

Pesquisa de micro-organismos em canetas esferográficas utilizadas por estudantes universitários

Survey of micro-organisms in pens used by university students

Camila Tatiana Pin Garcia¹, Denise Maria Forte Villas Boas Saleh², Suzethe Matiko Sasagawa³,
Lycia Mara Jenne Mimica⁴, Suely Mitoi Ykko Ueda⁵

Resumo

Objetos inanimados muito utilizados sem higiene e em contato com várias pessoas podem se tornar um fômite, como a caneta esferográfica. **Objetivo:** O presente estudo teve como finalidade avaliar a presença de bactérias e fungos nas canetas esferográficas utilizadas por estudantes universitários. **Metodologia:** Foram coletadas 24 canetas de estudantes universitários e feita a avaliação visual do estado de conservação e posteriormente feita a análise microbiológica das canetas coletadas e também aplicado um questionário aos alunos referente à utilização de sua caneta. **Resultados:** Nas canetas analisadas foram isolados os micro-organismos como *Staphylococcus coagulase-negativo*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp*, *Candida sp*, *Enterococcus sp* e *Acinetobacter lwoffii*. **Conclusão:** Todas as canetas analisadas tiveram a presença de micro-organismos. A metade dos universitários utiliza a caneta para outros fins, além da escrita. A adoção de medidas básicas de higiene reduz a probabilidade destas canetas tornarem-se fômites e disseminar os micro-organismos.

Descritores: Contaminação de equipamentos, Estudantes, Universidades, Bactérias, Fungos, Fômite/microbiologia

Abstract

Inanimate objects used very unhygienic and in contact with several people can become a fomites, such as the ballpoint pen. **Objective:** The present study was to evaluate the presence of bacteria and fungi in the pens used by college students. **Methods:** We collected 24 pens of university students and made a visual assessment of the condition and subsequently made the microbiological examination of pens collected and also used a questionnaire to students regarding the use of his pen. **Results:** In the analyzed markers were isolated microorganisms such as *Staphylococcus coagulase-negative*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp*, *Candida sp*, *Enterococcus sp* and *Acinetobacter lwoffii*. **Conclusion:** All pens analyzed showed the presence of microorganisms. Half of the students use the pen for other purposes besides writing. The adoption of basic hygiene reduces the likelihood of these pens become fomites and spread micro-organisms.

Key words: Equipment contamination, Students, Bacteria, Fungi, Fomite/microbiology

Introdução

Atualmente, sabe-se que os micro-organismos são encontrados praticamente em todos os lugares, multiplicam-se rapidamente, produzindo numerosas populações promovendo alterações no hábitat^(1,2).

Os habitats microbianos podem corresponder tanto a locais familiares ao homem como a outros totalmente inabitáveis, incluindo ambientes tão extremos que não permitem o desenvolvimento de formas superiores de vida. Estes micro-organismos exibem diversos tipos de interações, que podem ser tanto benéficas quanto prejudiciais ao ambiente e aos seres humanos⁽²⁾.

Possuímos uma grande variedade de micro-organismos sobre e no interior do nosso corpo que se modificam conforme idade, os hábitos nutricionais e o ambiente em que vivemos. Esses micro-organismos fazem parte da nossa microbiota normal, bactérias e fungos, principalmente, que são residentes permanen-

1. Aluna de Bacharelado na área de Ciências Biológicas da Universidade Cruzeiro do Sul e aluna de aperfeiçoamento em microbiologia na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

2. Professora de Ciências Biológicas e Saúde da Universidade Cruzeiro do Sul

3. Biotécnica da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas

4. Professora Adjunta da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Departamento de Ciências Patológicas

5. Professora Assistente da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo do Departamento de Ciências Patológicas

Trabalho realizado: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo do Departamento de Ciências Patológicas

Endereço para correspondência: Suely Mitoi Ykko Ueda. Rua Batista Junior, 190 – Parque do Lago – 04945 135 – São Paulo – SP – Brasil. E-mail: suelyueda@hotmail.com / smyyueda@gmail.com

tes de certos locais do corpo, especialmente a pele, o nariz, a boca, o trato intestinal e o genitourinário^(1,2,3).

