRA, 2022).

O grupo bacilo Gram-negativo é dividido em bacilos Gram-negativos fermentadores (BGNF) e bacilos Gram-negativos não fermentadores (BGNNF), decorrente da capacidade metabólica diferenciada entre eles. Enquanto os BGNF têm a capacidade de fermentar glicose e outros carboidratos para obtenção de energia, os BGNNF utilizam a via oxidativa para a assimilação desses componentes (PIMENTEL *et al.*, 2020).

Como são amplamente distribuídos no meio ambiente, têm a capacidade de crescer e multiplicarem-se nos mais diversos locais e superfícies. De acordo com Yin *et al.* (2019), as bactérias se adaptam em diversos ambientes hostis resultando em sistemas de defesa mais eficazes, como por exemplo, a formação de biofilme, o que aumenta as chances de sobrevivência destes microrganismos.

2.2 IMPORTÂNCIA CLÍNICO-LABORATORIAL DE BACIOS GRAM-NEGATIVOS

Bacilos Gram-negativos são responsáveis por boa parte de infecções comunitárias, principalmente casos de infecção urinária, gastroenterite e pneumonias. Estudos de Zhang *et al.* (2019) na China evidenciaram a maior incidência das espécies *E. coli* e *K. pneumoniae* em infecções intra-abdominais (49.2% e 21.3%, respectivamente) e do trato urinário (64.3% e 12.7%, respectivamente), resultados obtidos de casos de infecções comunitárias.

Lemes *et al.* (2021) também investigaram casos de infecção urinária no meio comunitário na cidade de Anápolis-GO, onde enterobactérias foram identificadas em 13,2% das amostras analisadas, sendo a maioria dos isolados *E. coli* (65,9%), *Klebsiella* sp. (9,1%), *A. baumannii* (9,1%), *M. morgani* (9,1%) e *Hafnia alvei* (6,8%).

Pneumonia adquiridas comunitariamente (PAC) também foram alvos de estudos pelo aumento de casos relacionados com bacilos Gram-negativos. A prevalência de PAC por *P.*

aeruginosa pode variar de 1 a 23,2% em pacientes com cultura positiva, 11.9% são por Enterobactérias e 0.5% por *A. baumannii*. Os valores variam de acordo com a região geográfica das pesquisas, sendo um desafio para estabelecer valores fixos da prevalência dos patógenos. (AMATI; RESTREPO, 2020).

Na clínica, esses microrganismos são de alta importância, uma vez que podem impactar o estado de doença de pacientes internados, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Além disso, são dotados de várias formas de defesa frente aos antimicrobianos, entre eles a produção de beta-lactamases que inativam os fármacos beta-lactâmicos, aumento da expressão de sistemas de efluxo na parede celular e alterações na permeabilidade da membrana (SANTOS, NOGUEIRA, MENDONÇA, 2015; OLIVEIRA; REYGAERT, 2019). Infecções por bacilos Gram-negativos são um dos maiores problemas mundiais de saúde pública, isso se dá graças ao alto perfil de resistência aos antimicrobianos apresentados por essas bactérias, principalmente as espécies *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *S. maltophilia* (ADEGOKE *et al.*, 2017; KARAKONSTANTIS *et al.*, 2020).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as espécies classificadas como prioridade crítica na lista global de bactérias patogênicas resistentes a antimicrobianos são *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e as enterobactérias, sendo todos bacilos Gram-negativos. Estão relacionadas a diversos quadros infecciosos, tais como: sepse, infecções urinárias, meningites e principalmente infecções respiratórias. Estudos de Jain *et al.* (2018) na Índia observaram a prevalência de *A. baumannii* em 26,2% das amostras de pacientes com infecções respiratórias baixas, onde entre elas, 96.42% apresentaram resistência a carbapenêmicos. Li *et al.* (2021), na China, avaliaram pacientes com infecção respiratória aguda, obtendo uma grande variedade de isolados bacterianos, entre elas *K. pneumoniae* (12.5%) e *P. aeruginosa* (11.4%). Azevedo e colaboradores (2023) analisaram 42 amostras de pacientes com infecções hospitalares em um hospital universitário no Amazonas, Brasil, onde 6,7% foram causadas por *P. aeruginosa*, também resistentes aos carbapenêmicos.

Para o diagnóstico de infecções e identificação dos patógenos, os testes laboratoriais são imprescindíveis, uma vez que os microrganismos possuem características intrínsecas e distintas que podem ser avaliadas através de testes bioquímicos, imunológicos e de biologia molecular. No entanto, há uma certa dificuldade na identificação dos BGNNF por possuírem alta complexidade taxonômica, levando a uma certa limitação nos bancos de dados de equipamentos automatizados utilizados para esse objetivo (WHISTLER *et al.*, 2019).

As provas bioquímicas utilizadas são realizadas através de meios de cultura que indicam as atividades metabólicas desses microrganismos através da mudança de cor, pH,

turbidez do meio, entre outros. Logo, é necessário saber os padrões metabólicos de cada gênero e espécie para a interpretação correta dos resultados (FIOCRUZ, 2013). A série bioquímica de bancada é pouco utilizada, uma vez que a identificação de bactérias pode ser realizada por meio de equipamentos automatizados que funcionam pelos mais diversos mecanismos, como ionização e espectroscopia de massa, assim como também entregam o perfil de resistência frente aos antimicrobianos e oferecem resultados mais rápidos, diminuindo o tempo de espera pelo tratamento ideal (FERREIRA, 2019).

Os bacilos Gram-negativos fermentadores são compostos principalmente pelas Enterobactérias, tendo como principais características o fato de não serem esporuladas, com motilidade variável, são aeróbios facultativos, fermentam glicose, são citocromo oxidase negativos e conseguem reduzir nitrato a nitrito (OLIVEIRA, REYGAERT, 2019). Possuem em sua superfície externa lipopolissacarídeo (LPS), uma endotoxina que interage com as células do sistema imune do hospedeiro, desencadeando respostas inflamatórias e infecções. (BALDELLI *et al.*, 2021).

Boa parte da enterobactérias fazem parte da microbiota humana e também estão envolvidas em infecções, como pneumonias, meningites, diarreias e as infecções do trato urinário (ITU), comuns tanto no ambiente hospitalar como comunitário, sendo a bactéria *E. coli* responsável por cerca de 85% dos casos, além de *K. pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, de acordo com estudos de Rabello *et al.*(2011) e Tamadonfar *et al.* (2019).

