

Isolamento e identificação de bactérias em telas de celulares

Marina Ferreira Camussi¹, Raquel Batista Castilho¹

Mauricio Pereira Lima², Priscila Reina Siliano³, Marcia Zorello Laporta³

¹ Graduação, Ciências Biológicas, Centro Universitário Fundação Santo André,
marinaf.camussi@gmail.com, raq.omnis@gmail.com

² Microbiologista, mlima4155@gmail.com

³ Professor Doutor, Centro Universitário Fundação Santo André, priscila.siliano@fsa.br,

RESUMO

As bactérias são seres unicelulares e procariontes, estão amplamente distribuídas em todos os ambientes e desempenham diversas funções, porém há aquelas potencialmente patogênicas, responsáveis por infecções e doenças em plantas e animais. O objetivo do presente estudo foi pesquisar a presença de bactérias em telas de celulares, identificar os microrganismos isolados e verificar sua sensibilidade aos antibióticos. As amostras das superfícies das telas dos celulares foram coletadas com swabs estéreis, semeadas em caldo nutriente e em meios de culturas específicos. Para a identificação de bactérias Gram positivas, foram realizadas semeaduras em meios de cultura ágar sangue, coloração de Gram, teste de catalase, semeadura em ágar Sal Manitol, teste de DNase, teste de Pyr, Staph- test, teste da coagulase e semeadura em meio Baird Parker. Para a identificação de Gram negativas, foram realizadas semeaduras em ágar MacConkey, coloração de Gram e identificação por meio do Enterokit B. Foram analisadas 46 amostras, sendo identificadas as espécies *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, bacilos Gram positivos, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Serratia* spp, *Serratia liquefaciens*, *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Muitas bactérias encontradas são potencialmente patogênicas, podendo provocar infecções urinárias, infecções respiratórias, infecções cutâneas e choque tóxico, por este motivo a eficiente higienização do aparelho e das mãos é de extrema importância para o controle microbiológico.

Palavras-chave: Celulares. Bactérias. Patogenicidade. Microbiologia.

INTRODUÇÃO

Os microrganismos estão presentes em todos os lugares, interna e externamente no corpo, no meio ambiente, nos objetos etc. Os objetos utilizados diariamente estão constantemente sujeitos à contaminação, como é o caso dos celulares. A partir dos anos 80, quando os

primeiros exemplares de celulares foram comercializados, passaram a ser um item bastante presente na vida de muitas pessoas. Com o aumento da tecnologia os celulares tornaram-se mais modernos e hoje são utilizados como meio de comunicação, interação por redes sociais e até instrumento de trabalho. O tecido cutâneo está constantemente em contato

com o meio ambiente e com microrganismos, tornando-se rapidamente colonizados por certas espécies bacterianas. Microbiologistas dizem que a combinação do manuseio constante e o calor gerado pelo funcionamento do celular, criam um local propício para a maioria dos tipos de microrganismos que são normalmente encontrados em nossa pele (NUNES & SILIANO, 2016; BALDO et al., 2016).

Desta maneira, o presente estudo teve como objetivos identificar as bactérias isoladas a partir de amostras de telas de celulares e descrever seu potencial em relação aos agravos à saúde dos usuários e também determinar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das bactérias encontradas.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram provenientes de telas de 46 celulares do tipo *touch screen* de alunos do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Fundação Santo André. As amostras foram coletadas com auxílio de um *swab* estéril, umedecido em salina (NaCl 0,9%) estéril. Para a coleta da amostra, o *swab* foi friccionado em toda a superfície da tela do celular. As amostras coletadas foram semeadas em tubos contendo 2mL de caldo nutriente (Merck,

Alemanha) e foram incubados a 37° C por 24 h. Após este período, com auxílio de uma alça de inoculação esterilizada, a cultura bacteriana em caldo foi semeada em 4 quadrantes em uma placa de Ágar sangue (Probac, Brasil) e em uma placa de ágar MacConkey (Merck, Alemanha) e, então, incubadas a 37° C, por 24 h. Em seguida, foi feita coloração de Gram para identificação da morfologia e para a classificação em Gram positivas ou Gram negativas.

As colônias Gram negativas isoladas na placa de ágar MacConkey foram semeadas na série bioquímica Enterokit B (Probac, Brasil), com vistas à identificação da bactéria.

