

Artigo

Perfil de sensibilidade de bactérias Gram-negativas em mãos e fossas nasais de manipuladores de alimentos em escolas municipais de Caruaru - PE

Sensitivity profile of Gram-negative bacteria in the hands and nasal cavities of food handlers in municipal schools in Caruaru - PE

Bactérias Gram-negativas em mãos e fossas nasais

Hemanuely Maria Bezerra Fontes[1], Beatriz Alves Gomes[2], Danielle Barbosa de Souza[3], Jadson Luiz dos Santos[4], Sibebe Ribeiro de Oliveira[5]

[1] Discente do Curso de Biomedicina, Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil, e-mail: beatriz.alves.gomes@gmail.com.

[2] Discente do curso de Biomedicina, Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil, e-mail: danibarboosa@gmail.com.

[3] Discente do curso de Biomedicina, Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil, e-mail: iammanub@gmail.com.

[4] Biomédico, Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil, e-mail: jadsonluiz99@gmail.com.

[5] Biomédica. Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Professora do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil, e-mail: sibeleribeiro@asc.es.edu.br.

Resumo

Introdução: Segundo a OMS, o manipulador é a principal via de contaminação dos alimentos produzidos em larga escala e desempenha papel importante na segurança dos alimentos, com o passar dos anos, pôde ser observado que algumas espécies bacterianas como a *Salmonella spp.*, a *Pseudomonas spp.*, dentre outras, têm se destacado e ganhando importância clínica devido ao potencial de causarem danos ao ser humano através dos alimentos. E por serem bactérias Gram-negativas, elas têm disponíveis uma ampla gama de mecanismos de resistência contra um determinado antibiótico. **Objetivo:** Esse estudo teve como objetivo avaliar a mucosa nasal e as mãos de manipuladores de alimentos com o intuito de identificar a presença e determinar o perfil de resistência de bactérias Gram-negativas. **Metodologia:** Iniciou-se a coleta de dados com a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos manipuladores de alimentos, posteriormente foi realizada a rolagem de *swabs* nas mãos e fossas nasais dos mesmos visando o isolamento dos microrganismos. **Resultados:** Os principais isolados recuperados foram *Salmonella spp.* e *Klebsiella pneumoniae* como os mais prevalentes. Recuperou-se ainda cepas de *Citrobacter spp.* Quanto ao perfil de sensibilidade e resistência, obteve-se 40% das *Salmonella spp.* resistentes à Aztreonam e 60% resistentes à Cefoxitina; e quanto às amostras de *Klebsiella pneumoniae*. 100% foram resistentes à Cefoxitina, enquanto 16% foram resistentes à Aztreonam. **Conclusão:** Diante dos resultados obtidos, foi comprovada a presença de bactérias patogênicas que apresentaram em sua maioria sensibilidade, frente aos antibióticos testados nas amostras dos manipuladores de alimentos participantes da pesquisa.

Palavras-chave: Bactérias Gram-negativas; Contaminação de Alimentos; Higiene dos alimentos.

Abstract

Introduction: According to WHO, the handler is the main route of contamination of food produced on a large scale and plays an important role in food safety, over the years, it has been observed that some bacterial species such as *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*, among others, have stood out and gaining clinical importance due to the potential to cause harm to humans through food. And because they are Gram-negative bacteria, they have a wide range of resistance mechanisms available against a particular antibiotic. **Objective:** This study aimed to evaluate the nasal mucosa and

the hands of food handlers in order to identify the presence and determine the resistance profile of Gram-negative bacteria. Methodology: Data collection was initiated with the signature of the free and informed consent form by food handlers, and then the swabs were scrolled in their hands and nasal cavities of the same ones aiming at the isolation of the microorganisms. Results: Of the strains recovered *Salmonella spp.* and *Klebsiella pneumoniae* were the most prevalent. Strains of *Citrobacter spp.* As for the sensitivity and resistance profile, it was obtained 40% of *Salmonella spp.* resistant to Aztreonam and 60% resistant to Cefoxitin; and for samples of *Klebsiella pneumoniae* 100% were resistant to Cefoxitin, while 16% were resistant to Aztreonam. Conclusion: In view of the results obtained, the presence of pathogenic bacteria, which were mostly sensitive to the antibiotics tested in the samples of the food handlers participating in the research, was proven.

Key-words: Gram-negative Bacteria; Food Contamination; Food Hygiene.

