



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE FORMAÇÃO DE PROFESSORES
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

CIBELLY PEREIRA DE SOUZA SILVA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MICROBIANA EM CADÁVERES
SOB AS CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

CAJAZEIRAS - PB

2017

CIBELLY PEREIRA DE SOUZA SILVA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MICROBIANA EM CADÁVERES
SOB AS CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Campina Grande / UFCG,
Campus de Cajazeiras, como requisito à
obtenção do título de Licenciada em
Ciências Biológicas.

Linha de Pesquisa: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. José Cezario de Almeida

Co-orientador: Prof. Me. Sávio Benvindo Ferreira

CAJAZEIRAS - PB

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação - (CIP)
Josivan Coêlho dos Santos Vasconcelos - Bibliotecário CRB/15-764
Cajazeiras - Paraíba

S586i Silva, Cibelly Pereira de Souza.
Identificação e caracterização microbiana em cadáveres sob as condições de laboratório / Cibelly Pereira de Souza Silva. - Cajazeiras, 2017.
43 f.: il.
Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. José Cezario de Almeida.
Co-orientador: Prof. Me. Sávio Benvindo Ferreira.
Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) UFCG/CFP, 2017.

1. Cadáver - risco. 2. Medicina - ensino. 3. Micro-organismos. I. Almeida, José Cezario de. II. Ferreira, Sávio Benvindo. III. Universidade Federal de Campina Grande. IV. Centro de Formação de Professores. VI. Título.

UFCG/CFP/BS

CDU - 614.22

CIBELLY PEREIRA DE SOUZA SILVA

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MICROBIANA EM CADÁVERES SOB AS CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande / UFCG, Campus de Cajazeiras, como requisito à obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Linha de Pesquisa: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. José Cezario de Almeida

Co-orientador: Prof. Me. Sávio Benvindo Ferreira

APROVADO EM

_____/_____/_____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. José Cezario de Almeida – Orientador - Examinador
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG
Centro de Formação de Professores – CFP

Prof. Dr. Francisco Fábio Marques da Silva - Examinador
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG
Centro de Formação de Professores - CFP

Prof. Me. Luíz Jardelino de Lacerda Neto - Examinador
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG
Centro de Formação de Professores – CFP

Aos meus pais, pelo carinho, apoio e amor.

AGRADECIMENTOS

São muitas as pessoas a agradecer e sei que não dá para falar de todas.

Agradeço aos meus pais, José e Luzinete, e a minha irmãzinha Giselly, pelo amor e apoio que nunca me faltou.

Ao meu tio Cazuza, por desde o início acreditar em minha capacidade.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Cezario de Almeida, pela orientação e pela paciência que teve comigo ao longo da pesquisa.

Ao meu Co-orientador Sávio Benvindo Ferreira pelo apoio, instrução, interesse e paciência.

A Professora Zilka Nanes Lima da Universidade Estadual da Paraíba, pela orientação e pelos antimicrobianos cedidos para finalização da pesquisa.

A toda equipe do laboratório de Microbiologia, pela ajuda prestada.

Ao técnico do laboratório de Anatomia, Joãozinho, pela gentileza e simpatia nos dias de coleta.

Ao meu namorado e melhor amigo Odoniel, pelo carinho, paciência, compreensão e amor.

Aos meus amados amigos do Curso de Ciências Biológicas, principalmente a família 2012.1, pelo respeito e sorrisos compartilhados durante toda essa jornada, amo muito vocês.

Aos meus queridos professores Eduardo e Patrícia, por terem me mostrado a beleza da Anatomia.

A todos os professores do Curso de Ciências Biológicas da UFCG/CFP, pelos ensinamentos ao longo do curso, que tanto me ajudaram.

A meus amigos e amigas que me ajudaram na esterilização do material, nas coletas, preparação das lâminas, Berg, Michel, Bruna, Leandra e Natália, meu muito obrigado, de coração.

A Marina, por ter me ajudado na leitura e compreensão do aporte teórico do trabalho.

A Ana Paula, um anjinho que muito me ajudou na suspensão bacteriana.

Ao cadáver, todo respeito e agradecimento.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigado.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

Isaac Newton

Sumário

RESUMO.....	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE GRÁFICOS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	14
1 INTRODUÇÃO	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1 Características Gerais dos Fungos	16
2.2 Doenças Causadas por Fungos	17
2.3 Características Gerais das Bactérias.....	18
2.4 Doenças Causadas por Bactérias	20
2.5 Biossegurança	20
3 OBJETIVOS	23
3.1 Geral	23
3.2 Específicos	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Caracterização da área de estudo	24
4.2 Coleta de fungos.....	24
4.3 Coleta de bactérias	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS.....	40

RESUMO

A utilização de cadáveres é indispensável nos cursos da área da saúde. Práticas realizadas em laboratórios devem seguir normas que visam à saúde e à segurança dos alunos, professores e funcionários. Os usuários de laboratórios, mesmo com o uso do formol, estão sujeitos aos riscos de contaminação por microorganismos patogênicos que podem estar presentes nas peças anatômicas, no ambiente atmosférico e nos cadáveres. Visando à segurança e à saúde dos usuários, este trabalho teve por objetivos identificar possíveis bactérias e fungos no ambiente e nas peças do Laboratório de Anatomia do Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande, e assim, apresentar os potenciais riscos, o grau de resistência de bactérias a antibióticos e a diversidade fúngica, para propor alternativas à melhoria das condições ambientais do Laboratório em uso. As bactérias isoladas foram caracterizadas por gram positivas e gram negativas pelo método de Gram. Disco difusão foi empregado para revelar o perfil de sensibilidade. Os fungos filamentosos isolados são dos gêneros: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Stemphylium* e a levedura *Candida albicans*. Os dados gerados a partir de observações diárias, durante uma semana, apresentam considerável aumento das unidades formadoras de colônias bacterianas. O perfil de sensibilidade das bactérias gram positivas apresentou maior sensibilidade aos 10 antibióticos testados e gram negativas demonstraram maior resistência aos antimicrobianos. A importância do conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias relaciona-se à prevenção de possíveis episódios infecciosos quando da manipulação das peças, principalmente, as bactérias potencialmente resistentes. Na identificação dos fungos por cultivo em lamínula verificou-se a predominância do *Aspergillus*, referido às causas alérgicas e infecções respiratórias e outras patogenicidades que suscitam severos agravos à saúde dos usuários. Depreende-se que, a ocorrência e o conhecimento dos agentes microbianos em ambientes de maior circulação de usuários são imprescindíveis à prevenção e controle de fatores de risco e agravos à saúde.

Palavras-chave: Cadáveres, micro-organismos, risco.

ABSTRACT

The use of corpses is indispensable for an undergraduate course in the health area. Practices performed in laboratories should follow regulations for the health and safety of students, teachers and employees. Even by formol, laboratory users are subject to the risk of contamination by pathogenic microorganisms. That may be present in anatomical tools, in the atmospheric environment and in corpses. For the safety and health of users, this study aims to identify bacteria and fungus in the environment and in the tools of the Anatomy Laboratory of the Training Center of Teachers of the Federal University of Campina Grande, Then, to present the potential of risks, the degree of resistance of bacteria to antibiotics and fungal diversity, to propose alternatives to improving the environmental conditions for the laboratory. The bacteria isolated were characterized by gram-positive and gram-negative by the Gram method. Disk diffusion was used to reveal the sensitivity profile. The isolated filamentous fungi are of the genus: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Stemphylium* and the yeast *Candida albicans*. The data generated from daily observations, during one week, presented a considerable increase of the bacterial colony forming units. The susceptibility profile of the gram-positive bacteria presented greater sensitivity to the 10 tested antibiotics and the gram-negative showed greater antimicrobial resistance. The importance of knowing the sensitivity profile of bacteria is related to the prevention of possible infectious episodes when manipulating the tools, especially the ones with potentially resistant bacteria. In the identification of the fungi by coverslip cultivation, the predominance of *Aspergillus* was verified referring to allergic causes and respiratory infections and other pathogenicities that cause severe health problems to users. It is understood that the occurrence and knowledge of microbial agents in environments with greater circulation of users are essential to the prevention and control of risk factors and health problems.

Keywords: Corpses, microorganisms, risk.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Observação macroscópica de colônias fúngicas. **A** – superfície algodonosa; **B** – *Aspergillus sp.*

Figura 2. Conidióforo de *Aspergillus*. Fotografia **C** – aumento de 160 X; Fotografia **D** - aumento de 200 X.

Figura 3. *Cladosporium* aumentado 200 X.

Figura 4. *Epicoccum sp* aumentado 200 X.

Figura 5. *Stemphylium* aumentado 200 X.