As infecções bacterianas podem ser exógenas, infecções cujos agentes atingem o hospedeiro a partir de um reservatório ou fonte externa; e endógenas, infecções são causadas por agentes da microbiota normal do próprio hospedeiro⁽¹⁾.

Para que uma doença seja disseminada, deve haver fontes contínuas de organismos da doença, que pode ser um organismo vivo ou um objeto inanimado que forneça ao patógeno condições adequadas para sobreviver e se multiplicar, como também, oportunidade de transmissão (reservatório de infecção). Esses reservatórios podem ser humanos, animais e objetos inanimados⁽¹⁾.

A transmissão indireta causada por objetos inanimados ocorre quando o micro-organismo é transmitido de seu reservatório a um hospedeiro suscetível. Agentes inanimados, tais como roupas de cama, copos, talheres, dinheiro, brinquedos, livros, entre outros objetos são considerados fômites e podem causar doenças^(1,2).

Caneta esferográfica

A caneta esferográfica é um polímero utilizado por muitas pessoas em escritórios e diariamente por estudantes, podendo se tornar foco de contaminação por serem usados sem higiene, por estarem em vários locais e pelo contato com as pessoas.

Objetos inanimados são considerados fômites pela sua capacidade de adesão, colonização e formação de biofilme.

Alguns micro-organismos podem causar infecção através de uma pequena quantidade de inóculo através da colonização e sobreviverem em diferentes objetos inanimados, tanto de ambientes hospitalares e não hospitalares por horas ou até semanas^(4,5).

A caneta esferográfica, objeto de grande utilização e compartilhada entre as pessoas, apresenta um ambiente hostil para o desenvolvimento de micro-organismos, e ainda, alguns agentes infecciosos apresentam capacidade de adesão e colonização nas superfícies de polímeros.

Metodologia

Este trabalho prospectivo foi realizado no período de maio a julho de 2011. As canetas foram coletadas em uma universidade localizada na Zona Leste de São Paulo para avaliação e identificação dos principais micro-organismos que as colonizam (bactérias e fungos) pelo sistema Hemobac® Trifásico e preenchido questionário para avaliação da utilização das canetas pelos usuários. Este sistema de identificação de micro-organismos foi utilizado devido a sua praticidade na

semeadura e não contaminação com agentes do meio ambiente.

Foram coletadas 24 canetas de estudantes universitários de cursos variados, sendo 12 de homens e 12 de mulheres. Foram utilizados critérios na escolha das canetas para a redução de variáveis que poderiam comprometer o resultado final do trabalho.

As canetas não tiveram contato direto com o pesquisador, sendo elas, numeradas conforme questionário respondido pelo aluno e colocadas em sacos plásticos com zíper por eles. O não contato com o pesquisador foi um dos critérios utilizados para evitar o contato com outros micro-organismos e assim evitar a presença da contaminação pela microbiota do pesquisador.

O questionário foi elaborado com sete questões fechadas com múltiplas alternativas com o intuito de avaliar a utilização das canetas pelo aluno. Para as questões 5, 6 e 7 poderiam ser escolhidas mais de uma alternativa.

As canetas foram avaliadas visualmente após coleta para verificar aspectos de conformação ou dano visual e, posteriormente, comparado com o questionário respondido pelo aluno.

Os testes microbiológicos foram realizados no laboratório da Disciplina de Microbiologia do Departamento de Ciências Patológicas da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

A semeadura dos materiais foi realizada um dia após a coleta. Além das canetas coletadas, foram analisadas três canetas novas, três sacos plásticos com zíper e dois Hemobac® Trifásico, como grupo controle.

As extremidades da caneta (tampa dianteira e parte posterior do corpo) foram colocados no meio líquido do recipiente e assim acoplado com o laminocultivo do sistema Hemobac® Trifásico. Após a inoculação do material na fase líquida, o material foi agitado e invertido para que as faces com meio de cultura fossem semeados com o inóculo e incubados na estufa de 37°±2°C. Este procedimento foi repetido por três vezes, com avaliação visual do sistema e leitura em 24h, 48h e 7 dias.