Introdução

As bactérias Gram-negativas são um tipo específico de bactéria com características únicas e podem causar infecções em todo o corpo. As zonas de infecção mais frequentes incluem os pulmões, o trato urinário e digestivo, a corrente sanguínea, o sistema nervoso e os tecidos moles¹. As infecções causadas por essas bactérias se correlacionam a algumas características particularmente preocupantes. Esses patógenos são altamente eficientes no que concerne à aquisição de material genético que codificam mecanismos associados à resistência bacteriana e, além disso, são também altamente eficientes na otimização da atividade funcional destes genes, em especial quando se deparam com pressão seletiva desencadeada pelo emprego de antibióticos que as inibem de forma inadequada. Além disso, elas têm disponíveis uma ampla gama de mecanismos de resistência contra um determinado antibiótico².

Com o passar dos anos, pôde ser observado que algumas espécies bacterianas têm se destacado e ganhando importância clínica devido ao potencial de causarem danos ao ser humano através dos alimentos³. Bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter sp.* dentre outras, entrando em contato com os alimentos ricos em proteínas como: carnes, laticínios, frutas e hortaliças através de uma má manipulação dos mesmos alteram sabor, odor, textura produzindo gás e descoloração trazendo prejuízos à saúde humana tanto pelas

alterações no alimento que será ingerido como pelas toxinas produzidas por essas bactérias que no organismo do indivíduo trarão ainda mais danos⁴.

Um fator que requer um maior controle para garantir a segurança dos alimentos é o manipulador de alimentos; sendo doente ou portador assintomático, é responsável por até 26% dos surtos de enfermidades bacterianas veiculadas por alimentos, por apresentar hábitos higiênicos inadequados, ou ainda pela utilização de métodos anti-higiênicos na preparação de alimentos⁵. Segundo a OMS (1989), o manipulador é a principal via de contaminação dos alimentos produzidos em larga escala e desempenha papel importante na segurança dos alimentos, na preservação da higiene dos alimentos durante toda a cadeia produtiva, desde o recebimento, armazenamento, preparação até a distribuição⁶. Uma manipulação incorreta e o descuido em relação às normas higiênicas favorecem a contaminação por microrganismos patogênicos⁷.

Esse estudo teve como objetivo avaliar a mucosa nasal e as mãos de manipuladores de alimentos com o intuito de identificar a presença e determinar o perfil de resistência de bactérias Gram-negativas. Diante do exposto, pretendeu-se mostrar a colonização das mãos e mucosa nasal de um grupo de manipuladores de alimentos de instituições municipais de ensino localizadas no agreste pernambucano, a fim de analisar o nível de risco de contaminação por bactérias Gram-negativas.

Métodos

A presente pesquisa trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e transversal, realizada entre os meses de fevereiro a outubro de 2020, após a avaliação e aprovação do Comitê de Ética da Asces-Unita. CAAE: 97220918.2.0000.5203.

Os participantes foram abordados seguindo as orientações de pesquisa envolvendo seres humanos do Conselho Nacional de Saúde através da resolução 466/12. Durante este período, foram coletadas as amostras e realizada a tabulação dos dados e a preparação final dos dados analisados.

No estudo foram incluídos os manipuladores de alimentos, locados nos serviços de educação em tempo integral da zona urbana de Caruaru - PE, e, que estavam atuando no respectivo serviço e por critérios de exclusão foram estabelecidos: os manipuladores de alimentos que não estavam nas áreas supracitadas, que apresentavam sintomas no trato respiratório superior, em uso de antimicrobianos e que se encontravam no período de férias ou na condição de

estagiário (nutrição).

Foi dado início as coletas após assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE, documento que foi entregue uma via aos participantes, a fim de oficializar a permissão para participação da pesquisa.

A obtenção das amostras bacterianas foi realizada pela rolagem de *swabs* estéreis umedecidos no Caldo *Tryptic Soy Broth* (TSB) nas palmas das mãos e nas fossas nasais (um swab para cada área, totalizando assim, quatro swabs por participante) dos manipuladores que, imediatamente após a coleta, foram armazenados novamente em tubos contendo o caldo TSB, onde seguiram para o laboratório de microbiologia da ASCES – UNITA e foram incubados na estufa à 37 °C por 6h, com o intuito de aumentar a recuperação das bactérias existentes nas amostras, visto que o caldo TSB é um meio de enriquecimento. Após a presença de turvação, indicando crescimento bacteriano, as amostras foram semeadas pela técnica de esgotamento em Ágar MacConkey e encaminhadas por 24 horas para análise do crescimento bacteriano em placa.