Figura 6. *Candida albicans* em aspecto leveduriforme aumentado 200 X.

Figura 7. Observação macroscópica de colônias bacterianas após 24h de incubação.

Figura 8. Visualização macroscópica após 24h do repique de duas colônias diferentes.

Figura 9. Coloração de Gram - E – Colônia 01 (gram positiva), F Colônia 14 (gram negativa). Aumentado em 1000X.

Figura 10. Colônias e Halos de inibição de crescimento bacteriano.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Aumento do número de colônias em relação ao número de dias.

Gráfico 2. Porcentagem e classificação das bactérias isoladas após coloração de gram.

Gráfico 3. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos comerciais das bactérias gram positivas isoladas.

Gráfico 4. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos comerciais das bactérias gram negativas isoladas.

Gráfico 5. Perfil de resistência das bactérias isoladas de cadáveres fomalizados testados frente antimicrobianos comerciais.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMC - Amoxicilina + clavulanato

CIP - Ciprofloxacina

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CPM - Cefepime

DOX - Doxiciclina

ERI – Eritromicina

GEN - Gentamicina

OXA - Oxacilina

PEN - Penicilina G

SUT - Sulfametoxazol + Trimetoprim

TET - Tetraciclina

UFC - Unidade Formadora de Colônias

1 INTRODUÇÃO

As peças anatômicas e os cadáveres são extremamente necessários à aulas práticas em laboratório quando o assunto é corpo humano. Mas eles nem sempre recebem os cuidados necessários para evitar possíveis contaminações e colocar a saúde dos usuários em perigo. É elevado o risco de contaminação em ambiente laboratorial, por serem lugares com alta incidência de micro-organismos, as práticas realizadas devem seguir normas, tendo como finalidade a segurança e bem estar dos envolvidos nesse meio, sejam eles funcionários ou estudantes (ZOCHIO, 2009).

Os agravos à saúde das pessoas que manipulavam micro-organismos em laboratórios levaram a preocupação com esses riscos biológicos, mas, somente a partir dos anos 80, as normas de segurança no trabalho tiveram melhor visibilidade e ficaram mais específicas (CIORLIA; ZANETTA, 2007). Estes ambientes estão repletos de micro-organismos, tais como bactérias anemófilas e fungos, cujos esporos são liberados no ar atmosférico, podendo ser facilmente inalados pelos usuários e vir a causar problemas respiratórios, ou provocar alergias e dermatites.

Os cadáveres utilizados em aulas práticas em Laboratório de Anatomia, em face da contaminação ambiental e da manipulação durante os estudos morfoanatômicos sugerem riscos à saúde dos usuários (professores, técnicos e alunos), vez que, quando retirados dos tanques de preservação e conservação ficam expostos para aeração e liberação de odores do formol, que interferem nas atividades teórico-práticas, consistindo intenso desconforto.

Conjectura-se que, durante o período da exposição, os cadáveres tendem a ser “atacados” por micro-organismos patogênicos e oportunistas, podendo vir a causar infecções, alergias e outras possíveis patologias aos usuários do laboratório. Assim, este trabalho tem por objetivo identificar micro-organismos patogênicos que possam estar presentes nos cadáveres e no ar do laboratório de anatomia, assim como propor alternativas preventivas visando à segurança de seus usuários.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Características Gerais dos Fungos

A Micologia, ciência que estuda os fungos, é relativamente recente, quando comparada a Botânica e a Zoologia. Muitos grupos de fungos são conhecidos somente há 30-40 anos. Representam o segundo maior grupo, perdendo apenas para os insetos, com um número total de espécies estimado em um milhão e 500 mil (RAVEN, 2011). É um grupo pouco conhecido, com aproximadamente 70.000 espécies descritas que correspondem há pelo menos 5% das espécies existentes. Poucos conhecem a importância dos fungos, mas suas aplicações estão presentes em áreas da Medicina, Veterinária, Zootecnia, Agronomia, Bioquímica, Genética e Citologia. Estudos ultraestruturais e moleculares mostraram que os fungos estão muito mais próximos dos animais do que das plantas, considerando-se que são heterotróficos e apresentam quitina constituindo sua parede celular (CHOW et al., 2007).

O Reino Fungi está representado pelas classes Chytridiomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes e Basidiomycetes (CHOW et al., 2007). São organismos eucariontes, aclorofilados, heterotróficos e absorvem componentes orgânicos como fonte de energia, os fungos são aeróbicos em sua grande maioria, embora existam alguns anaeróbicos estritos e facultativos. Podem ser uni ou multicelulares e reproduzem-se nas formas sexuada ou assexuada, a sua parede celular é rígida, devido a presença de celulose, glicanas, mananas ou quitina e membrana celular contendo esteróis, o seu principal material de reserva é o glicogênio (VIEIRA; FERNANDES, 2012). Tais organismos são encontrados nos mais variados ambientes, devido seus esporos resistentes e facilmente dispersos no ar, são parte da microbiota anemófila (SOUZA, 2012).

Os fungos filamentosos são formados por hifas, que podem ser septadas ou cenocíticas, verdadeiras e falsas, sendo hifas verdadeiras as que crescem sem interrupção, a partir de germinação de um esporo e falsas ou pseudo-hifas as que crescem por gemulação ou por brotamento sucessivo. Os esporos são classificados em artoconídios, que se formam pelo simples desmembramento das hifas septadas e blastoconídio, que se forma por gemulação (OLIVEIRA, 2014).

A maioria dos fungos são saprófitos, quando dependem de matéria

orgânica morta, e por isso chamados de decompositores ou redutores ou biotróficos, quando dependem de matéria orgânica viva, e para isso formam associações simbióticas com outros seres. Os decompositores vivem em substratos como solo, troncos e animais mortos (CHOW et al., 2007).

As leveduras são eucariontes, unicelulares, desenvolvem-se na fermentação alcoólica. Apresentam membrana celular bem definida, pouco espessa em células jovens, e rígidas em células adultas. Não formam filamentos, são imóveis, quimio-heterotróficos e aeróbios facultativos (metabolismos oxidativo e fermentativo). Reproduzem-se assexuada e sexuadamente. (VIEIRA; FERNANDES, 2012). Não são capazes de utilizar amido e celulose como fonte de carbono. Muitas leveduras têm de 5 a 30 μm de comprimento e de 1 a 5 μm de largura (VIEIRA; FERNANDES, 2012).

2.2 Doenças Causadas por Fungos

As infecções causadas por fungos são chamadas de Micoses, geralmente são crônicas e podem ser classificadas de acordo com o envolvimento no tecido e modo de entrada no hospedeiro como sistêmica, subcutânea, cutânea, superficial e oportunista (TORTORA, 2005).

As micoses superficiais invadem as camadas externas da capa córnea da pele ou a haste livre dos pelos. As micoses cutâneas invadem toda a espessura da capa córnea da pele ou a parte queratinizada intrafolicular dos pelos ou a lâmina ungueal. As micoses subcutâneas se caracterizam pela inoculação do fungo no tecido subcutâneo, levado por via linfática, porém limitada ao território aquém do linfonodo regional. As micoses sistêmicas se dão devido à inalação de propágulos fúngicos, sendo, conseqüentemente a lesão primária pulmonar, com tendência regressão espontânea. As micoses oportunistas são causadas por fungos termotolerantes, de baixa virulência, que “atacam” pacientes com graves deficiências do sistema imunodefensivo (MORAES et al., 2009).

Apesar das infecções humanas por alguns fungos ocorrerem mais comumente nas regiões tropicais, o número de indivíduos infectados tem aumentado em todas as regiões do mundo (RAVEN, 2011). Aproximadamente 100 tipos de fungos causam doenças em humanos, atacando a pele, cabelos, pelos, unhas e órgãos internos (SOMENZI et al., 2006). Fungos como os dos

gêneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* (Hormodendrum) causam alergias, as quais são manifestadas através do aparelho respiratório, como rinites e asma brônquica (OLIVEIRA, 2014). O gênero *Aspergillus* apresenta reprodução assexuada caracterizada pela produção de fiálides e conídeos em cadeia. O conidióforo é simples, asseptado terminando em uma vesícula, na qual ficam inseridas as fiálides (SILVA, 2012).

2.3 Características Gerais das Bactérias

A Bacteriologia - estudo das bactérias teve início a partir das primeiras observações dos raspados de dentes de Van Leeuwenhoek e ainda hoje são encontradas novas bactérias patogênicas (TORTORA, 2012). Há evidências de que a vida microbiana existe há 3,6 bilhões de anos (VERMELHO et al., 2007). Estes seres são procarióticos, não possuindo todas as estruturas internas das células eucarióticas, sendo mais simples em todos os níveis, menos no seu envoltório celular.