Os critérios de positividade adotados foram: a presença de qualquer número de colônias e a partir de uma colônia de micro-organismo nas três faces do laminocultivo, turvação do meio líquido e a alteração da coloração do indicador observados durante sete dias.

Na presença do crescimento de colônias nos laminocultivos, para a identificação dos diferentes micro-organismos foram realizados os seguintes procedimentos: isolamento das colônias em placas de Ágar sangue com avaliação em 24h; identificação da morfologia bacteriana pela coloração de Gram; identificação dos micro-organismos através de provas bioquímicas, conforme padronização do laboratório

que segue as normas nacionais e internacionais da ANVISA⁽¹¹⁾ e do CLSI⁽¹²⁾.

Resultados

Das 24 canetas avaliadas foram identificados 34 micro-organismos. Quanto à característica dos alunos avaliados observamos que 12 (50%) pertenciam à faixa etária dos 21 aos 30 anos de idade, vide tabela 1.

Em relação à utilização da caneta, 50% dos estudantes utilizavam-na somente para escrita e a outra metade (50%) utilizavam também para outras finalidades como régua, prendedor de cabelo, para coçar a cabeça e costas, limpar unhas com a tampa e manusear peças (vide tabela 1).

Comparando as canetas que eram utilizadas para outras finalidades e com as que eram utilizadas somente para escrita, não houve diferença na quantidade de tipos de espécies isoladas nas mesmas. Nos dois grupos foram isolados uma ou duas espécies diferentes de micro-organismos em cada caneta, vide tabela 1.

Quanto ao costume de levar a caneta à boca, 42%

dos alunos afirmaram que tem esse costume, porém quando feito a avaliação visual das canetas, duas (8%) aparentaram apresentar marcas de mordida nas tampas em que alunos responderam negativamente a reposta, vide tabela 1.

Na análise microbiológica, todas as canetas avaliadas foram encontradas micro-organismos, sendo que em 14 canetas (58 %) foi isolado somente uma espécie de micro-organismo e em 10 (42 %) foram isolados 2 espécies diferentes, vide gráfico 1.

Das 24 canetas analisadas foram identificados 34 micro-organismos: 19 (56%) de *Staphylococcus* coagulase-negativo, 10 (29%) de *Bacillus subtilis*, 2 (6%) *Bacillus* sp, 1 (3%) *Candida* sp, 1 (3%) de *Enterococcus* sp e 1 (3%) de *Acinetobacter lwoffii*, conforme gráfico 1.

Discussão

Em relação às respostas dos questionários, observa-se que as canetas podem conter micro-organismos de diversos ambientes e regiões corporais. O uso para limpar a unha com a tampa da caneta pode contaminá-

Tabela 1

Avaliação do perfil do estudante, características de utilização, higiene e armazenamento das 24 canetas avaliadas, total avaliado e em porcentagem, em 2011.

Dado analisado	Perfil avaliado	Quantidade	Porcentagem %
1) Sexo	Feminino	12	50
	Masculino	12	50
2) Faixa etária	< 20 anos	6	25
	21-30 anos	12	50
	31-40 anos	5	21
	>41 anos	1	4
3) Tempo de utilização da caneta	1 a 2 meses	7	29
	3 a 4 meses	10	42
	5 a 6 meses	2	8
	> 6 meses	5	21
4) Levar a caneta a boca	Sim	10	42
	Não	14	58
5) Armazenamento	Estojo	11	46
	Bolsa/ Mochila	10	42
	Bolso	1	4
	Outros	3	12
6) Local de utilização da caneta	Só na faculdade	4	17
	Faculdade e trabalho	5	21
	Faculdade e casa	7	29
	Ambos os três	8	33
7) Outras utilizações da caneta	Só para a escrita	12	50
	Limpar a unha	1	4
	Coçar a cabeça	4	17
	Régua	3	12
	Prender cabelo	5	21
	Manusear peças	1	4

Fonte: Laboratório de Microbiologia da FCMSCSP, 2011.