As infecções do trato digestivo estão bastante relacionadas com os BGNF. *E. coli*, que coloniza o trato gastrointestinal do homem, possui diversos sorotipos, sendo um deles o enteropatogênico (EPEC), responsável por causar lesões do tipo A/E (attaching and effacing) levando a um quadro de enterite e diarreia aquosa. Essas infecções podem ser adquiridas também por consumo de alimentos contaminados por esse bacilo, assim como pela *Salmonella* sp. e *Shigella* sp., que além de gastroenterites, levam a casos de meningites, podendo ser adquiridas também em meio comunitário, principalmente em locais com ausência de saneamento básico (GUT *et al.*, 2018; SCHNUPF; SANSONETTI, 2019; JANDA; ABBOTT, 2021).

Já os bacilos Gram-negativos não fermentadores não fazem parte da microbiota, são não-esporulados, aeróbios e, no geral, possuem baixa virulência, no entanto, estão bastante relacionados com as IRAS, sendo cerca de 10% dos isolados de casos clínicos *A. baumannii*, *P.aeruginosa* e *S. maltophilia* (THI *et al.*, 2020; BRADY, 2022; MOJICA *et al.*, 2022).

Em análises microbiológicas de torneiras de banheiros de uma instituição de ensino superior no Brasil, Oliveira Filha *et al* (2018) obtiveram 30 culturas positivas, onde desses

16,3% foram isolados de *P. aeruginosa*. Da Silva Junior *et al.* (2020) também evidenciaram presença de *P. aeruginosa* em secadores de mãos presentes em banheiros de uso comum de alguns campi universitários no Ceará, representando 16,7% dos isolados obtidos.

Corrêa *et al.* (2021) analisaram várias superfícies em um hospital público em Cuiabá, evidenciando a presença de *A. baumannii* em 21,9% dos isolados, distribuídos entre piso, mesa de cabeceira, tampa de lixeiros, monitores e dispensadores de sabonete.

O maior desafio quando se trata dos bacilos não-fermentadores é a resistência intrínseca a antimicrobianos, uma vez que produzem vários genes com múltiplos mecanismos de inibição desses fármacos, com destaque para *P. aeruginosa* (CHUMBITA *et al.*, 2022).

P.aeruginosa, *A.baumannii* e *S. maltophilia* foram as espécies mais comuns isoladas por Zahornacký *et al.* (2022) em superfícies inertes de hospitais na Eslováquia, correspondendo a 33,6%, 20,4% e 8,2% respectivamente. Os fenótipos de resistência mais comuns observados no estudo, principalmente em *P. aeruginosa* e *A. baumannii* foram a presença da enzima OXA-48, capaz de hidrolisar carbapenêmicos, e resistência à ampicilina.

As mesmas duas espécies foram citadas como maiores causa de infecções sanguíneas em pacientes internados em três hospitais da Itália, juntamente com *S. maltophilia*, sendo *P. aeruginosa* a maior responsável pelas infecções analisadas, porém, *A. baumannii* foi a mais relacionada com os casos que levaram a óbito (PASCALE *et al.*, 2021).

2.3 AMBIENTES PROPÍCIOS À CONTAMINAÇÃO POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS E IMPACTOS PARA O PROCESSO DE SAÚDE/DOENÇA

Ambientes com alta umidade são os mais propícios para crescimento e concentração de microrganismos, pois favorecem a proliferação destes. Pesquisas foram realizadas em banheiros públicos no Irã (MATINI *et al.*, 2020), Nigéria (ALONGE *et al.*, 2019; OLUYEMI *et al.*, 2019), Hong Kong (SUEN *et al.*, 2019), Brasil (REZENDE *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019) e Arábia Saudita (AHMED *et al.*, 2016), onde foram analisadas superfícies como maçanetas de portas, paredes, torneiras, descargas, parte externa de secadores de mão e dispensadores de papel toalha, confirmando a presença de bacilos Gram-negativos nessas superfícies.

Mais estudos mostram que pode haver a presença de BGN em vários tipos de superfícies e objetos, dentre eles estão superfícies inanimadas como paredes, computadores, maçanetas, torneiras e vasos sanitários (REZENDE *et al.*, 2015; AHMED, SIRAG, 2016), provedores de maquiagem, que revela um grande potencial de disseminação de infecções comunitárias (MACEDO *et al.*, 2020), e objetos de uso pessoal e acessórios como celulares,

anéis, jalecos e estetoscópios (CORADINI *et al.*, 2019; FRACAROLLI, MARZIALE, 2019; TAVARES *et al.*, 2021).

Pesquisas foram realizadas também em superfícies e equipamentos de ambulâncias de suporte básico e avançado da cidade de Juíz de Fora - MG, onde foram analisadas macas, imobilizadores de cabeça, mochilas de emergência, pranchas longas, entre outros, revelando a presença dos BGN *Enterobacter cloacae*, *S. maltophilia*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes* (SOZZI *et al.*, 2019). O fato destes microrganismos estarem contaminando objetos que entram em contato direto com pessoas fragilizadas mostra a importância da assepsia, higienização e cuidado no manuseio destes equipamentos.

Um estudo realizado por Darge *et al.* (2019) relatou o isolamento de *E.coli* e *K. pneumoniae* de estetoscópios, termômetros, computadores, camas e mesas em uma unidade de tratamento intensivo de um hospital no Egito. Matini *et al.* (2020) analisaram superfícies como maçanetas, torneiras, descargas, dispensadores de sabão, secadores de mãos, entre outros, de banheiros públicos em Tehran, capital do Irã, onde foram isoladas *E. coli*, *Klebsiella* sp, *Salmonella* sp, *Pseudomonas* sp e *Proteus* spp. As espécies *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *E. cloacae* foram as espécies mais comuns isoladas por Zahornacký *et al.* (2022) de superfícies inanimadas no ambiente hospitalar na Eslováquia.