A parede celular das bactérias lhes confere forma e rigidez, divisão celular e manutenção osmótica, apresenta espessura de aproximadamente 10 a 20 milímetros e é formada por peptidoglicano, de importância prática na taxonomia bacteriana. Existem bactérias chamadas gram-negativas, por apresentarem uma fração menor do total da parede em relação às gram-positivas (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009). A membrana plasmática é constituída de fosfolípidios e proteínas, com função seletiva, sede de várias enzimas, que limita o citoplasma, sendo bastante importante para o transporte de íons e metabólitos e em numerosos processos biossintéticos (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009).

O citoplasma dos procariotos é espesso, aquoso, semitransparente e elástico, tendo uma área nuclear, onde está o DNA, ribossomos e inclusões. Existem proteínas filamentosas responsáveis pela forma helicoidal e de bastonete da célula bacteriana. O citoplasma de uma célula procariótica contém dezenas de milhares de ribossomos, estruturas pequenas com função de síntese proteica. Na região chamada de nucléolo está situado o cromossomo bacteriano, molécula única, longa e contínua de fita dupla, com frequência arranjada de forma circular, que carrega todos os dados necessários para realizar todas as funções celulares (TORTORA, 2012). Também está

presente no citoplasma uma estrutura de DNA circular extracromossomial, de duplicação independente chamada plasmídeo, que confere resistência a antibióticos a algumas bactérias (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009).

Quando os nutrientes essenciais tornam-se escassos, algumas bactérias gram-positivas como as dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus* formam células especializadas de “repouso”, chamadas endósporos, que liberados no ambiente sobrevivem a condições desfavoráveis. (TORTORA, 2012).

Existem muitos tamanhos e formas de bactérias. A maioria tem de 0,2 a 2,0 μm de diâmetro e de 2 a 8 μm de comprimento. Elas possuem algumas formas básicas: cocos esféricos, bacilos em forma de bastão e espiral. As bactérias que se assemelham a bastões curvos são chamadas de vibríões, quando possuem forma helicoidal e tem corpo rígido são chamadas de espirilo e quando possuem um corpo flexível são chamadas de espiroqueta (TORTORA, 2012).

Externamente à parede celular existe um composto formado de polissacarídeo, polipeptídeo ou ambos, chamado de glicocálice. Geralmente é produzido dentro da célula e secretado para a superfície celular. Quando organizado e firmemente aderido à parede celular, o glicocálice é descrito como uma cápsula, que em certas espécies, são importantes para a contribuição da virulência bacteriana (medida do grau com que um patógeno causa doença), pois as protegem da fagocitose realizada pelas células do hospedeiro (TORTORA, 2012).

Os flagelos são longos apêndices filamentosos que propõem as bactérias. Quando as bactérias não possuem estes filamentos são chamadas de atríqueas. Podem ser classificados em peritríqueos, quando estão distribuídos ao longo de toda a célula, ou polares, quando estão em um ou ambos os polos da célula. Se for polar, o flagelo pode ser monotríqueo, tendo um único flagelo, lofotríqueo, quando possui um tufo de flagelo na extremidade da célula ou anfitríqueo quando estão em ambas as extremidades celulares. A mobilidade permite a uma bactéria se mover em direção a um ambiente favorável ou “fugir” para longe de um ambiente adverso, e este movimento é denominado taxia (TORTORA, 2012). Também classificados como estruturas externas a parede celular, o Pili ou fímbria, são apêndices filamentosos compostos de pilina (proteína), que nas bactérias Gram-negativas são mais

finos, mais curtos e geralmente mais numerosos que os flagelos. Conferem aderência a superfícies e possui função sexual, permitindo a fixação de células doadoras e receptoras, fazendo com que ocorra troca de material genético em um processo chamado conjugação (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009).

2.4 Doenças Causadas por Bactérias

Micro-organismos patogênicos são aqueles capazes de causar doenças e o grau de patogenicidade é chamado de virulência, e envolve duas características: infecciosidade (capacidade de poder iniciar uma infecção) e a gravidade da infecção. A multiplicação de células bacterianas pode ocorrer dentro (intracelular) ou fora (extracelular) das células do corpo humano, embora, as intracelulares obrigatórias sejam protegidas de anticorpos, da fagocitose e de alguns antimicrobianos. A faringe aprisiona a maioria das bactérias que são inaladas, tornando o trato respiratório superior a porta de entrada para a colonização inicial por muitos patógenos (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009).

As áreas mais colonizadas por bactérias são a uretra e a vagina, uma vez que as bactérias que chegam à bexiga são eliminadas ora pela atividade bactericida das células uroepiteliais, ora pelo jato de urina no seu esvaziamento (MURRAY, 2006). A pele humana proporciona vários nichos diferentes, pois possui regiões mais secas e mais úmidas. Nas regiões mais secas predominam *Staphylococcus epidermidis* e *Propionibacterium acnes*. Nas áreas mais úmidas, como virilhas, axilas, genitália e períneo, predominam *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium sp* (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009).

A *Haemophilus influenzae*. é um bacilo gram-negativo que provoca meningite, infecções do ouvido médio e, mais raramente, pneumonia, também é responsável, juntamente com *Staphylococcus pneumoniae*, pela sinusite e pela epiglotite (SOUZA, 2012). Bactérias como *Prevotella*, *Clostridium*, *Fusobacterium* e *Peptostreptococcus* são encontradas nos sulcos gengivais e quando aspirados, podem causar abscessos pulmonares (LEVINSON, 2010).

2.5 Biossegurança

A Biossegurança envolve todas as ações voltadas para a prevenção e

proteção do trabalhador, diminuição de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços que visem à saúde do homem, dos animais, preservação do meio ambiente (TEIXEIRA; VALLE, 1996). Todo laboratório tem por obrigação adotar um manual de segurança, que identifique perigos conhecidos e potenciais e que especifique as práticas e as normas para evitar os riscos de contaminação (BRASIL, 2004).

Alguns fungos e bactérias são altamente patogênicos e dependendo do sistema imunológico, pode afetar a saúde do ser humano. No ambiente laboratorial, as principais vias de contaminação por agentes biológicos são a dérmica e a respiratória. (FRANKLIN et al., 2009).

Os micro-organismos são classificados em quatro classes, de acordo com o risco individual e coletivo, relativo à virulência e gravidade da infecção em seres humanos e animais, probabilidade de propagação, tratamento e medidas preventivas. Bactérias como *Bacillus subtilis*; *B. thuringiensis*; *B. sphaereous*; *Lactobacillus spp* e fungos como *Trichoderma*, *Helminthosporium spp* estão alocados na classe de risco I, que se refere a um risco individual e coletivo muito baixo. Na classe de risco II estão bactérias como *Bacilo Calmette Guerin* (BCG), Bactérias enteropatogênicas, *Corynebacterium*, *Campilobacter*, *Escherichia*, *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium leprae*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Vibrio* e fungos como *Aspegillus spp*, *Cândida*, *Malassezia*, *Microsporium spp*, *Paracoccidioide*, pois apresentam risco moderado e baixo risco coletivo. A classe de risco III aloca bactérias e fungos com um elevado risco individual e baixo risco coletivo, tais como *Brucella sp*, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *Yersinia*; *Histoplasma sp*, *Coccidioidis immitis*; *Rickéttsia sp* (BRASIL, BAHIA, 2001).

A classe de risco IV inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade principalmente por via respiratória. Até o momento não há nenhuma medida profilática eficaz contra infecções ocasionadas por estes (NICÉSIO, 2012).

Para proteção individual torna-se necessário o uso de vestimentas adequadas, aventais, sapatos fechados, máscaras, óculos de proteção sempre que for necessário proteger os olhos e a face de salpicos, impactos de objetos e raios artificiais ultravioleta e luvas. Após utilização, as luvas devem ser

retiradas de forma asséptica e as mãos devem ser bem lavadas após o manuseio de material infeccioso e antes de sair das áreas de trabalho do laboratório. É proibida a utilização de roupa de proteção laboratorial fora do laboratório bem como comer, beber, fumar e maquilhar-se nas áreas de trabalho do laboratório. Técnicas inadequadas podem comprometer a saúde do pessoal de laboratório. Dessa forma, o profissional consciente da importância da segurança e bem informado sobre a forma de reconhecer e controlar os possíveis incidentes nos laboratórios torna-se uma peça fundamental para prevenir infecções. Todo acidente ou exposição efetiva/potencial a materiais infecciosos deve ser notificado ao supervisor do laboratório, assim como se deve manter um registro escrito de acidentes e incidentes (BRASIL, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Prospectar e identificar agentes microbianos de cadáveres em condições laboratoriais e submetidos ao manuseio para estudos morfoanatômicos em Laboratório de Anatomia.