As colônias Gram positivas isoladas na placa de Ágar Sangue foram submetidas ao teste de catalase. Em uma lâmina de vidro, foi colocada uma gota de água oxigenada (H₂O₂). Com auxílio de uma alça de inoculação esterilizada, a colônia foi coletada e misturada à gota de água oxigenada. Caso ocorra formação de bolhas, que correspondem à liberação de O₂, devido à lise da H₂O₂ pela enzima catalase, o resultado é positivo. Cocos Gram positivos, em cadeia, catalase negativa, são sugestivos de *Streptococcus* spp. Cocos Gram positivos em cachos, catalase positiva, são sugestivos de *Staphylococcus* spp.

Os cocos Gram positivos isoladas na placa de Ágar Sangue foram semeadas em Ágar Sal Manitol (Laborclin, Brasil) na forma de um pequeno esfregaço circular, em seguida as placas foram incubadas a 37°C, por 24h. Formação de colônias amarelas indica resultado positivo, ou seja, fermentação do manitol, enquanto a ocorrência de colônias rosadas indica resultado negativo, ou seja, não fermentação do manitol.

As colônias Gram positivas foram também semeadas na placa contendo Ágar DNase (Laborclin, Brasil), na forma de um pequeno esfregaço circular. A seguir, as placas foram incubadas a 37°C, por 24h. Após este período a placa Ágar DNase foi nrevelada com ácido clorídrico (HCL 1N), se ocorrer a formação de colônias com halo, o resultado é positivo, ou seja, houve produção da enzima DNase. Se as colônias desenvolvidas não apresentarem halo, o resultado negativo, ou seja, não houve produção da enzima DNase. Quando os testes Manitol e DNase forem positivos, são realizados os testes para a identificação da espécie *Staphylococcus aureus*: Staph-test (Probac, Brasil), teste da coagulase e semeadura em ágar Baird Parker (Laborclin, Brasil).

O teste da coagulase, iniciou-se utilizando um tubo de ensaio com 0,3 mL de plasma de coelho (Probac, Brasil). Com auxílio de alça de inoculação esterilizada,

foi coletada uma colônia do meio ágar Manitol e transferida para o tubo com plasma. Em seguida, o tubo foi incubado a 37° C por até 24h.

A leitura foi feita após 24 horas de incubação, ocorrendo coagulação do plasma, o teste é considerado positivo, como é o caso do *S. aureus*, se após 24 horas não ocorrer a coagulação, o teste é considerado negativo.

As colônias coagulase positivas foram, então, semeadas em caldo nutriente, incubadas a 37°C, por 24h e, então, semeadas em meio Baird Parker e incubada a 37°C, por 24h. Colônias de *S. aureus* nesse meio são cinzentas escuras a preto, brilhantes, convexas, com margens puras e zonas transparentes, com ocorrência ou não de zona opaca – halo-em torno.

Para confirmar o resultado obtido no ágar Baird Parker, as colônias foram submetidas ao Staph-test, que apresenta hemácias de carneiro sensibilizadas com hemolisina e fibrinogênio e que podem ser aglutinadas pela proteína A e o *clumping fator* de *S. aureus*. Para isso, uma gota do reagente Staphy-test é colocada em uma lâmina de vidro limpa, a seguir, é inoculado colônias típicas de *S. aureus*, crescidas no ágar Baird Parker, estas foram misturadas à gota do reagente. Se ocorrer aglutinação das hemácias, o teste foi considerado positivo, ou seja, *S. aureus*.

Quando os testes no meio Sal Manitol e/ou no teste DNase forem negativos, é realizado o teste Pyr. Com ajuda de uma pinça esterilizada, um disco do teste Pyr foi umedecido em água destilada esterilizada. A seguir, foi colocado em contato com a superfície da colônia em estudo, desenvolvida na placa de ágar Manitol. Em seguida, o disco foi colocado em uma lâmina de vidro e novamente umedecido com água destilada esterilizada. Na sequência, foi adicionada ao disco uma gota do reagente N, N-dimetilaminocinamaldeído. Se o disco adquirir cor rosada, a espécie é *Staphylococcus lugdunensis* e se ficar amarelado – teste negativo –, a espécie é um provável *Staphylococcus* coagulase negativa.

RESULTADOS

Do total de 46 celulares, 35 apresentaram bactérias Gram positivas (76,08%), 10 apresentaram bactérias Gram negativas (21,73%), e em 1 celular não houve crescimento bacteriano (2,17%).