A contaminação de superfícies se dá principalmente pela falta de higienização dos locais, assim como a falta de higienização das mãos das pessoas que interagem com estes locais. De acordo com pesquisa de Moriya e Módena (2008), 73% dos usuários de sanitários apresentam algum tipo de contaminação após o uso e apenas 50% faz a correta higienização das mãos. Esse comportamento favorece o aparecimento de contaminação cruzada, colocando em risco a saúde das pessoas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Constatar a ocorrência de bactérias Gram-negativas em banheiros de uso comum de uma instituição pública de ensino superior em Recife-PE.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar as espécies de bactérias Gram-negativas obtidas de maçanetas, válvulas de descarga e torneiras;

Descrever a prevalência de espécies bacterianas isoladas de banheiros utilizados por diferentes usuários.

Indicar a espécie bacteriana predominante de cada superfície analisada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas coletas de amostras de superfícies de quatro sanitários de uso comum, sendo dois femininos e dois masculinos, de dois Centros Acadêmicos de uma instituição pública de Ensino Superior, localizada na cidade de Recife-PE, no período ativo acadêmico, de outubro a dezembro/2022.

4.1 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO

Foram os alvos da pesquisa válvulas de descargas, torneiras e maçanetas, tanto de banheiros femininos como masculinos. As coletas foram realizadas com auxílio de swab esterilizado, previamente umedecido em Caldo BHI (“*Brain-Heart Infusion*”) contido em tubos de ensaio, por técnica de rolagem. Posteriormente todo material foi incubado à $36(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ em estufa durante 24h para favorecer o crescimento de possíveis microrganismos.

4.2 SEMEIO E ISOLAMENTO

Após constatação de crescimento microbiano, as amostras contidas nos tubos de ensaio foram semeadas, com auxílio de alças bacteriológicas descartáveis de 1 μl , em placas de Petri contendo meio Ágar MacConkey, seletivo para crescimento de bactérias Gram-negativas. O semeio foi realizado pela técnica de esgotamento, e as placas semeadas incubadas em estufa a 36°C , durante 24h. Em seguida, foram selecionadas as unidades formadoras de colônias (UFCs) para o isolamento em meio Ágar Mueller-Hinton e posterior identificação.

4.3 IDENTIFICAÇÃO

A identificação das colônias isoladas foi realizada através de sistema automatizado de identificação microbiana de espectrometria de massa VITEK® MS, que utiliza tecnologia de Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF), no Laboratório de Microbiologia do Real Hospital Português (RealLab), com a colaboração da farmacêutica bioquímica Andrea Karla Alvino de Macedo Rego.

Para tal, foi necessário preencher as placas do equipamento, chamadas de “slides”, com as colônias a serem identificadas nos pequenos círculos presentes nos slides (*spots*), assim como aplicar no *spot* central do slide uma cepa ATCC *E. coli* 8739, que servirá como cepa de calibração (FIGURA 1). Após esta etapa, com as cepas secas, aplicou-se 1 μ L da matriz CHCA (Ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico), que tem por função facilitar a ionização dos peptídeos e proteínas das amostras.

Figura 1: Preparo de slide com preenchimento de *spots* para identificação bacteriana por espectrometria de massa VITEK-MS



Os slides preenchidos foram acomodados na plataforma que foi inserida no equipamento (FIGURA 2), onde as amostras foram sujeitas a disparos de laser no interior do espectrômetro de massa VITEK®-MS. A matriz absorve a luz do laser e vaporiza-se, juntamente com a amostra, adquirindo então uma carga elétrica (ionização).

Figura 2: Plataforma de apoio para slides do equipamento VITEK®-MS



Os campos elétricos presentes no equipamento levam estes íons para o tubo de vácuo, que os separa de acordo com a massa das moléculas, resultando numa série de picos (espectro). Os espectros obtidos foram comparados com os espectros da base de dados de uma série de espécies bacterianas, sendo este o critério de identificação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, foram realizadas análises bacteriológicas em 17 descargas (10 de sanitário femininos e 7 de sanitário masculinos), 12 torneiras (6 de sanitário femininos e 6 de sanitário masculino) e 17 maçanetas (10 de sanitário femininos e 7 de sanitário masculinos) Ao todo, foram feitos 46 semeios primários no meio Ágar MacConkey, dos quais 10 não apresentaram nenhum crescimento.

Tabela 1: Superfícies de banheiros de uma instituição pública de ensino superior em Recife-PE, no período de outubro a dezembro/2022.

	Descargas	Torneiras	Maçanetas	Total
WC Feminino	10	6	10	26
WC Masculino	7	6	7	20
Total	17	12	17	46

Foram identificadas 19 bactérias das superfícies analisadas dos banheiros femininos e 18 dos banheiros masculinos. Das descargas dos sanitários feminino, foram isoladas e identificadas nove bactérias, sendo *Pseudomonas stutzeri* correspondendo a 77,7%, seguida pela *Pseudomonas putida* (11,11%) e *Franconibacter helveticus* (11,11%). Das torneiras foram isoladas cinco bactérias, sendo *P. stutzeri* (20%), *Enterobacter hormaechei* (40%) *Providencia rettgeri* (20%) e *K. pneumoniae* (20%). Das maçanetas foram isoladas cinco bactérias, sendo *P. stutzeri* (80%) e *P. putida* (20%) (Tabela 1).

Das descargas dos sanitários masculinos, foram identificadas seis bactérias sendo *P. stutzeri* (50%), *Pseudomonas oryzihabitans* (16,6%), *E. coli* (16,6%) e outra espécie não Gram-negativa (16,6%); Das torneiras foram isoladas cinco bactérias, sendo *P. stutzeri* (20%),

Acinetobacter haemolyticus (20%), *Enterobacter cloacae* (20%), *Klebsiella aerogenes* (20%) e *Aeromonas veronii* (20%); Das maçanetas foram isoladas sete bactérias, sendo *Pseudomonas stutzeri* (43%), *Pseudomonas putida* (14,28%) e outras espécies não Gram-negativas (43%). (Tabela 2).

Tabela 2: Bactérias isoladas nos sanitários femininos de uma instituição pública de ensino superior, em Recife-PE no período de outubro a dezembro de 2022.