3.2 Específicos

- Isolar micro-organismos - fungos e bactérias -, do ambiente laboratorial e de cadáveres antes e após o manuseio;
- Identificar os micro-organismos isolados (bactérias e fungos);
- Apresentar e discutir os possíveis riscos microbiológicos à saúde dos usuários;
- Propor alternativas e metodologias preventivas, visando à segurança dos usuários do Laboratório de Anatomia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

A coleta de dados foi realizada no Laboratório de Anatomia Humana, sendo os testes realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Cajazeiras - PB. Foram preparadas 140 placas de Petri, sendo 60 para o isolamento de fungos, onde foi adicionado antibiótico, e 60 para bactérias. As amostras foram coletadas diariamente, durante uma semana, submetidas à meios de culturas, analisadas e identificadas em nível de gênero, para fungos; e grandes grupos segundo arranjos, para bactérias, com o auxílio dos professores Jose Cezario de Almeida e Sávio Benvindo Ferreira.

4.2 Coleta de fungos

A coleta dos fungos foi realizada no período 06 a 10 do mês de fevereiro de 2017. Com base na técnica de isolamento de fungos anemófilos foram coletadas 15 amostras constituídas de material do ar atmosférico dos setores do laboratório de anatomia. Para isso as placas contendo PDA (ágar batata dextrose) com cloranfenicol ficaram expostas em diferentes setores do laboratório por 15 minutos, para deposição de esporos, como preconizado por LACAZ et al., (2002).

Foram coletadas 45 amostras de micro-organismos em cadáveres, de modo que serão retirados das cavidades torácica, abdominal e pélvica, assim como dos membros inferiores e dos órgãos, utilizando-se swabs estéreis individuais e transferidos para as placas de Petri contendo meio de cultura e antibiótico, sendo que em cada placa foram feitas três estrias com movimentos de zig-zag.

Em seguida, as placas foram fechadas, identificadas e levadas ao laboratório de microbiologia, incubadas à temperatura ambiente até a formação de unidades formadoras de colônias (UFC), sendo observadas a cada três dias para acompanhar o crescimento fúngico (SILVA, et al., 2011).

Para conservação das culturas fúngicas, fez-se necessária uma repicagem das colônias antigas e, realizado um microcultivo em lamínula para obtenção de melhores resultados, fotografias melhores.

O repique contínuo é bastante utilizado para manutenção de colônias em constante utilização durante um período curto (GUIMARÃES, 2011). Com a repicagem totalizaram-se 84 placas, as quais foram observadas a cada três dias, até o nono dia, de modo a visualizar melhor as estruturas.

4.2.1 Preparação de lâminas

Depois de formadas as colônias, os fungos foram repicados para novas placas, inserindo lamínulas para visualização a cada três dias. Passado o devido tempo, preparavam-se as lâminas para observação ao microscópio e para isto, foram utilizadas lâminas estéreis, lamínulas, corante azul de metileno, papel filtro, alça de platina, bico de Bunsen e etiquetas. Após preparação das lâminas, os fungos coletados estavam prontos para visualização no microscópio.

4.3 Coleta de bactérias

A coleta das bactérias foi realizada entre os dias 27 e 31 de março de 2017. Para melhor processamento dos dados, a semana de coletas foi organizada como Dia 01, 02, 03, 04 e 05. Os materiais utilizados foram o meio de cultura Mueller Hinton, swabs estéreis, papel filme, fita adesiva, caneta e discos de antimicrobianos cedidos pela professora Me. Zilka Nanes Lima da Universidade Estadual da Paraíba.

Inicialmente, os swabs estéreis foram rolados no cadáver alojado no Laboratório de Anatomia Humana. Foram selecionadas as regiões da face, abdome, membros inferiores, além da exposição ao ambiente. Em seguida, os swabs foram semeados em placas de petri contendo o meio de cultura Ágar Mueller-Hinton, sendo destinadas 3 placas para cada região do cadáver e 3 para o ambiente, totalizando 12 placas para cada dia de coleta. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa a 37° C durante 48 horas. Após o período de incubação, fez-se o repique de cada colônia isolada e incubou novamente por 24 horas para se obter um maior número de colônias para os testes seguintes.

Logo depois, realizou-se a coloração de Gram de cada colônia isolada, de modo a classificá-las em gram positivas ou gram negativas. Em seguida foi determinado o perfil de resistência a antimicrobianos comerciais, das bactérias

isoladas, por meio do antibiograma. Este teste foi realizado pelo método de Disco-difusão a fim de saber quais bactérias apresentariam resistência ou sensibilidade.

A determinação do perfil de sensibilidade à antimicrobianos comerciais foi utilizado o método de disco-difusão, seguindo o protocolo *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

4.3.1 Inóculo bacteriano

As cepas bacterianas foram inoculadas em placas de petri contendo ágar Mueller Hinton e levadas a estufa por 24 horas a $35 \pm 2^{\circ}$ C. Passado o período de incubação, foram selecionadas da placa de ágar de três a cinco colônias, bem isoladas, do mesmo tipo morfológico. A superfície de cada colônia foi tocada com uma alça, e os micro-organismos foram transferidos para um tubo contendo 4-5mL de solução salina estéril, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de McFarland a 0,5. Isso resulta numa suspensão contendo aproximadamente de 1 a 2×10^8 UFC/mL (CLSI, 2009).

4.3.2 Método de Disco Difusão

O teste de disco-difusão em ágar foi descrito em 1966, por Bauer e Kirby. O teste fornece resultados qualitativos. É um dos métodos de suscetibilidade mais simples, confiável e mais utilizado pelos laboratórios de microbiologia. O seu princípio básico é a difusão do antimicrobiano na superfície do ágar, a partir de um disco impregnado com o mesmo antimicrobiano.

Um swab de algodão estéril foi mergulhado na suspensão ajustada do inóculo bacteriano e girado várias vezes e apertado firmemente contra a parede interna do tubo, acima do nível do líquido a fim de retirar qualquer excesso de inóculo no swab. Em seguida, a superfície seca da placa de ágar Müeller-Hinton foi inoculada esfregando o swab em toda a superfície estéril do ágar. Este procedimento foi repetido outras duas vezes, esfregando e girando a placa aproximadamente 60° cada vez, a fim de assegurar a distribuição

uniforme do inóculo.

Posteriormente, os antimicrobianos Penicilina G (DME, Brasil), Gentamicina (DME, Brasil), Sulfametoxazol + Trimetoprim (DME, Brasil), Doxiciclina (DME, Brasil), Oxacilina (DME, Brasil), Cefepime (DME, Brasil), Ciprofloxacina / Norfloxacino (DME, Brasil), Tetraciclina (DME, Brasil), Eritomicina (DME, Brasil) e Amoxicilina + Ac. Clavulânico (DME, Brasil) foram colocados na superfície da placa de ágar semeada e pressionados de encontro à placa, de maneira a assegurar contato completo com a superfície de ágar. Foram colocados 5 discos em cada placa com ágar, sendo utilizado 10 antimicrobianos, ou seja, 2 placas para cada colônia isolada. Após isso, as placas foram invertidas e colocadas numa estufa, a 35° C durante 16-18 horas de incubação e os diâmetros dos halos de inibição (área sem crescimento bacteriano detectável a olho nu) foram mensurados com o auxílio de um paquímetro, incluindo o diâmetro do disco.

Os tamanhos dos halos de inibição foram interpretados e classificados como sensíveis, intermediários, ou resistentes aos agentes testados, de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2009).

Os antimicrobianos Oxaciclina, penicilina e eritromicina não são recomendados no tratamento clínico para gram negativas, devido sua variação no tamanho dos halos de inibição, portanto não estarão presentes nos gráficos, embora tenham sido verificados e medidos os halos que apareceram.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo da pesquisa observou-se o crescimento das colônias fúngicas (geralmente até 12 dias), incubadas em laboratório e bacterianas (24h-48h), incubadas em estufa bacteriológica. As colônias fúngicas apresentaram desenvolvimento considerado normal mesmo diante das variações de temperatura do Laboratório de Microbiologia, ocorridas provavelmente em razão do sistema de refrigeração desligado nos fins de semana.

Possíveis Isolados fúngicos dos cadáveres de 01 (um) dia após serem retirados dos tanques de formal a 10% não formaram colônia. Przybysz e scolin, (2009) relatam que o formaldeído a 10% atua como bactericida, fungicida, virucida e esporicida, o que pode explicar o não desenvolvimento das colônias fúngicas.