Após as 24h, a partir das colônias Gram-negativas obtidas, foi realizada a identificação em nível de gênero e/ou espécie de acordo com as características macro e microscópicas a partir dos resultados de testes bioquímicos da fermentação de carboidratos nos meios Triplice Sugar Iron (TSI), Indol, Motilidade (SIM), Citrato de Simmons e Ágar Uréia Base (Christensen). Para a determinação do padrão de sensibilidade e resistência das cepas isoladas, foi realizado o teste de disco-difusão (Bauer & Kirby) bem como a metodologia de aproximação de discos contendo os antibióticos beta-lactâmicos em ágar Mueller-Hinton, sendo dispostos sobre a placa os discos de: Cefepima, Cefoxitina, Imipenem, Aztreonam, Levofloxaxina e Gentamicina. As placas foram incubadas na estufa a 37 °C por 24h e após esse período de tempo foi realizado a medição dos halos de inibição formados com o auxílio do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) 2020.

A classificação das cepas de Gram-negativas resistentes foi mediada através da sensibilidade reduzida às cefalosporinas na perspectiva de verificação da produção da enzima beta-lactamase por esses microrganismos, quanto a prevalência das mesmas, foi avaliada a frequência de cepas encontradas nas mãos e fossas nasais de cada manipulador de alimentos participante da pesquisa. A análise estatística descritiva dos dados foi realizada através do software IBM SPSS Statistics 22, onde as variáveis

quantitativas foram tabuladas e transformadas em gráficos utilizando o programa Excel 2016.

Resultados e Discussão

Na presente pesquisa foram avaliadas quatro escolas de ensino integral da rede municipal de Caruaru-PE, tendo como participantes um quantitativo de vinte e um manipuladores de alimentos. Os resultados obtidos como mostrado na tabela 1 evidenciaram a presença de *Salmonella* spp. sendo 80% das cepas encontradas nas palmas das mãos, *Citrobacter* spp. com 50% das cepas encontradas nas palmas das mãos e 50% nas fossas nasais e *Klebsiella pneumoniae* sendo 83% das cepas recuperadas das palmas das mãos e 17% das fossas nasais dos manipuladores de alimentos participantes da pesquisa. Cada bactéria gram-negativa encontrada mostrou-se com perfis de sensibilidade diferentes, de acordo com o BsCAST 2020, como visto na tabela 2.

Tabela 1. Frequência de crescimento bacteriano por região anatômica coletada.

	Palma das Mãos		Fossas Nasais	
	Direita	Esquerda	Direita	Esquerda
<i>Salmonella</i> spp.	2	2	1	-
<i>Citrobacter</i> spp.	3	-	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3	-	1

Tabela 2. Antibiograma realizado com resultados descritos de acordo com o BrCAST 2020.

	<i>Salmonella</i> spp.			<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Citrobacter</i> spp.		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Aztreonam	2	-	3	1	1	4	-	-	6
Cefepima	-	-	5	-	1	5	-	-	6
Cefoxitina ¹	3	-	2	6	-	-	NT	NT	NT
Gentamicina	-	-	5	-	-	6	-	-	6

Imipenem	-	-	5	-	-	6	-	-	6
Levofloxacina	-	-	5	-	-	6	-	2	4

Legenda: Resistente (R); Intermediário (I); Sensível (S); Não Testado (NT).

1. *Citrobacter spp.* – Resistência Intrínseca.

Salmonella spp. é uma das principais espécies bacterianas causadoras de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), devido sua grande quantidade de toxinas produzidas e foi a Gram-negativa encontrada em maior número nas regiões anatômicas analisadas, sendo este segundo Philippon, Arlet e Jacoby⁸ um dado preocupante pois já são encontradas enzimas beta-lactamases do tipo AmpC mediadas por plasmídeos nas cepas de *Salmonella spp.*, espécie que não tem naturalmente a expressão dessa enzima. As beta-lactamases do tipo AmpC hidrolisam geralmente as cefalosporinas de espectro reduzido, cefalosporinas de terceira geração, aztreonam e inibidores de beta-lactamases. As 5 cepas de *Salmonella spp.* recuperadas foram sensíveis a cefepima e 3 cepas resistentes a cefoxitina, estes dois sendo antibióticos da classe das cefalosporinas, enquanto aos demais antibióticos todas as cepas apresentaram sensibilidade.