Bactérias (WC feminino)	Torneiras		Descargas		Maçanetas		TOTAL
	n	%	n	%	n	%	
<i>Enterobacter hormaechei</i>	2	(40%)	–		–		2
<i>Franconibacter helveticus</i>	–		1	(11,1%)	–		1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	(20%)	–		–		1
<i>Providencia rettgeri</i>	1	(20%)	–		–		1
<i>Pseudomonas putida</i>	–		1	(11,1%)	1	(20%)	2
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	(20%)	7	(77,7%)	4	(80%)	12
TOTAL	5		9		5		19

Tabela 3: Bactérias isoladas nos sanitários masculinos de uma instituição pública de ensino superior, em Recife-PE, no período de outubro a dezembro de 2022.

Bactérias (WC Masculino)	Torneiras		Descargas		Maçanetas		TOTAL
	n	%	n	%	n	%	
<i>Aeromonas veronii</i>	1	(20%)	–		–		1
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1	(20%)	–		–		1
<i>Escherichia coli</i>	–		1	(16,6%)	–		1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	(20%)	–		–		1
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1	(20%)	–		–		1
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	–		1	(16,6%)	–		1
<i>Pseudomonas putida</i>	–		–		1	(14%)	1
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	(20%)	3	(50%)	3	(43%)	7
Outros	–		1	(16,6%)	3	(43%)	4
TOTAL	5		6		7		18

Os resultados obtidos permitem evidenciar que BGNNF foram isolados de 70,3%, considerando sanitários e superfícies. Em ambos os sanitários, destaca-se o quantitativo de isolados bacterianos de descargas e maçanetas que contrariam diversos estudos que constataram uma maior contaminação nas torneiras, provavelmente pela alta umidade da superfície e pela recontaminação das mãos por coliformes após o uso dos sanitários (REZENDE, ARANTES, ROSA, 2015; PEIXOTO, FONTOURA, 2017; SILVA, C., *et al.*, 2019). Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que, em todos os sanitários analisados neste estudo, havia ausência de sanitizantes para as mãos, fato que desencoraja o uso das torneiras pelos usuários. Outro motivo seria a falta de tampas na maioria dos vasos sanitários analisados, o que torna maior a propagação de partículas e gotículas contaminantes durante a descarga dentro das cabines individuais.

É relevante enfatizar, que superfícies diversas além de torneiras e maçanetas podem estar contaminadas, como constatado por França *et al.* (2013), indicando que assentos sanitários são superfícies com maior número de unidades formadoras de colônia, uma vez que entram em contato direto com os fluidos corporais dos usuários por gotículas ou respingos que acontecem durante a realização das necessidades fisiológicas.

A variação de espécies bacterianas identificadas dos sanitários masculinos estão de acordo com Ngonda (2017) e Silva *et al.* (2019), os quais relatam maior contaminação de sanitários masculinos quando comparados aos femininos porque, de modo geral, o público feminino possui maiores cuidados de higiene ao frequentar sanitários, já que são um grupo mais propício a infecções do trato urinário, principalmente por fatores anatômicos.

P. stutzeri foi isolada de 20% de torneiras, 66,5% de descargas e 58,3% de maçanetas. O fato desta espécie possuir grande plasticidade genômica pode explicar sua presença e predominância em ambientes diferentes (DE SOUSA, 2019). Por estar amplamente presente no solo, sua presença nos sanitários analisados, nesse estudo, deve-se ao grande fluxo de pessoas que circulam no ambiente, servindo como carreadoras desse bacilo, uma vez que parte significativa dos estudantes do campus universitário em questão utilizam atalhos de estrada de terra para se deslocarem de um local a outro, gerando suspensão de poeira e, assim, contaminação do ambiente.

Outro fator que pode ser o responsável pela contaminação dos sanitários é que bacilos do gênero *Pseudomonas* sp. podem estar presentes em soluções antissépticas vencidas ou inativadas, além de apresentar resistência a alguns tipos de sanitizantes como fenóis sintéticos, compostos quaternários de amônio, clorexidina e polihexametileno biguanida, sendo necessária a verificação dos produtos de limpeza utilizados na higienização das superfícies dos sanitários analisados (SANTOS; CASTRO, 2021).

Infecções mais comuns relacionadas com o gênero *Pseudomonas* sp. que podem ser adquiridas em ambientes de uso compartilhado contaminados são otite externa, adquirida por água contaminada, podendo ser mais grave em pessoas diabéticas, foliculites, onde ocorre a inflamação dos folículos capilares por ação desses bacilos, infecções oculares, podendo ser adquirida por coçar os olhos com as mãos contaminadas (SILVA, 2015). Como o grupo que se destaca no uso nos banheiros analisados são estudantes da área de saúde, há um risco aos locais de estágio realizados por eles, como hospitais e unidades básicas de saúde.

Recentemente, casos clínicos de endocardite causados por esse bacilo foram documentados por ALWAZZEH, *et al* (2020) e HALABI, *et al.* (2019), além de casos de

endofthalmite, também causados por *P. stutzeri*, foram relatados por HANDA *et al* (2022) e SHAH *et al.* (2020). Apesar dos casos relatados, os autores afirmam que as infecções causadas por essa espécie são raras e que acometem principalmente pacientes imunocomprometidos.

Aeromonas veronii, isolado em uma torneira do banheiro masculino (20%), é uma espécie que tem capacidade de causar infecções em humanos, sendo transmitido principalmente pelo consumo de água e alimentos contaminados, colonizando o trato gastrointestinal, o que os classifica como microrganismos oportunistas. As infecções causadas por esses bacilos vão desde furunculoses a diarréias, e em casos mais severos, septicemia, que pode advir do agravamento de um quadro de gastroenterite (PESSOA *et al.*, 2019). São também capazes de causar infecções em tecidos moles, como na região ocular e no trato respiratório (FERNÁNDEZ-BRAVO; FIGUERAS, 2020), sendo então uma preocupação em casos de contaminação das mãos nos banheiros, já que pode facilmente ser transferido para olhos e boca e, no presente trabalho, *A. veronii* foi isolado de torneiras, uma superfície tocada inclusive por pessoas que não utilizam os vasos sanitários. Além disso, a contaminação por este bacilo Gram-negativo pode ter se dado pela má qualidade da água utilizada, já que se trata de água de poço.