Em relação às bactérias, também houve inibição, uma vez que o número de colônias foi demasiado pequeno em comparação com os demais dias de coleta, sendo observada a formação de duas UFC's. Considerando à capacidade que o formol tem de realizar lise da parede celular dos microorganismos, alcalinizar os grupos amino e sulfidrílo, proteínas e átomos do anel de nitrogênio das bases de purina (PRZYBYSZ; SCOLIN, 2009). Para as bactérias não foi possível identificar seus respectivos gêneros, devido, a escassez de equipamentos e reagentes específicos.

Importante destacar que os gêneros de fungos isolados e identificados segundo o gênero foram *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Stemphylium* e *Candida albicans*, estando presentes três dos gêneros mais comuns para as regiões brasileiras, segundo LACAZ *et al.*, (2002). Na identificação dos fungos por cultivo em lamínula verificou-se a predominância do *Aspergillus*, extremamente referido às causas alérgicas e infecções respiratórias e outras patogenicidades que suscitam severos agravos à saúde dos usuários.

A observação macroscópica das colônias fúngicas permitiu a visualização de hifas e de micélio aéreo. A exemplo de *Stemphylium sp.* de superfície algodonosa e coloração clara e *Aspergillus sp.*, apresentando a coloração característica da espécie, tons escuro (negro) (Fig.1).



Figura 1. Observação macroscópica de colônias fúngicas. **A** – superfície algodoadosa; **B** – *Aspergillus sp.*
Fonte: SILVA, 2017.

Aspergillus sp.

O gênero *Aspergillus* foi catalogado pela primeira vez em 1729, pelo botânico italiano Pier Antonio Micheli (CARVALHO, 2013). Pertence à Família Trichocomaceae, Ordem Eurotiales, Classe Eurotiomycetes, Filo Ascomycota (SILVA, 2012). Frequentemente encontrado no ar, no solo e em materiais em decomposição, seus representantes são causadores de problemas respiratórios (Aspergiloses) em humanos, através da inalação de esporos (CARVALHO, 2013) arranjados em fileiras, nos conidióforos (Fig. 2).

Aspergillus está entre os principais gêneros de fungos encontrados no ar do laboratório (ANDRÉ; WEIKERT, 2000). Algumas espécies apresentam resistência ao formol a 10 % que é utilizado na conservação de peças anatômicas em Laboratórios de Anatomia Humana, como *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* (PRZYBYSZ; SCOLIN, 2009).

Esses agentes são relatados como causadores de infecção em seres humanos desde 1847, pelos estudos de Sluyter, ao inferir a aspergilose como micose oportunística, sendo sua manifestação clínica associada ao aspecto imunológico do hospedeiro (GUAZZELLI, 2011).

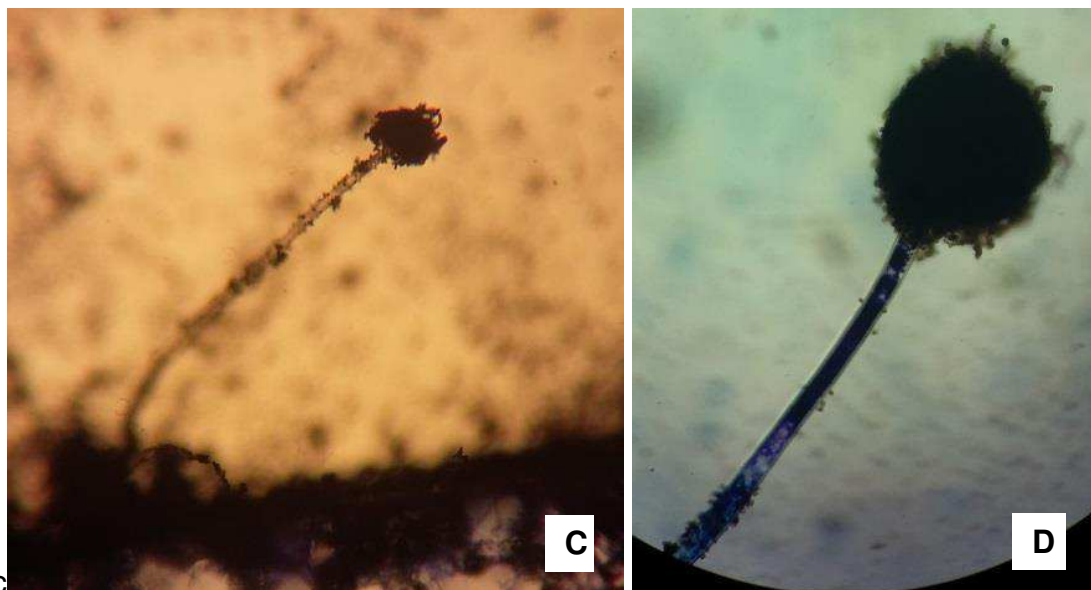


Figura 2. Conidióforo de *Aspergillus*. Fotografia **C** – aumento de 160 X; Fotografia **D** - aumento de 200 X. Microcultivo em lamínula com seis dias de crescimento.

Fonte: SILVA, 2017.

Cladosporium sp.

O gênero *Cladosporium spp*, criado por Link, em 1816, compreende mais de 189 espécies, incluindo patógenos de plantas e parasitas de outros fungos. São fungos de crescimento lento, atingindo a maturidade dentro de 14 a 21 dias. Os conídios de *Cladosporium* (Fig. 3) representam o mais comum componente de fungos isolados do ar (MENEZES, 2017).



Figura 3. *Cladosporium sp.* aumentado 200 X. Microcultivo em lamínula com nove dias de crescimento.

Fonte: SILVA, 2017.

Cladosporium pertence à Família Davidiellaceae, Ordem Capnodiales, Classe Dothideomycetes e Filo Ascomycota (ITIS, 2017). São cosmopolitas (PRZYBYSZ et al, 2009), considerado alérgico podendo causar asma (NETO; COLOMBO, 2015). *Cladosporium* spp constitui o táxon mais importante na atmosfera (ZOPPAS et al, 2011). Esporos deste gênero são os mais abundantes do espectro aéreo, devido ao elevado número de espécies (SABARIEGO et al, 1999).

Algumas espécies de *Cladosporium* estão relacionadas a efeitos tóxicos no sistema digestório, devido a produção de ácido epicladospórico, toxina que causa Aleucia tóxica alimentar (DATABIO, 2014).

As infecções mais comuns incluem alergias, infecções locais superficiais e profundas, pneumonia, abscesso cerebral, e infecção disseminada (MENEZES et al, 2017).

Epicoccum sp.

O gênero *Epicoccum* pertence à Família Pleosporaceae, Ordem Pleosporales, Classe Dothideomycetes e Filo Ascomycota (ITIS, 2017).

É um gênero de fungo cosmopolita, com duas espécies. Habitam resíduos vegetais, solo e pele humana. Pode se desenvolver em vários substratos, desde papel a insetos. Apresentam pigmentação de laranja.

Epicoccum (Fig. 4) não é considerado patógeno, mas pode causar asma, devido sua disseminação de esporos no ar, onde são geralmente encontrados. (PRZYBYSZ; SCOLIN, 2009).



Figura 4. *Epicoccum sp* aumentado 200 X. Microcultivo em lamínula com três dias de crescimento.

Fonte: SILVA, 2017.

Stemphylium sp.

O gênero *Stemphylium* (Fig. 5) pertence à Família Pleosporaceae, Ordem Pleosporales, Classe Dothideomycetes e Filo Ascomycota (ITIS, 2017).

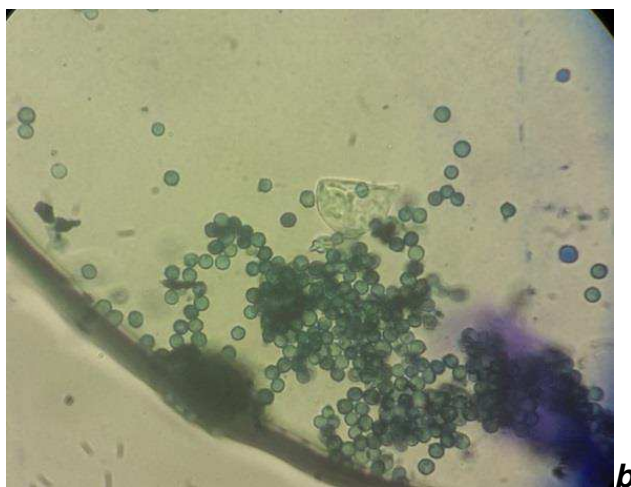


Figura 5. *Stemphylium* aumentado 200 X. Microcultivo em lamínula com seis dias de crescimento.

Fonte: SILVA, 2017.

