



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

JEAN CARLOS CORDEIRO

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA
SUPERFÍCIE DOS CARRINHOS E CESTAS DE SUPERMERCADOS**

Assis
2015

JEAN CARLOS CORDEIRO

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA
SUPERFÍCIE DE CARRINHOS E CESTAS DE SUPERMERCADOS

Trabalho de conclusão de
curso de Curso apresentado ao
Instituto Municipal de Ensino
Superior de Assis, como
requisito do Curso de
Graduação

Orientador: Elaine Amorim Soares Menegon

Área de Concentração: Ciências Exatas e da Terra

Assis

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

CORDEIRO, Jean Carlos

Avaliação da contaminação microbilógica da superfície de carrinhos e cestas de supermercados / Jean Carlos Cordeiro. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis, 2015.

52p.

Orientador: Elaine Amorim Soares Menegon.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1. Micro-organismos. 2. Patógenos. 3. Carrinhos e cestas de supermercados.

CDD:660
Biblioteca da FEMA

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA SUPERFÍCIE DE CARRINHOS E CESTAS DE SUPERMERCADOS

JEAN CARLOS CORDEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Municipal
de Ensino Superior de Assis, como
requisito do Curso de Graduação,
analisado pela seguinte comissão
examinadora:

Orientador: Ms Elaine Amorim Soares Menegon

Analisador: Ms Alexandre Vinicius Guedes Mazalli

Assis

2015

AGRADECIMENTOS

Houve outrora, tempos em que perdi a fé em mim mesmo, mas ainda assim Tu estavas comigo e me mostrou, com toda tua misericórdia e amor, que há coisas quais se encontram fora de nosso alcance, coisas quais estão aos teus cuidados e não precisamos nos preocupar. Houve tempos em que eu fui teimoso e me recusei a escutar tuas palavras, decidi andar por mim mesmo, e Tu, com toda tua paciência, se fez presente ao meu lado em cada passo descuidado que dei. Obrigado então ó Deus, pelos seus cuidados, pelo dom da vida, pelas oportunidades e pelos próximos agradecimentos, pois são para pessoas quais sei que puseste em minha vida.

Agradeço aos meus pais pelo apoio e pela confiança, pois sempre me acompanharam em cada passo dessa jornada e me apoiaram nos momentos difíceis. Obrigado por tudo, sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus amigos de curso, em especial a Fernanda Rodella, Lucas Ribeiro e Rafaela Sargi membros do melhor quarteto de todos, onde dividimos alegrias, tristezas, conquistas e derrotas, onde nos apoiamos uns nos outros e seguimos em frente quando a vontade era parar por ali. Obrigado mesmo, por cada momento que passamos juntos, estarão sempre em meu coração.

Aos meus professores sem exceções, por compartilharem de todas suas sabedorias, em especial a Elaine Amorim que me orientou e ajudou na conclusão deste trabalho e a Mary Leiva, as duas me despertaram a vontade de ser professor. Obrigado.

A todos do CEPECI, especialmente Maria Julia, Vinicius e Paula pelas varias ajudas e por muitas vezes terem me socorrido com a falta de experiência. Muito obrigado.

Agora... Tragam-me o horizonte!

Capitão Jack Sparrow

RESUMO

Os micro-organismos influenciam de varias formas a saúde e o bem-estar humano. Com o avanço dos estudos podemos nos aprofundar nos conhecimento dos micro-organismos, pois, embora menos de 1% seja patógeno (causador de doenças) ainda são responsáveis por doenças graves como a poliomielite, o tétano e várias outras, tornando vital que saibamos como são transmitidos e como causam doenças. O enorme aumento na ocorrência de doenças transmissíveis nos obriga a atentar de forma maior para como essas doenças são transmitidas e também a procurarmos possíveis soluções para resolvermos esses problemas. Pensando nisso este trabalho teve por objetivo avaliar a contaminação microbiológica da superfície dos carrinhos e cestas de supermercados tendo em vista que são instrumentos de uso coletivo e comum. Foram feitas quatro coletas da superfície de cinco carrinhos e cinco cestas de um supermercado de médio porte situado na cidade de Assis /SP. As amostras foram submetidas à análise de coliforme totais e termotolerantes pela técnica de tubos múltiplos e a contagem de *S. aureus*. Os resultados mostraram que 35% das amostras analisadas mostraram-se contaminadas por coliformes totais e 77,5% das amostras mostraram-se contaminadas por *S. aureus*. Assim, conclui-se que os carrinhos e cestas de supermercados oferecem risco de contaminação, sugerindo uma análise mais aprofundada para a presença de outros micro-organismos patógenos.

Palavras-chaves: Micro-organismos; patógenos; carrinhos e cestas de supermercados.