Obtivemos um isolado de *Acinetobacter haemolyticus* de torneiras do banheiro masculino (20%). Apesar de ser um gênero mais comumente encontrado em ambiente hospitalar, espécies de *Acinetobacter* spp. já foram isoladas em amostras de raízes de plantas e do solo (GOVENDER, *et al.*, 2020; ALHASHIMI, *et al.*, 2021), evidenciando sua presença no meio ambiente. Sua presença nos sanitários analisados pode ser justificada pela contaminação cruzada decorrente de alunos com as mãos contaminadas vindos de ambientes de assistência à saúde ou, assim como no caso da *Pseudomonas* sp., por conta da ampla arborização da universidade. *Acinetobacter* pode ser responsável por infecções como pneumonias, meningites, infecções intra-abdominais, do trato urinário e infecções de pele e tecidos moles. Além disso, sua detecção em um ambiente tão movimentado como banheiro de uso compartilhado chama atenção por ser um bacilo com terapia antibiótica limitada devido ao alto grau de resistência (GOVENDER, *et al.*, 2020).

O gênero *Enterobacter*, representando nos nossos resultados pelas espécies *Enterobacter cloacae* (2,7%) e *Enterobacter hormaechei* (5,4%) se destacam em infecções do trato urinário, respiratório e na pele (SILVA *et al.*, 2019). Foram isolados apenas nas torneiras, assim como evidenciado por Takano *et al.* (2021), que analisaram sanitários sociais de uma faculdade em São Paulo, podendo justificar este comportamento pelo fato da umidade das

torneiras ser muito maior do que nas válvulas de descargas e maçanetas, favorecendo o crescimento da bactéria. Podem ser transmitidos por contato direto com mãos contaminadas, o que se torna uma preocupação no caso de estudantes usuários dos sanitários que estão realizando estágios, tanto em meio hospitalar, quanto em manipulação de fármacos. Apesar dos cuidados de higiene adotados nesses ambientes, a falta de sabonetes e higienizantes para as mãos nos sanitários analisados, como já citado anteriormente, pode aumentar o grau de contaminação dos usuários.

A presença de *E. coli*, *K. aerogenes* e *K. pneumoniae* aponta uma contaminação por material fecal, sugerindo uma higienização precária dos sanitários, contaminação pelas mãos e pelas gotículas geradas pela descarga. São espécies isoladas frequentemente em análises microbiológicas de banheiros, como mostram os estudos de Alonge *et al.* (2018), Oliveira Filha *et al.* (2018) e Matini *et al.* (2020), e estão relacionados com casos de infecção urinária, o que levanta preocupação pela sua presença nas superfícies de banheiros públicos.

Providencia rettgeri é um bacilo Gram-negativo pertencente à família *Morganellaceae* e foi isolado de torneira de sanitário feminino (20%). Peixoto e Fontoura-da-Silva (2007) e Oliveira Filha *et al.* (2018) também isolaram espécies de *Providencia* sp. em sanitários de uso compartilhado em shoppings e numa instituição de ensino superior, respectivamente, o primeiro tendo isolado *P. rettgeri* também de torneiras, assim como o presente trabalho, o que mostra uma fácil contaminação pelas mãos. Infecções causadas por essa espécie são, em sua maioria, casos de meningite em animais como peixes, crocodilos e porcos (LACERDA; PORTELA, 2021). Por outro lado, em humanos, já foram relatados casos de infecções do trato urinário, além de ser uma bactéria capaz de infectar feridas abertas, principalmente queimaduras, podendo levar a septicemia. Essas infecções estão relacionadas principalmente com imunocomprometidos e diabéticos (HUFF; BLOME-EBERWEIN, 2022).

Apesar da detecção dos contaminantes realizada neste trabalho, os sanitários analisados são higienizados diariamente. Entretanto Ofonime Ogba *et al.* (2017) realizaram análise microbiológica de banheiros públicos de Hotéis, Igrejas e Escolas da Nigéria, locais que possuem um cronograma frequente de limpeza, e foram isoladas espécies de BGN como *E. coli* e *Salmonella*. sp. Esses resultados reforçam que apenas a higienização frequente das superfícies não é suficiente para livrar o ambiente de contaminação, os cuidados individuais no uso dos banheiros e sanitários são essenciais.

Além disso, vale ressaltar que o tipo de desinfetante utilizado é extremamente importante. Estudos foram feitos para avaliar ação de diferentes substâncias desinfetantes,

como álcool 70%, ácido paracético, dióxido de cloro, detergente neutro e hipoclorito de sódio, revelando que a maioria dos agentes desinfetantes, apesar de diminuir drasticamente o número de colônias nas superfícies, não inibem o crescimento total das bactérias estudadas (*E. coli*, *Pseudomonas* e *Klebsiella*) (DUTRA *et al.*, 2022; CASTRO *et al.*, 2022).

A disseminação de bactérias através das mãos é um agravo prevenível com as boas práticas de higiene, porém, é a principal causa de IRAS e é um problema de saúde pública que preocupa todo o mundo, uma vez que essas infecções hospitalares levam ao aumento do tempo de internamento, dificultam no processo de tratamento e cura e aumentam a taxa de mortalidade dos pacientes (MELLO; OLIVEIRA, 2021). A riqueza de espécies encontradas nos sanitários analisados neste trabalho levantam preocupações quanto aos tipos de infecções comunitárias que podem ser causadas devido a contaminação de superfícies de uso comum. A contaminação cruzada é uma ameaça não só no ambiente hospitalar, uma vez que o homem pode difundir esses possíveis patógenos para espaços de convivência, veículos de transporte, residências, ambientes de estudo, ambientes de serviços de saúde, entre outros, gerando assim uma disseminação generalizada, pondo em risco a saúde de toda uma população.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

- Houve o predomínio de bacilos Gram-negativos não-fermentadores em sanitários masculinos e femininos, como também nas respectivas torneiras, descargas e maçanetas;
- A espécie *Pseudomonas stutzeri* foi prevalente de ambos os sanitários, especialmente em descargas e maçanetas ;
- *Enterobacter hormaechei* foi a espécie mais isolada de torneiras do sanitário feminino;
- Não houve predominância de espécie bacteriana isolada de torneiras do sanitário masculino, caracterizando a miscelânea entre bacilo gram-negativo de diferentes espécies.

7 REFERÊNCIAS

ADEGOKE, A., OKOH, A., STENSRTOM, T. ***Stenotrophomonas maltophilia* as an Emerging Ubiquitous Pathogen: looking beyond contemporary antibiotic therapy.** *Frontiers in Microbiology*, 2017; 8: 1-18.