Nas 10 amostras que apresentaram bactérias Gram negativas, foram identificadas 06 espécies bacterianas, sendo 03 destas de *Serratia marcescens*, 03 de *Escherichia coli*, 01 de *Hafnia alvei*, 01 de *Serratia* sp., 01 de *Klebsiella pneumoniae* e 01 de *Serratia liquefaciens*.

Em 35 amostras testadas para a identificação de bactérias Gram positivas, foram identificadas 5 diferentes espécies de bactérias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* em 17%, *Staphylococcus* spp coagulase negativa em 39%, *Staphylococcus lugdunensis* em 19%, Bacilos Gram positivos em 22%.

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi verificado que a taxa de celulares contaminados por algum tipo de bactéria é bastante alta (97%), corroborando o trabalho de Nunes e Siliano (2016), que encontraram a taxa de 96% de contaminação. Bactérias Gram positivas do gênero *Staphylococcus* foram identificadas na maioria dos celulares (76,08%) enquanto as Gram negativas foram encontradas em menor frequência (21,73%). Os resultados de Nunes e Siliano (2016) foram similares: bactérias Gram positivas do gênero *Staphylococcus* foram encontradas em 91% dos celulares e, dentre as bactérias Gram negativas, a espécie encontrada com maior frequência foi a *Serratia marcescens* (7%).

Kilic et al. (2009), em um estudo sobre a colonização microbiana de celulares utilizados por equipes hospitalares, verificaram que 61,5% das amostras estavam contaminadas e que os micro-organismos mais encontrados foram

Staphylococcus epidermidis, seguido por *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp., *Corynebacterium* spp. e *Escherichia coli*. Resultado similar ao encontrado no presente estudo: *Staphylococcus* spp coagulase negativa, (39%), *Staphylococcus lugdunensis* (19%), *Staphylococcus aureus* (17%).

Diversos tipos de bactérias podem ser isolados em meios de cultura específicos, seletivos e diferenciadores. Uma das bactérias Gram positivas isoladas na presente pesquisa, a *Staphylococcus aureus*, é de particular interesse, pois é um micro-organismo patogênico, coagulase positiva, ou seja, capaz de promover a coagulação do soro, o que a diferencia das demais bactérias do gênero *Staphylococcus*. Essa bactéria pode provocar dois tipos de doenças, a primeira consiste numa ação direta, ou seja, o próprio microrganismo provoca a doença, havendo invasão nos tecidos; e a segunda envolve liberação de toxinas pela bactéria. (SILVA & PINTALHÃO, 2006).

As bactérias identificadas nas amostras retiradas das telas dos celulares são comumente encontradas na microbiota da pele humana, como bacilos Gram positivos e *Staphylococcus* spp coagulase negativa, entretanto, foram identificadas bactérias potencialmente patogênicas, como *Staphylococcus aureus*, que como já dito, podem produzir toxinas, e estão

envolvidas em bacteremias, endocardites, infecções e sepse (LOWY, 1998). *Staphylococcus lugdunensis* pode causar doenças diversas, como endocardites, infecções de pele e tecidos moles, osteomielites, entre outras. (SILVEIRA & D'AZEVEDO, 2011). *Klebsiella pneumoniae*, também é potencialmente patogênica, sendo muito encontrada em hospitais, causando infecções no trato respiratório. (POIREL et al., 2004). *Escherichia coli* é habitante normal da microbiota intestinal, mas há categorias implicadas em infecções intestinais (SOUZA et al., 2016), infecções urinárias, meningite, infecções de feridas, entre outras. (BUSH; SCHMIDT, 2020). *Serratia* spp, também pode ser responsável por causar graves infecções, principalmente no trato urinário. (CARVALHO et al., 2010; MENEZES et al., 2004) assim como *Hafnia alvei*, um potencial patógeno de humanos e outros animais. (DALLANORA et al, 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram estudadas 46 amostras obtidas de telas tipo do tipo touchscreen de aparelhos celulares, sendo identificadas bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp coagulase negativa, e Bacilos Gram

positivos em 35 celulares, e bactérias Gram negativas, como *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, e *Serratia* sp. em 10 celulares. Bactérias patogênicas encontradas nas telas dos celulares indicam a falta de higiene no manuseio, sendo recomendável a limpeza frequente da tela, com produtos indicados, evitar o manuseio do aparelho enquanto realizar atividades que exigem higiene, como se alimentar e utilizar o banheiro, lavar as mãos após o manuseio do aparelho, evitar apoiá-lo em superfícies contaminadas, atitudes que podem reduzir o risco de contaminação e o contato com microrganismos potencialmente patogênicos.