ABSTRACT

Microorganisms influence in many ways the health and human welfare. With the advancement of studies we can delve into the knowledge of micro-organisms, for although less than 1% is pathogen (disease-provoking) are still responsible for serious diseases such as polio, tetanus, and many others, making it vital that we know how they are transmitted and how they cause disease. The huge increase in the occurrence of transmissible diseases requires us to pay attention in a greater way to how these diseases are transmitted and also to seek possible solutions to solve these problems. Thinking about it this work was to evaluate the microbiological contamination of the surface of the supermarkets carts and baskets given that they are instruments of collective and common use. Four samples were taken from the surface of five carts and five baskets of a midsize supermarket located in Assis / SP. The samples were analyzed for total and thermo tolerant coliforms by the multiple tube technique and the count of *S. aureus*. The results showed that 35% of the samples were shown to be contaminated by total coliforms and 77.5% of the samples were shown to be infected by *S. aureus*. Thus, it is concluded that the supermarkets carts and baskets offer risk of contamination, suggesting further analysis for the presence of other pathogens microorganisms.

Keywords: Microorganisms; pathogens; supermarket carts and baskets.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Microscópio de Antony Van Leeuwenhoek.....	15
Figura 2 -	Esboço dos micro-organismos observados por Leeuwenhoek.....	15
Figura 3 -	Representação da vidraria pescoço de cisne e do experimento feito por Louis Pasteur para derrubar a teoria da abiogênese.....	17
Figura 4 -	Classificação e organização dos seres vivos proposta por Carl Woese.....	20
Figura 5 -	Desenho e Micrografia de uma bactéria em corte transversal para revelar suas estruturas internas.....	21
Figura 6 -	Diagrama esquemático de uma célula eucarionte composta, metade vegetal e metade animal.....	22
Figura 7 -	Imagem comparativa da bactéria <i>Thiomargarita namibiensis</i> com a cabeça de uma mosca.....	23
Figura 8 (A) -	Arranjo das bactérias em forma de cocos.....	24
Figura 8 (B) -	Arranjo das bactérias em forma de bacilos e espiral.....	25
Figura 9 -	Micrografia de bactérias coradas pela técnica de Gram, onde os bastonetes e os cocos são gram-positivos e os vibriões são gram-negativos.....	26
Figura 10 -	Colônia de <i>Escherichia coli</i>	30
Figura 11 -	Colônia de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figura 12 -	Lesões causadas na pele pela doença Impetigo que tem como agente patógeno a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	32

Figura 13 -	Esquema geral do teste de presença/ausência de Coliforme totais e Coliformes termotolerantes.....	40
Figura 14 -	Esquema geral do teste para presença/ausência de <i>S. aureus</i> ..	42

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	MICROBIOLOGIA.....	14
2.1	A HISTÓRIA DA MICROBIOLOGIA.....	14
2.1.1	Antony Van Leeuwenhoek.....	14
2.2	ABIOTÓGENESE X BIOTÓGENESE.....	16
2.3	LOUIS PASTEUR.....	16
2.3.1	Pasteurização.....	17
2.3.2	Vacinas.....	18
2.4	ROBERT KOCH.....	18
3.	CLASSIFICAÇÃO DOS SERES VIVOS.....	19
3.1	CÉLULAS PROCARIONTES E EUKARIONTES.....	20
3.2	CARACTERÍSTICAS DAS BACTÉRIAS.....	22
3.2.1	Tamanho das Bactérias.....	23
3.2.2	Morfologia Bacteriana.....	24
3.2.3	Coloração de Gram.....	25
4.	PATOGENICIDADE DAS BACTÉRIAS.....	27
4.1	PRINCIPAIS PORTAS DE ENTRADA.....	27
4.1.1	Membranas Mucosas.....	28
4.1.2	Pele.....	28
4.1.3	Via Parenteral.....	28
4.2	COLIFORMES TERMOTOLERANTES.....	29
4.2.1	<i>Eschechia coli</i>.....	29
4.2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>.....	31
5.	APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO.....	34
5.1	MATERIAIS.....	35
5.2	PROCEDIMENTOS.....	35
6.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37

6.1	MATERIAIS.....	37
6.1.1	Equipamentos.....	37
6.1.2	Meios de Cultura.....	37
6.1.3	Amostras.....	37
6.2	MÉTODOS.....	38
6.2.1	Preparação dos Swabs.....	38
6.2.2	Preparação dos meios de Cultura.....	38
6.2.3	Coleta das amostras.....	38
6.2.4	Análises Microbiológicas.....	39
6.2.4.1	Coliformes Totais e Termotolerantes.....	39
6.2.4.2	<i>S. aureus</i>	41
6.2.5	Coloração de Gram.....	43
7.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	44
8.	CONCLUSÃO.....	47
	REFERENCIAS.....	48

1. INTRODUÇÃO

A vida humana está repleta de micro-organismos, muitos dos quais colonizam nosso corpo e influenciam de varias formas a saúde e o bem-estar. Por muito tempo acreditou-se que as doenças, causadas por alguns destes micro-organismos, eram provenientes de um Deus zangado, que assim punia os homens pelos seus pecados. Com o passar dos tempos e o avanço dos estudos sobre os processos vitais, a verdadeira natureza e causa dessas doenças foram se tornando mais claras (PELCZAR; REID; CHAN, 1996).