O gênero *Stemphylium* (Walbroth, 1833), apresenta conídios pigmentados, que são produzidos por um poro apical do conidióforo, que prolifera de um modo percorrente. Esta forma de proliferação é uma característica inerente ao gênero (SILVA, 2011). Não é relatado nenhum caso de doenças em seres humanos causado por este gênero de fungo, embora seja causador da mancha de estenfilio em plantas como o tomateiro (MIRANDA

et al, 2010).

***Candida albicans* (Robin) Berkhout (1923)**

Em 1842, Gruby descrevia o sapinho das crianças; Robin, em 1853, descreveu o parasito como *Oidium albicans*, de 1890 até 1923, quando Berkhout criou o gênero *Candida*, aceito atualmente (OLIVEIRA, 2014). *C. albicans* pertence à ordem Saccharomycetales, Classe Saccharomycetes e Filo Ascomycota (ITIS, 2017).

C. albicans é uma levedura diploide que apresenta dimorfismo fúngico (BARBEDO, 2010). Encontrada na mucosa dos tratos gastrointestinal e genitourinário e pode causar candidíase, uma infecção oportunista que se manifesta nas mucosas oral e vaginal. Este fungo tem a capacidade de apresentar diferentes formas, sendo elas de levedura (Fig.6), pseudo-hifa e hifa verdadeira (CARDOSO, 2013).



Figura 6. *Candida albicans* em aspecto leveduriforme aumentado 200 X.
Fonte: SILVA, 2017.

A patogenicidade de *C. albicans* depende de vários fatores de virulência e do aspecto imunológico do hospedeiro (CARDOSO, 2013). Macrófagos e neutrófilos são as principais células envolvidas de defesa contra infecções por *C. albicans* (COSTA et al, 2008).

Para as bactérias, após a coleta e incubação das placas, foi realizada a contagem das UFC's (Fig. 7), onde foi observado um aumento no número de

colônias na medida em que as peças ficavam expostas no decorrer da semana.



Figura 7. Observação macroscópica de colônias bacterianas após 24h de incubação.
Fonte: SILVA, 2017.

As bactérias coletadas no dia 01 levaram um tempo maior para formar colônias, um total de 48 horas e apresentou crescimento bacteriano em apenas uma das 12 placas incubadas. Esta placa continha duas colônias macroscopicamente diferentes. Isto pode ter ocorrido devido o formol ainda está muito ativo, já que ele possui propriedade antibacteriana.

No Dia 02 houve um aumento no número de colônias. Das 12 placas semeadas, foi possível observar crescimento bacteriano em três placas, sendo que em uma delas havia duas UFC, e nas outras duas placas, foi visualizada uma UFC por placa.

No Dia 03, foi observado um aumento no número de UFC's, em comparação com o dia anterior. Das 12 placas coletadas, duas apresentaram crescimento bacteriano, onde foram encontradas trinta e três UFC e 17 UFC, respectivamente. Para as placas coletadas Dia 04, houve um aumento significativo no número de colônias isoladas por placa. Das 12 placas semeadas, sete apresentaram crescimento bacteriano, somando um total de 136 UFC. Das 12 placas semeadas no Dia 05, foi possível visualizar crescimento bacteriano em três delas, somando o total de 244 UFC.

Em quase todas as placas houve crescimento bacteriano, restando apenas três placas sem UFC. Embora as placas do dia 05 tenham tido um maior número de colônias, apenas as três colônias aparentemente diferentes foram repicadas, coradas e testadas com antibióticos.

Os dados obtidos durante a semana de coleta mostram um aumento contínuo e progressivo do número de colônias bacterianas (Gráfico 1). Tal resultado corrobora com o trabalho de Przybys e Scolin, (2009), no qual justifica o aumento do número micro-organismos nas peças anatômicas pela exposição das estruturas cadavéricas formalizadas à temperaturas ambientes, que leva a evaporação do formol, logo, quanto maior o tempo de exposição das peças, mais formol evapora e, conseqüentemente, melhores se tornam as condições para o desenvolvimento de micro-organismos.

Gráfico 1. Aumento do número de colônias em relação ao número de dias.



Para a diferenciação das colônias encontradas, foi realizada uma análise macroscópica das UFC's isoladas, como demonstrado na Figura 8. Após a análise, foram distinguidas 29 cepas bacterianas, onde seguiram para a realização da coloração de gram para que seja feita a observação microscópica bacteriana. Estas apresentaram variação na coloração e no aspecto das colônias, como esperado.

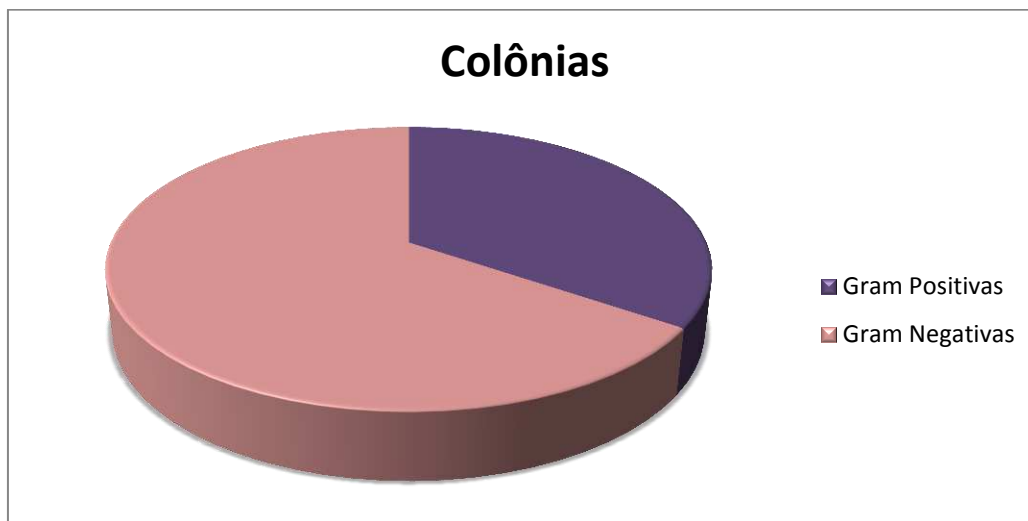


Figura 8. Visualização macroscópica após 24h do repique de duas colônias de espécies distintas.

Fonte: SILVA, 2017.

Das 29 colônias, foram caracterizadas 10 colônias apresentaram coloração roxa, sendo assim classificadas como gram positivas e 19 mostraram coloração avermelhada/rosa, sendo assim consideradas gram negativas (Gráfico 2).

Gráfico 2. Porcentagem e classificação das bactérias isoladas após coloração de gram.



Após a coloração de gram, foi possível observar a forma das bactérias, diferenciadas pela cor, nota-se a presença de cocos gram positivos e bacilos gram negativos, como demonstrado na Figura 9.

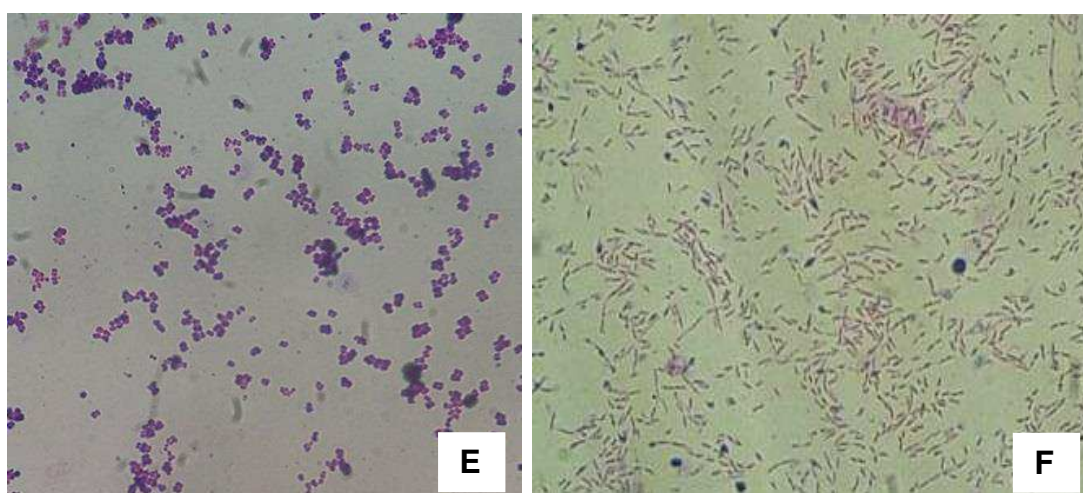


Figura 9. Coloração de gram - **E** – Colônia 01 (gram positiva), **F** Colônia 14 (gram negativa). Aumentado em 1000X.