REFERÊNCIAS

BALDO, Aline et al. Contaminação microbiana de telefones celulares da comunidade acadêmica de instituição de ensino superior de Araguari (MG). **Revista Master**, Araguari, MG, v.1, n.1. Jan/ Jun. 2016. Disponível em: <<http://imepac.edu.br/public/assetsrevista/artigos/Artigo5.pdf>>. Acesso em: 14 mai. 2018.

BAUER, A.W., W.M.M. KIRBY, J.C. Sherris, and M. TURCK. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.

BUSH, Larry M.; SCHMIDT, Charles E. Infecções por *Escherichia coli*. **Manual MSD**. Disponível em:

<<https://www.msdmanuals.com/pt-br/casa/infec%C3%A7%C3%B5es/infec%C3%A7%C3%B5es-bacterianas-bact%C3%A9rias-gram-negativas/infec%C3%A7%C3%B5es-por-escherichia-coli>>. Acesso em: 20 set. 2019.

CARVALHO, Raimundo Gladson Corrêa et al. Caracterização fenotípica e genotípica de *Serratia marcescens* provenientes de Unidade Neonatal de Referência em Belém, Pará, Brasil. **Rev. Pan-Amaz Saúde**, v.1, n.1, p.101-106, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000100015>>. Acesso em: 20 set. 2019.

CLSI. Approved standard: M02-A12 - Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI, Wayne, PA, USA. Search for latest version at www.clsi.org.

DALLANORA, F. J.; DALLANORA, L. M. F.; PASSOS, H. dos. *Hafnia alvei*, um patógeno humano e animal. **Ação Odonto**, [S. l.], 2018. Disponível em: <https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/acaodont/article/view/17258>. Acesso em: 4 maio. 2019.

KILIC, I.H. et al. The microbial colonisation of mobile phone used by healthcare staffs. **Pak J Biol Sci**, v. 12, n. 11, p. 882 – 884, jun.

2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19803124>. Acesso em: 12 out. 2019.
- LOWY, Franklin D. *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of Medicine**, 1998, v. 339, p. 520 – 532. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199812313392716>. Acesso em: 16 out. 2019.
- MENEZES, Everardo Albuquerque et al. Frequência de *Serratia* sp em infecções urinárias de pacientes internados na Santa Casa de Misericórdia em Fortaleza. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v.37, n.1, p.70-71, fev. 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822004000100020&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 out. 2019.
- NUNES, Kamila Oliveira; SILIANO, Priscila Reina. Identificação de bactérias presentes em aparelhos celulares. **Science in Health**, v. 7, n. 01, p. 22-25, jan/abr.2016. Disponível em: http://arquivos.cruzeirodosuleducacional.edu.br/principal/new/revista_scienceinhealth/19_jan_abr_2016/Science_07_01_22-25.pdf. Acesso em: 12 out. 2019
- PATERSON, David L. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteria. **The American Journal of Medicine**, v.34, n. 5, p.520–528, jun.2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0196655306008534>. Acesso em: 04 mai. 2019.
- POIREL, Laurent et al. Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. **American Society for Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 15-22, jan 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC310167/>. Acesso em: 15 out. 2019.
- SEJAS, Lilian M. et al . Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442003000100006&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 06 jun. 2020. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000100006>.
- SILVA, Ana Aires; PINTALHÃO, Mariana. *Staphylococcus*. **Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**. Microbiologia. 10 out. 2006. Disponível em: https://users.med.up.pt/~cc04-10/Microdesgravadas/4_Staphylococcus.pdf. Acesso em: 12 jul. 2018.
- SILVEIRA, Alessandro Conrado de Oliveira; D'AZEVEDO, Pedro Alves. *Staphylococcus lugdunensis*: um olhar diferenciado no laboratório clínico. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**,

Rio de Janeiro, v. 47, n. 2, p. 151-156, abr. 2011. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442011000200010&lng=en&nrm=iso>.
Acesso em: 20 out. 2019.

SOUZA, Cintya de Oliveira et al. Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v. 7, n. 2, p. 79-91, jun. 2016. Disponível em
<http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232016000200079&lng=pt&nrm=iso>.
acessos em 04 maio 2021.
<http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232016000200010>.