As cepas de *Klebsiella pneumoniae* recuperadas alertam ao fato de esta bactéria ser um colonizador comum do trato gastrointestinal de seres humanos porém nos últimos anos ter se tornado um problema de saúde pública preocupante em pois a mesma é produtora da enzima carbapenemase (KPC) que lhe confere resistência aos antimicrobianos carbapenêmicos, além de inativar penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos⁹. No entanto, as 6 cepas evidenciadas apresentaram sensibilidade ao carbapenêmico imipenem e aos demais antibióticos testados, com resistência de 5 cepas a cefoxitina.

Amostras de *Citrobacter spp.* também foram um achado relevante pois, mesmo apresentando uma boa sensibilidade frente a todos os antibióticos testados a presença desta bactéria em alimentos pode indicar contaminação fecal, podendo causar infecções diversas no indivíduo que ingerir alimentos mal manipulados e consequentemente contaminados por esta espécie¹⁰.

Em pesquisa realizada por Machado et al.,³ foram evidenciados achados de *S. aureus* e *E. coli* nas mãos e em fossas nasais de manipuladores, o que diverge dos

resultados desta pesquisa, visto que foram obtidas cepas de *K. pneumoniae.*, *Salmonella spp.*, e *Citrobacter spp.*, microrganismos estes que são altamente patogênicos ao entrarem em contato com certas áreas do corpo humano, como o trato gastrointestinal.

As bactérias evidenciadas pela presente pesquisa entrando em contato com: carnes, laticínios, frutas e hortaliças que estão totalmente inseridas no preparo das refeições servidas nas escolas em tempo integral, através de uma má manipulação alteram as características organolépticas dos alimentos além de causarem infecções que trazem prejuízos diversos à saúde humana¹¹.

Conclusão

Diante dos resultados obtidos, foi comprovada a presença de bactérias patogênicas que apresentaram em sua maioria sensibilidade, frente aos antibióticos testados nas amostras dos manipuladores de alimentos participantes da pesquisa. Dessa forma, mesmo com as cepas apresentando sensibilidade houve a recuperação de bactérias Gram-negativas de diferentes gêneros bacterianos, onde algumas de suas espécies, se encontradas no trato gastrointestinal por contaminação alimentar, podem causar diversas patologias assim, alerta-se quanto à necessidade de uma vigilância contínua e efetiva no que refere-se à higienização das mãos ao manusear os alimentos, bem como no uso correto dos EPIs pois, sendo importante sempre salientar que os manipuladores de alimentos sejam constantemente sensibilizados sobre a importância dos cuidados e da higienização correta das mãos e do rosto.

Referências

1. Santos SLF, Barros KBNT, Prado RMDS, Arraes MLBDM. Desenvolvimento de uma cartilha educativa sobre coloração de Gram em microbiologia no ensino superior. Rev. Expr. Catól. Saúde. 2016; 1 (1): 66-74.
2. Veja. Resistência bacteriana aos antibióticos: o panorama atual [Internet]. Revista Veja Abril: Artur Timerman; 2017 Abr 3; [citado em 2020 Set 29]. Disponível em: <https://veja.abril.com.br/blog/letra-de-medico/resistencia-bacteriana-aos-antibioticos-o-panorama-atual/>.
3. Machado JR, Marson JM, Oliveira ACS, Silva PR, Terra APS. Avaliação microbiológica em manipuladores de alimentos. Medicina (Ribeirão Preto). 2009; 42(4): 461-5.
4. Muller MI. Boas práticas de manipulação de alimentos com merendeiras.

- Universidade do oeste de santa catarina. Unoesc. 2011; 1 (1): 1-46.
5. Coelho AIM, Milagres RCRM, Martins JFL, Azeredo RMC, Santana AMC. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2010; 15 Supl. 1: 1597-1606.
 6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. *Diário Oficial da União, Poder Executivo*. 2004 Set 17.
 7. Mello AG, Gama MP, Marin VA, Colares LGT. Conhecimento dos manipuladores de alimentos sobre boas práticas nos restaurantes públicos populares do Estado do Rio de Janeiro. *Braz. J. Food Technol*. 2010; 13 (1): 60-8.
 8. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46 (1): 1-11.
 9. Dienstmann R, Picoli SU, Meyer G, Schenkel T, Steyer J. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) em *Enterobacteriaceae* de ambiente hospitalar. *J. Bras. Patol. Med. Lab*. 2010; 46 (1); 23-7.
 10. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenber PC. *Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido*. 2ª ed. S. Paulo: Panamericana, 1993.
 11. Oliveira MN, Brasil ALD, Taddei JAAC. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2008; 13 (3): 1051-1060.