Fonte: SILVA, 2017.

A Figura 10 (G e H gram negativas) (I, gram positiva) mostra os halos de inibição formados pela atuação dos antimicrobianos testados no antibiograma. Nota-se também a diferença no tamanho dos halos de inibição para cada antibiótico em colônias diferentes.

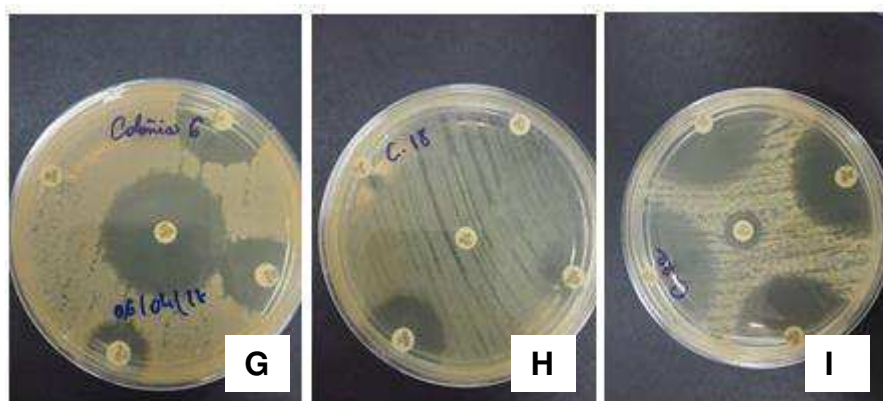


Figura 10. Colônias e Halos de inibição de crescimento bacteriano.
Fonte: SILVA, 2017.

O perfil de sensibilidade das bactérias gram positivas demonstrou que a maioria foi sensível aos antimicrobianos testados (Gráfico 3), no entanto, para as gram negativas houve um aumento significativo de bactérias resistentes aos antimicrobianos testados (Gráfico 4).

Gráfico 3. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos comerciais das bactérias Gram positivas isoladas.

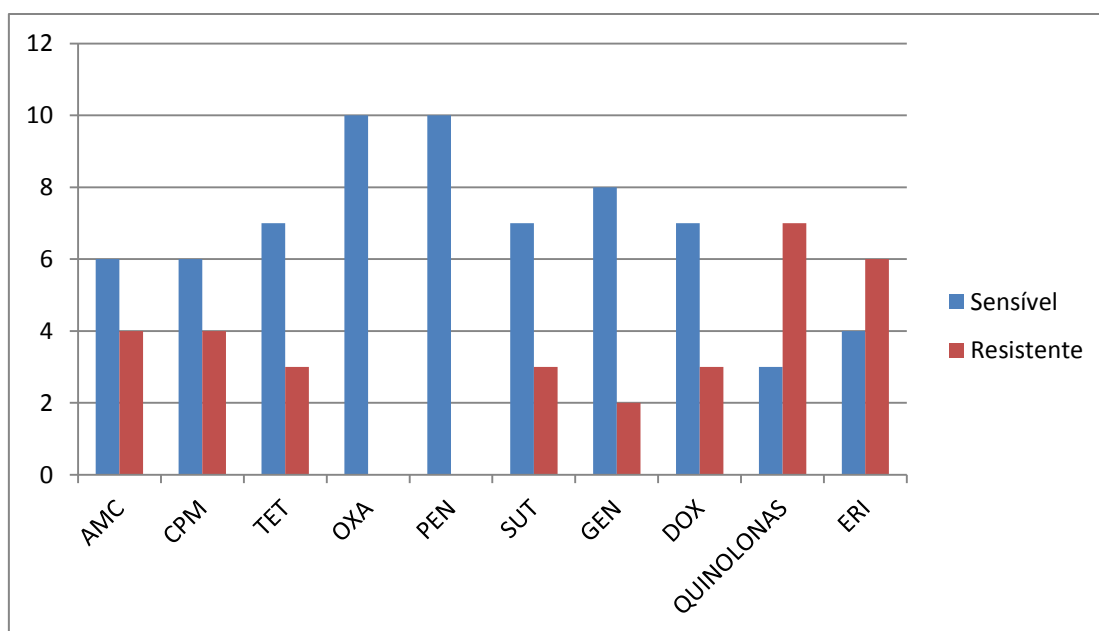
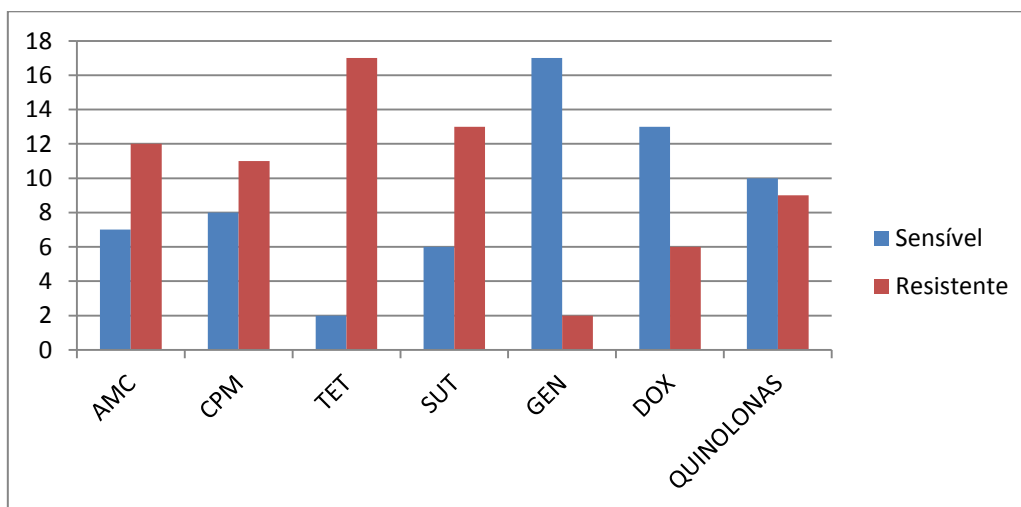


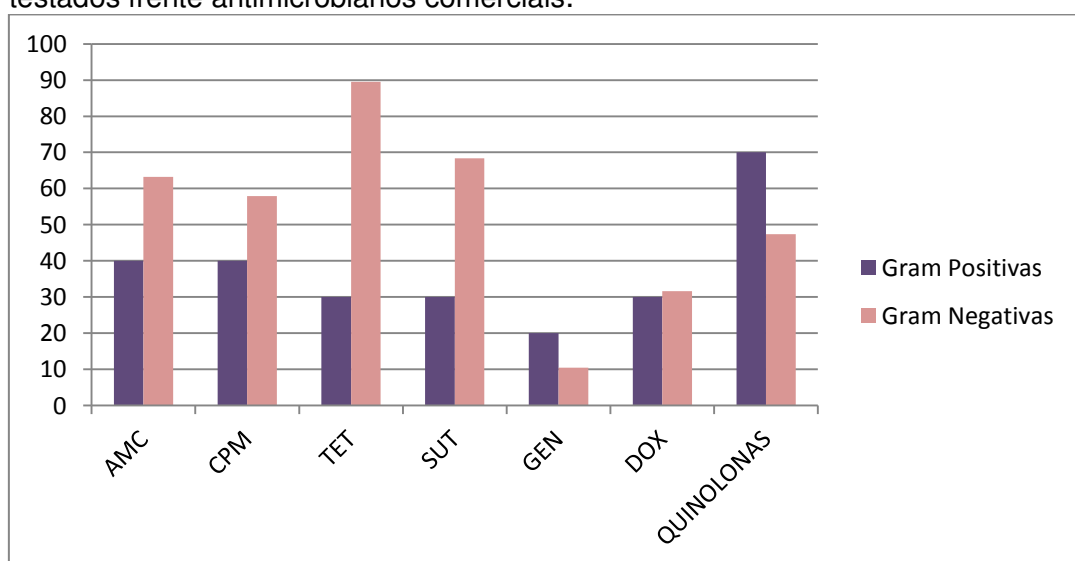
Gráfico 4. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos comerciais das bactérias gram negativas isoladas.



Em relação ao perfil de resistência das bactérias isoladas, as gram negativas demonstraram uma taxa maior de resistência aos antibióticos testados, quando comparadas as gram positivas (Gráfico 5).

Segundo Baptista (2013), a membrana celular das bactérias gram negativas confere uma penetração mais lenta do antibiótico, sendo a passagem pela membrana externa realizada através das porinas. Tal fato pode explicar os resultados obtidos, uma vez que, a permeabilidade da membrana celular determina o efeito dos antibióticos (BRUNTON; GOODMAN, 2008).