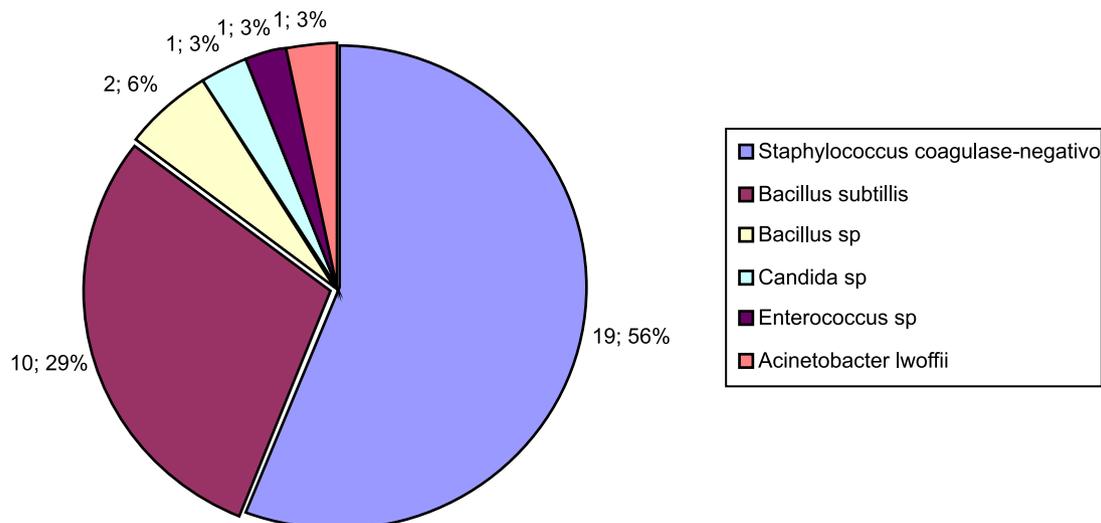


Gráfico 1 - Principais micro-organismos isolados nas canetas utilizadas por estudantes universitários, quantidade total e porcentagem, em 2011.

-la com micro-organismos fecais pela má higienização das mãos; a utilização no local de serviço, dependendo da área, pode levar à contaminação se esse indivíduo não seguir regras básicas de cuidados.

As mãos de pessoas saudáveis são portadoras de muitos micro-organismos residentes ou transitórios, destacando seu papel na disseminação de agentes infecciosos, alguns deles multirresistentes, especialmente quando não são aplicados a higienização das mãos corretamente⁽⁶⁾.

As canetas esferográficas são objetos inanimados que estão em contato com várias pessoas e superfícies podendo atuar como fômites.

Alguns micro-organismos são infecciosos em pequenas quantidades e podem colonizar e sobreviver em diferentes objetos inanimados por horas ou até semanas⁽⁴⁻⁵⁾. Os *Staphylococcus* de coagulase-negativa não exigem condições especiais para seu crescimento. O *S. epidermidis* e *Enterococcus* sp tem a capacidade de se aderir e proliferar em superfícies de polímeros pela formação de biofilme, possuindo um aumento da resistência principalmente devido à penetração insuficiente de antimicrobianos e proteção contra mecanismos de defesa do hospedeiro⁽⁷⁻⁸⁻⁹⁾.

Os *Bacillus* sp são encontrados comumente no solo e somente algumas são patogênicas para humanos, eles estão mais associados ao ambiente. O *B. subtilis* produz o antibiótico bacitracina, como também o *B. licheniformis*. Esse antibiótico é efetivo contra uma grande variedade de bactérias Gram-positivas, mas não em Gram-negativas⁽¹⁰⁾.

Um número de fungos, incluído *Candida*, esta presente no couro cabeludo e ao redor das narinas. Eles são infreqüentes na pele seca, mas podem causar infecção nas dobras úmidas da pele, ou no sistema

urogenitária se o pH da vagina aumentar e as bactérias competidoras diminuïrem⁽³⁾. Assim, pessoas que tem o hábito de coçar a cabeça ou prender o cabelo com a caneta, podem posteriormente, transferi-lo para outras pessoas.