ALHASHIMI, I. S. M.; ABDUL-JABBAR, R. A.; ISSA, S. K. . The ability of *Acinetobacter haemolyticus* isolated from soil removes heavy elements (Cd, Pb, Zn, Ni). **Materials Today: Proceedings.** p. 2214-7853. Iraq, 2021.

ALWAZZEH, M., ALKUWAITI, F., ALQASIM, M., ALWARTHAN, S., EL-GHONEIMY, Y. Infective Endocarditis Caused by *Pseudomonas stutzeri*: A Case Report and Literature Review. **Infect Dis Rep.** 2020;12(3):105-109. Publicado em 2 de dezembro de 2020.

ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.** Módulo 6 : Detecção e identificação de bactérias de importância médica. **Agência nacional de vigilância sanitária.**, 9ª ed. Brasília. Ed. Ag. Nac. de Vig. Sanit., 2013.

AMATI, F.; RESTREPO, M. I. **Emerging Resistance of Gram Negative Pathogens in Community-Acquired Pneumonia.** *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 41, cap. 04, p. 480–495. 2020.

AZEVEDO, A. P., MARINHO, D. T. S., CONCEIÇÃO, E. R., BARBOSA, D., FARIA, S. G., NASCIMENTO, J. S., NEVES, M. O. L., SILVA, T. V., FONSECA, I. O., LIMA, G. N. ***Pseudomonas aeruginosa*: Perfil de resistência antimicrobiana e principais sítios de infecção de amostras colhidas de pacientes imunossuprimidos.** *Revista Feridas*, v. 11, c. 58, p. 2117-2122. 2023.

BRADY, M. F., JAMAL, Z., PERVIN, N. ***Acinetobacter*.** StatPearls Publishing; 8 de Agosto de 2022.

CASE, C.; FUNKE, B.; TORTORA, G. **Microbiologia.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

CASTRO, L. W. S.; COSTA, M. E. F.; CORREA, R. F. R.; OLIVEIRA, R. C. .; ABREU, D. F. de .; BASTOS, D. K. L.; DINIZ, W. P. M.; VIANA, P. R. S.; PINTO, D. K. B.; VIEIRA, S. L.; NUNES, M. A. S.; SILVA, F. de M. A. M.; SILVA, M. R. C.; SABBADINI, P. S.; FIRMO, W. da C. A. Análise da eficiência de soluções desinfetantes em diferentes superfícies de laboratório de análises clínica. **Conjecturas**, [S. l.], v. 22, n. 13, p. 111–121, 2022. Disponível em: < <http://conjecturas.org/index.php/edicoes/article/view/1657>> . Acesso em: 18 abr. 2023.

CORREA, E. et al . BACTÉRIAS RESISTENTES ISOLADAS DE SUPERFÍCIES INANIMADAS EM UM HOSPITAL PÚBLICO. **Cogitare enferm.**, Curitiba , v. 26, e74774, 2021 . Disponível em < http://www.revenf.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-85362021000100358&lng=pt&nrm=iso >. acessos em 17 abr. 2023. Epub 05-Nov-2021.

CHUMBITA, M., MONZO-GALLO, P., LOPERA-MÁRMOL, C., AIELLO, T. F., PUERTA-ALCALDE, P., GARCIA-VIDAL, C. **New treatments for multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli Infections**. Revista española de quimioterapia : publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia. vol. 35, Suppl 3, p. 51-53. 2022.

DARGE, A., KAHSAY, A. G., HAILEKIROS, H., NIGUSE, S., & ABDULKADER, M. Bacterial contamination and antimicrobial susceptibility patterns of intensive care units medical equipment and inanimate surfaces at Ayder Comprehensive Specialized Hospital, Mekelle, Northern Ethiopia. **BMC research notes** vol. 12, p. 621. 23 de Set. 2019.

DUTRA, J.; PIZZOLATTO, G.; GRISA, N.; ZENATTI, P.; BITTENCOURT, M.; PAVINATO, L.; FUNK, P.; PALHANO, H.; CORRALO, D. Atividade antimicrobiana, in vitro, de desinfetantes de superfície sobre fungos e bactérias. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [S. l.], v. 13, p. 9, 2022. Disponível em: <https://ojs.iec.gov.br/index.php/rpas/article/view/1406>. Acesso em: 19 abr. 2023.

FERNÁNDEZ-BRAVO, A.; FIGUERAS, M. An Update on the Genus *Aeromonas*: taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. **Microorganisms**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 129, 17 janeiro 2020.

FILHA, H. , ROCHA, J., MATOS-ROCHA, T., PIMENTEL, E., GRIZ, S., LOPES, V., RODRIGUES, M. **Ocorrência de agentes infecciosos em torneiras dos banheiros de uma instituição de ensino superior**. Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo. V. 63, n. 1, p. 25-30. 2018.

FRACAROLLI, I. F. L.; MARZIALE, M. H. P. **Características microbiológicas das mãos e anéis de trabalhadores de saúde - revisão integrativa**. Cienc. enferm., Concepción, Chile, v. 25, p. 11, 2019. Disponível em <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532019000100302&lng=es&nrm=iso>. Acessado em 11 fev. 2023.

França, A. CRUZ, K., DA SILVA, R. **Análise Microbiológica de Banheiros de Bares do Município de Anápolis - GO** In: Anais do 13º Congresso Nacional de Iniciação Científica SEMESP, 2013; Campinas. Campinas: - Faculdade Anhanguera de Campinas; . P. 1-9.2013.

GOVENDER, R.; AMOAH, I. D.; KUMARI, S.; BUX, F.; STENSTRÖM, T. A.. Detection of multidrug resistant environmental isolates of *Acinetobacter* and *Stenotrophomonas maltophilia*: a possible threat for community acquired infections? **Journal of Environmental Science and Health**, Part A, p. 1–13. 2020.

GUO, Y., SONG, G., SUN, M., WANG, J., WANG, Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Front Cell Infect Microbiol**. v. 10, p. 107. China, 17 Mar. 2020.