Gráfico 5. Perfil de resistência das bactérias isoladas de cadáveres fomalizados testados frente antimicrobianos comerciais.



6 CONCLUSÕES

Depreende-se que, a ocorrência e o conhecimento dos agentes microbianos em ambientes de maior circulação de usuários, como laboratórios de estudos e pesquisas que envolvem a presença de público, são imprescindíveis à prevenção e controle de fatores de risco e agravos à saúde. A indicação de presença de agentes microbianos, como fungos e bactérias constituem importantes indicadores ao severo controle dos riscos à saúde dos usuários;

Fungos e bactérias têm sido relatados como causadores de doenças oportunistas, principalmente em pessoas imunocomprometidas, e recorrente em clínicas, hospitais, Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) causadores de sepsis. No espaço do Laboratório de Anatomia do CFP/UFCG ocorre a circulação de várias pessoas do serviço de ensino e práticas com as peças cadavéricas, além das aberturas laterais do prédio, podem eventualmente contribuir com o nível de contaminação e serem atingidos pelos agentes microbianos;

A importância do conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias relaciona-se à prevenção de possíveis episódios infecciosos quando da manipulação das peças, principalmente, as bactérias potencialmente resistentes;

Este estudo buscou apresentar o grau de risco pelos possíveis agentes patogênicos (fungos e bactérias), sem, no entanto esgotar o tema, mas sugerir o maior controle e adoção de medidas de biossegurança inerentes ao ambiente de laboratório.

REFERÊNCIAS

ANDRÉ, G. A.; WEIKERT, R. C. O. Isolamento e Identificação dos Patógenos Microbiológicos Encontrados no Laboratório de Anatomia Humana. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 17, p. 63-64, 2000.

BAHIA. Secretaria da Saúde. Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde. Diretoria de Vigilância e Controle Sanitário. BRASIL. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. **Manual de Biossegurança**. Salvador: [s.n.], 2001.

BAPTISTA, M. G. de. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. b2013. 51 f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia. Lisboa, 2013.

BARBEDO, L. S., SGARBI, D. B.G. Candidíase. **DST - J bras Doenças Sex Transm**. Rio de Janeiro, RJ. v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BAUER, A. W., et al. Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci. **Journal of the American Medical Association**. v. 173, p. 475-480, 1960.

LABORCLIN. **Manual de antibiograma**. Rev.: 07. Paraná. 2013.

BRASIL. Organização Mundial da Saúde. **Manual de segurança biológica em laboratório**. 3 ed. Genebra: OMS, 2004.

CARDOSO, T. S. **Papel do ATP na infecção de Macrófagos por Candida albicans**. 2013, 54 f. Dissertação (Mestre em Bioquímica) Universidade de Coimbra, Coimbra, POR. 2013.

CARVALHO, L. I. C. de. **Aspergillus e Aspergilose - desafios no combate da doença**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

CHOW, et al.; **Introdução à Biologia das Criptógamas**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2007.

CIORLIA, L. A. de. S.; ZANETTA, D. M. T. Hepatite C em profissionais da saúde: prevalência e associação com fatores de risco. **Revista Saúde Pública**, São Paulo – SP, v. 41, n. 2, p. 229-35, 2007.

COSTA, I. C. et al., Resposta imune a *Candida albicans*. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, PR. v. 29, n. 1, p. 27- 40, 2008.

ESPAÑA. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. **Cladosporium spp**. 2014.

FRANKLIN, S. de. L. et al. Avaliação das condições ambientais no laboratório de anatomia patológica de um hospital universitário no município do Rio de

Janeiro. **Bras Patol Med Lab**, Rio de Janeiro – RJ, v. 45, n. 6, p. 463-470, 2009.

BRUNTON, L. L., GOODMAN, L. S. **GOODMAN & GILMAN'S: Manual of Pharmacology and Therapeutics**. Nova Iorque: McGraw Hill, 2008.

GUAZZELLI, L. S. **Estudo etiológico, clínico, laboratorial e epidemiológico da bola fúngica pulmonar por *Aspergillus spp.*** 2011. 207 f. Tese (Doutorado em Ciências Pneumológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GUIMARÃES, L. C. **Métodos de preservação de fungos potencialmente toxicogênicos**. 2011. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2011.

LABORCLIN. **Manual de antibiograma**. Rev.: 07. Paraná. 2013.

LACAZ, C.S. et al. **Tratado de Micologia Médica**. São Paulo: Editora Sarvier, 2002.

LEVINSON, W. **Microbiologia médica e imunologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MENEZES, C. P.de. et al., *Cladosporium spp*: Morfologia, infecções e espécies patogênicas. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 1, p. 23-27, 2017.

MIRANDA, B. E. C. de. et al. Identificação de genótipos do gênero *Solanum* (seção *Lycopersicon*) com resistência a *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF. v. 28, p. 178-184, 2010.

MORAES, A. M. L. de. et al., Micologia. In: MOLINARO, E. M. et al. **Conceitos e Métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Volume 04. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009. p. 399 – 496.

MOREIRA, A. C. M. G. et al., Prevalência e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* isolados em pacientes e equipe de enfermagem. **Cienc Cuid Saude**, Maringá – PR. v. 12, n.3, p.572-579. 2013.

MURRAY, P. R. et al., **Microbiologia médica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NETO, J. C.; COLOMBO, T. E. Isolamento e identificação de fungos filamentosos em peças anatómicas conservadas em formol. **J Health Sci Inst**. São Paulo – SP, v. 33, n. 3, p. 218- 222, 2015.

NICÉSIO, R. G. Classificação de riscos dos agentes biológicos. Disponível em: <http://www.biomedicinabrasil.com/2012/11/classificacao-de-risco-dos-agentes.html>>. Acesso em: 07 maio. 2017.

NOGUEIRA, J. M. da. R.; MIGUEL, L. de. F. S. Bacteriologia. In: **Conceitos e Métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Volume 04. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009. p. 221 – 397.

OLIVEIRA, J. C. de. **Tópicos em Micologia Médica**. 4 ed. Rio de Janeiro, 2014.

PRZYBYSZ, C. H.; SCOLIN, E. Avaliação do formaldeído como fungicida no laboratório de anatomia humana. **Revista F@pciência**, Apucarana-PR, v.5, n. 12, p. 121 – 133, 2009.

RAVEN, P. H. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

Retrieved [apr, 25, 2017], from the Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (<http://www.itis.gov>).

RODRÍGUEZ, R. H. et al., Evaluación cuantitativa de eficacia de un esterilizador químico que emplea formaldeído 2 % en fase de vapor a bajas temperaturas. **Rev. Cubana Invest. Biomed**, v. 25, n. 1, p. 1-10, 2006.

SABARIEGO S. et al., Contribución al estudio aeromicológico de la atmósfera de la ciudad de Granada (S. España): variaciones estacionales e intradiarias. **Rev Iberoam Micol**. v. 16, p. 230-234. 1999.

SILVA, F. C. da. **Taxonomia polifásica de *Aspergillus* seção *Flavi* e aplicação de óleos essenciais para controle de fungos aflatoxigênicos**. 2012. 116 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.

SILVA, S. da. C. L. da. **Caracterização de fungos do género *Stemphylium* associados a pomóideas em Portugal**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestre em Engenharia Agronómica) Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, POR. 2011.

SILVA, W. L. de. S. et al., Isolamento e identificação de fungos anemófilos em laboratórios de rede privada na cidade de salgueiro-PE. **BioFar – Revista de Biologia e Farmácia**, Campina Grande – PB, v. 6, n. 1, p. 129-135, 2011.

SOMENZI, C. C. et al., Características Particulares da Micologia Clínica e o Diagnóstico Laboratorial de Micoses Superficiais. **NewsLab**, São Paulo SP, n.77. p. 106 – 118, 2006.

SOUZA, A. de. A. P. de. **Estudo da microbiota anemófila presente nos diferentes ambientes do Hospital Santa Casa de Belo Horizonte, MG**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Medicina e Biomedicina) - Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, 2012.

TEIXEIRA, P.; VALLE, S. **Biossegurança**: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1996.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

_____. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

VERMELHO, Q. B. et al., **Bacteriologia geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

VIEIRA, D. A. de. P.; FERNANDES, N. C. de. A. Q. **Microbiologia Geral**. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

ZOCHIO, L. B. **Biossegurança em Laboratórios de Análises Clínicas**. São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia, 2009.

ZOPPAS, B. C. de. A. et al., Distribuição de esporos de *Cladosporium* spp no ar atmosférico de Caxias do Sul, RS, Brasil, durante dois anos de estudo. **Rev. bras. alerg. imunopatol.** São Paulo - SP. v. 34, n 2, p. 55-58, 2011.