As bactérias isoladas nas canetas não apresentam grandes riscos à saúde e ainda fazem parte da microbiota normal do humano e ambiente. Alguns micro-organismos podem ser considerados patogênicos quando ocorrem desequilíbrios entre essa microbiota e o mecanismo de defesa do hospedeiro podendo desencadear quadros de infecção, principalmente em pessoas imunocomprometidas.

A higienização das canetas deveria ser realizada para prevenir e reduzir a transferência de micro-organismos para os usuários, como também alguns hábitos devem ser evitados. Esta prática pode reduzir o risco de infecções através deste fômite.

Conclusão

As canetas são colonizadas por bactérias e fungos, sendo que nas 24 canetas foram isoladas 79% de *Staphylococcus* coagulase-negativo, 41% de *Bacillus subtilis*, 8% de *Bacillus* sp, 4% *Candida* sp, 4% de *Enterococcus* sp e 4% de *Acinetobacter lwoffii*. Estes micro-organismos pertencem a microbiota ambiental e corporal podem colonizar as canetas tornando-as fômites.

Referências Bibliográficas

1. Tortora G J, Funke BR, Case CLO. Microbiologia. 8ª ed. São Paulo: Artmed; 2005.
2. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 10ª ed. Microbiologia de Brock. São Paulo: Editora Pearson Education do Brasil; 2004.

3. Mins C, Dockrell HM, Goering RV, Roitt I, Wakelin D, Zuckerman MA. A relação hospedeiro-parasita. 3ª ed. In: Mims C, Dockrell HM, Goering RV, Roitt I, Wakelin D, Zuckerman M. Microbiologia médica. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p. 61-72.
4. Rodrigues APC, Nishi CYM, Guimarães ATB. Levantamento de bactérias, fungos e formas de resistência de parasitos em duas rotas de ônibus do transporte coletivo de Curitiba, Paraná. Rubs. 2006; 2:24-31.
5. Freitas APCB, Silva MCF, Carvalho TC, Pedigone MAM, Martins CHG. Brinquedos em uma brinquedoteca: um perigo real? Rev Bras Anal Clin. 2007; 39:291-4.
6. Betancur CA, Estrada S, Ceballos MT, Sánchez E, Abad AM, Vanegas C, et al. Billetes como fômites de bacterias con potencial patógeno para el hombre. Infectio. 2010; 14:120-6.
7. Locatelli CI, Englert GE, Kwitko S, Simonetti AB. Aderência bacteriana *in vitro* a lentes intra-oculares de polimetilmetacrilato e de silicone. Arq Bras Oftalmol. 2004; 67: 241-8.
8. Trabulsi LR, Alterthum F. *Staphylococcus epidermidis* e outras espécies de *Staphylococcus*, *Micrococcus* e *Rothia* (*Stomatococcus*). In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 5ª ed. São Paulo: Atheneu; 2008. p. 183-7.
9. Freire F, Pereira CA, Costa ACBP, Junqueira JC, Jorge AOC. Avaliação antibacteriana *in vitro* dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* e *Syzygium cumini* sobre biofilmes de estafilococos coagulase-negativo e positivo. In: 21º Congresso de Iniciação Científica da UNESP. 2009, São José do Rio Preto. [Resumos] São José do Rio Preto: UNESP; 2009.
10. Pelczar Junior MJ, Chan ECS, Krieg NR, Edwards DD, Pelczar MF. Microbiologia: Conceitos e aplicações. 2ª ed. São Paulo: Makron Books; 1996.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. [on line] Brasília [DF]: ANVISA; 2004. [Acesso em 30 jan 2912]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia.asp>.
12. The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Laboratory technical procedure manuals. Approved guideline. 4th ed. Wayne (PA) NCCLS; 2004.

Artigo recebido: 20/02/2012

Artigo aprovado: 28/03/2012