HALABI, Z., MOCADIE, M., EL ZEIN, S., & KANJ, S. S. *Pseudomonas stutzeri* prosthetic valve endocarditis: A case report and review of the literature. **Journal of infection and public health**, vol. 12,3 (2019): 434-437. 2019.

HANDA, S., SINGH, S., SHARMA B, RANA, V., BAZGAIN, K., TEKCHANDANI, U., NARANG, S., ANGRUP, A., BISWAL, M., RAY, P., GUPTA, V. **Cluster outbreak of *Pseudomonas stutzeri* acute endophthalmitis following phacoemulsification: A report of 14 cases from North India**. Indian J Ophthalmol. vol. 70,6 (2022): 2084-2089.

HELDEWEG, M., BEREND, K., CADENAU, L., ROSINGH, A., DUIJS, A. J., VAN MANSFELD, R., AND TUINMAN, P. Bacterial Contamination of Ultrasound and Stethoscope Surfaces in Low- and High-Resource Settings. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 107, 2, 463-466, 2022. available from: <<https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0074>> [Accessed 12 April 2023]

HUFF M. L., BLOME-EBERWEIN, S. ***Providencia rettgeri* Infection Compromising Post-Burn Recovery: A Lesson in the Importance of Follow-Up Care**. Cureus 14(5): e25450. 29 de Maio, 2022.

JAIN, M., SHARMA, A., SEN, M. K., RANI, V., GAIND, R., SURI, J. C. Phenotypic and molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* isolates causing lower respiratory infections among ICU patients. **Microbial pathogenesis**, 128, 75-81, 2019.

JANDA, J. M., ABBOTT, S .L.. The Changing Face of the Family *Enterobacteriaceae* (Order: "*Enterobacterales*"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. **Clin Microbiol Rev.** v. 34, cap. 2, p. e00174-20. Publicado em 24 Fev. 2021.

JÚNIOR, I. F.; JÚNIOR, D. L.; AL YAFAWI, T.; FREITAS, J. DE; LEANDRO, L. M.; AQUINO, P. E.; FERREIRA, S.; DA SILVA, R. O. **Avaliação microbiológica de secadores de mãos elétricos em banheiros de uso comum.** Revista Arquivos Científicos (IMMES), v. 3, n. 2, p. 72-77, 16 dez. 2020.

KARAKONSTANTIS, S., KRITSOTAKIS, E, GIKAS A. **Treatment options for K. pneumoniae, P. aeruginosa and A. baumannii co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline:** an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. *Infection* vol. 48, p. 6 2020.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.. **Diagnóstico microbiológico:** texto e atlas colorido. 6ª ed. Rio de Janeiro, 2008. Ed. Médica e Científica.

LACERDA, L. E. .; PORTELA, R. W. . Perfil de sensibilidade a antibióticos de um isolado de *Providencia rettgeri* proveniente de equino. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 20, n. 3, p. 413–417, 2021. Disponível em: < <https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/47084> > . Acesso em: 22 abr. 2023.

LEMES, E.; MATOS, J.; RAMOS, A.; PONCE, B.; FREITAS, A.; PINTO, E.. **PERFIL DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS EM INFECCÕES COMUNITÁRIAS DO TRATO URINÁRIO EM MULHERES DA CIDADE DE ANÁPOLIS/GO.** Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres. v. 10 n. 1. 2021.

MACEDO, C., PIEROTE, B., PEREIRA, K., DA SILVA, K., DA SILVA, K., SAMPAIO, J., JUNIOR, A. (2020). **Análise microbiológica de provadores de maquiagens.** Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 12, cap. (3), E2582-E2582

MATINI, E., SHAYEGHI, F., VAGHAR M., NEMATIAN, J., HOSSEINI, S., MOJRI, N., TAHERABADI, N., HAKIMI, R., AHMADI, N., BADKOUBEH, N., ESMAEILI, H., AKHLAGHI, M., VASEGHNIA, H.. A survey of public restrooms microbial contamination in Tehran city, capital of Iran, during 2019. **J Family Med Prim Care**. 2020; v. 9, cap. 6, p. 3131-3135. Publicado em 30 jun. 2020.

MELLO, M.; OLIVEIRA, A. Challenges for adherence to bacterial resistance actions in large hospitals. **Rev Bras Enferm**. v. 74, n.3: e20200510. 2021.

MISHRA, S., MAHARJAN, S., YADAV, S., SAH, N., SHARMA, S., PARAJULI, K., SHERCHAND, J. Bacteria on Medical Professionals' White Coats in a University Hospital. **The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology**. Canadá. v. 2020, 29 de Out, 2020.

MOJICA, M. F., HUMPHRIES, R., LIPUMA, J. J., MATHERS, A. J., RAO, G. G., SHELBURNE, S. A., FOUTS, D. E., VAN DUIN, D., & BONOMO, R. A. . Clinical challenges treating *Stenotrophomonas maltophilia* infections: an update. **JAC-antimicrobial resistance**, v. 4, cap. 3. Publicado em 5 de maio de 2022.

MORIYA, T.; MÓDENA, J. L. **Assepsia e antisepsia: técnicas de esterilização**. Medicina (Ribeirão Preto. Online), 41(3): 265- 273, 2008.

OLIVEIRA, A. C. de; SILVA, M. das D. M. Jalecos de trabalhadores de saúde: um potencial reservatório de microrganismos. **Medicina (Ribeirão Preto)**, [S. l.], v. 48, n. 5, p. 440-448, 2015. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v48i5p440-448. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/112590>. Acesso em: 11 fev. 2023.

OLUYEMI, O., OLUYEMI, A., OMONIKE, K.. Microbiological Assessment of Secondary School Toilets Wall and Door Handles in Ondo, Ondo State. **International Journal of Public Health and Health Systems**. Vol. 3, No. 6, 2018, p. 123-130.

PASCALE, R., CORCIONE, S., BUSSINI, L., PANCALDI, L., GIACOBBE, D. R., AMBRETTI, S., LUPIA, T., COSTA, C., MARCHESE, A., DE ROSA, F. G., BASSETTI, M., VISCOLI, C., BARTOLETTI, M., GIANNELLA, M., VIALE, P.. Non-fermentative gram-negative bloodstream infection in northern Italy: a multicenter cohort study. **BMC Infect Dis**. 2021; v. 21, cap. 1, p. 806. Published 2021 Aug 12.

PATZI, A; VILLALOBOS, C. Bactérias Gram Negativas. **Rev. Act. Clin. Med**, La Paz, 2023 Disponível em http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014001000005&lng=es&nrm=iso > Acessado em 27 fev. 2023.

PESSOA, R.; et al. The genus *Aeromonas*: a general approach. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 130, p. 81-94, maio de 2019.

PIMENTEL M., MEDEIROS, C., MARTINS, L., SILVA, M., ROCHA I., DE OLIVEIRA, S. **Biofilm production by resistant non-fermenting gram-negative bacilli from intensive care units.** *Rev Pre Infec e Saúde.* 2020.. Disponível em: < <http://www.ojs.ufpi.br/index.php/nupcis/article/view/9732> >

POZZATO RS; PARISI MM. **Clinical and microbiological profile of hospital infection cases occurred in a medium-sized hospital of the northwest of Rio Grande do Sul.** *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 2018; 50 (3): 1-9.

QURESHI, ANJUM , AND JAVED H NIAZI . **Biosensors for detecting viral and bacterial infections using host biomarkers: a review.** *The Analyst* vol. 145,24 (2021): 7825-7848. doi:10.1039/d0an00896f

RABELLO, R., CAIXETA, L., CAIXETA, S., ROCHA, M., FELICIO, V. Caracterização do perfil de resistência a fluoroquinolonas, Patos de Minas, MG. **Rev Bras. Anal. Clin.** 2011; 43(2): 110-5.

REZENDE, C., ARANTES, T., ROSA, N. **Identificação bacteriológica em banheiros de unidades básicas de saúde de municípios do noroeste paulista, Brasil.** *Infarma-Ciências. Farmacêuticas*, v. 27, cap. 1, p. 28-32. 2015.

SANTOS, L. G. T. dos .; CASTRO, M. da C. A. IDENTIFICAÇÃO DO RISCO DA RESISTÊNCIA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA A ANTISSEPTICOS EM UNIDADES DE EMERGÊNCIA: UMA REVISÃO DE LITERATURA . **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 735–748, 2021.a

SANTOS, I.; NOGUEIRA, J., MENDONÇA, F. **Mecanismos de resistência antimicrobiana em *Pseudomonas aeruginosa***. Revista Brasileira de Análises Clínicas – RBAC. 2015; 47(1/2): 5-12.b

SCHRECK, J., LASHAKI, M., HASHEMI, J., DHANAK, M., VERMA, S. **Aerosol generation in public restrooms**. Physics of fluids (Woodbury, N.Y. : 1994) v.. 33, P. 3, 2021.

SHAH, A., SENGER, D., GARG, B., MISHRA, S., GOEL, S., SAURABH, K., ROY, R. **Post cataract *Pseudomonas stutzeri* endophthalmitis: Report of a case and review of literature**. *Indian J Ophthalmol*. 2020;68(1):232-233.

SILVA, A. **Infecções por pseudomonas aeruginosa**. 2015. Disponível em: Título: (ciencianews.com.br). Acesso em: Abr. 2023.

SILVA, C., et al. **IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM BANHEIROS DO FUNEC-CENEC E SEUS RISCOS PARA TRANSMISSÃO DE INFECÇÕES URINÁRIAS**. As Ciências Biológicas e a Construção de Novos Paradigmas de Conhecimento, vol 2, cap. 5, p. 37. 2019.

SOZZI, J., MIGUEL, Y., MORAIS, L., GOMES-JÚNIOR, M., FERREIRA, A., GARCIA, P. **Pesquisa de Bactérias Patogênicas em Superfícies e Equipamentos de Ambulâncias**. Revista Médica de Minas Gerais. v. 29, p. 2036. 2019.

SUEN, L.K.P.; SIU, G.K.H.; GUO, Y.P.; YEUNG, S.K.W.; LO, K.Y.K.; O'DONOGHUE, M. The public washroom – Friend or foe? An observational study of washroom cleanliness combined with microbiological investigation of hand hygiene facilities. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**. Vol. 8, n. 47. 28 de fevereiro de 2019.

TAMADONFAR, K., OMATTAGE, N., SPAULDING, C., HULTGREN, S.. Reaching the End of the Line: Urinary Tract Infections. **Microbiology Spectrum**. Vol. 7, n.. 3, p. 14. Maio, 2019.

THI, M. T. T., WIBOWO, D., & REHM, B. H. A. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **International journal of molecular sciences**, vol. 21, cap. 22, p. 8671. publicado em 17 Nov, 2020.

TRIPATHI, N., SAPRA, A. **Gram Staining**. StatPearls, StatPearls Publishing, 8 August 2022.

WHISTLER, T., SANGWICHIAN, O., JORAKATE, P., SAWATWONG, P., SURIN, U., PIRALAM, B., THAMTHITIWAT, S., PROMKONG, C., PERUSKI, L. **Identification of Gram negative non-fermentative bacteria: How hard can it be?** vol. 13, p. 9. 30 Set. 2019.

World Health Organization (WHO). **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics**; 2017:1-7.

YIN, W., WANG, Y., LIU, L., HE, J. Biofilms: The Microbial "Protective Clothing" in Extreme Environments. **Int J Mol Sci**. 20(14):3423. Publicado 12 Jul 2019.

ZAHORNACKÝ, O., PORUBČIN, Š., ROVNÁKOVÁ, A., JARČUŠKA, P. Gram-Negative Rods on Inanimate Surfaces of Selected Hospital Facilities and Their Nosocomial Significance. **International Journal of Environmental Research and Public Health**.. v. 19, cap. 10, p. 6039. Publicado em 16 de maio de 2022.

ZHANG H, JOHNSON A, ZHANG G, YANG Y, ZHANG J, LI D, DUAN S, YANG Q, XU Y. **Susceptibilities of Gram-negative bacilli from hospital- and community-acquired intra-abdominal and urinary tract infections: a 2016-2017 update of the Chinese SMART study**. *Infect Drug Resist*. vol. 12, p. 905-914. Publicado em 24 de abril de 2019.

ZHAO, P., CHAN, P.-T., GAO, Y., LAI, H.-W., ZHANG, T., LI, Y., 2019. **Physical factors that affect microbial transfer during surface touch**. *Build. Environ*. 158, 28–38.