Temos em nosso organismo cerca de 10 trilhões de células, e em nosso corpo uma média de 10 vezes mais micro-organismos do que o número de células, ou seja, 100 trilhões de micro-organismos estão presentes no corpo humano. Quando se encontram em seus devidos lugares e em equilíbrio estes micro-organismos não nos causam mal algum, pelo contrário, muitos deles nos prestam serviços de grande importância (SULLIVAN, 1989 apud BLACK, 2002).

Apesar de menos de 1% dos micro-organismos ser patógenos (causadores de doenças), é de enorme importância que saibamos como são transmitidos e como causam doenças (BLACK, 2002), pois estes patógenos são os causadores de graves doenças em animais e em nós humanos como, por exemplo, sífilis, tuberculose, poliomielite, tétano, pneumonia, hidrofobia (raiva), entre outras (RIBEIRO; SOARES, 2000).

O enorme aumento na ocorrência de doenças transmissíveis nos obriga a uma maior atenção aos riscos de contaminação, nos forçando a mudanças de hábito necessárias para a prevenção. (RUSSO, et al. 2000). Destacando locais e instrumentos de uso coletivo como meios de transmissão em potencial, tais como cestas e carrinhos de supermercados.

Este trabalho tem por objetivo verificar a contaminação microbiana nas superfícies dos carrinhos e cestas de supermercados.

2. MICROBIOLOGIA

A microbiologia é a ciência responsável pelo estudo dos micro-organismos, preocupando-se com suas atividades, suas formas, suas estruturas, sua reprodução, sua fisiologia, seu metabolismo e sua identificação. Estuda sua distribuição natural, sua relação recíproca e com outros organismos e também os efeitos benéficos e prejudiciais ao homem. Foi impulsionada pela descoberta do microscópio e da existência de micro-organismos por Antony Van Leeuwenhoek (1632 – 1723) (CARVALHO, 2010).

Embora os micro-organismos sejam antigos, a microbiologia é uma ciência muito nova, uma vez que só se conseguiu observá-los a pouco mais de 300 anos atrás, por volta de 1670, sendo que a importância da microbiologia foi pouco compreendida na época (PELCZAR JR, CHAN, KRIEG, 1996).

2.1 A HISTÓRIA DA MICROBIOLOGIA

2.1.1 Antony Van Leeuwenhoek

Leeuwenhoek era zelador da prefeitura da cidade de Delft na Holanda e tinha como *hobby* polir lentes de vidro as montando entre finas placas de bronze ou prata com o fim de inspecionar fibras e tecelagens de roupas, porém, devido a grande curiosidade, passou a observar coisas do cotidiano como, flores, gotas de água, saliva e fezes, sempre anotando tudo que observava com seu microscópio (figura 1), até que então ele viu pequeníssimos objetos móveis que só eram vistos com a ajuda do seu microscópio e os chamou de “animáculos” acreditando que eram pequenos animais vivos (BLACK, 2002; CRVALHO 2010).

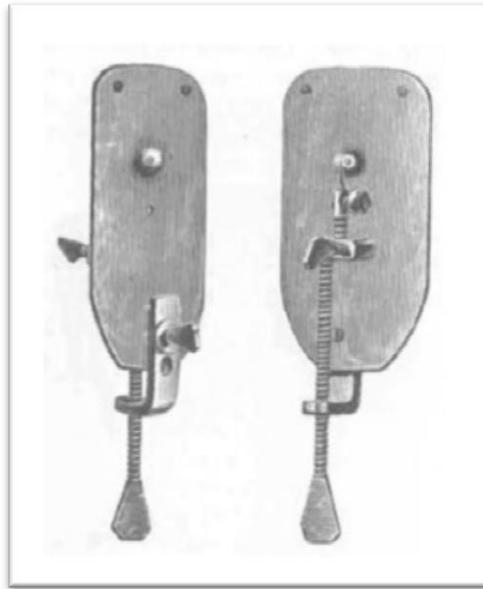


Figura 1 - Microscópio de Antony Van Leeuwenhoek (In: KARAMANOU, et al, 2010).

Na figura 2 é mostrado um esboço, desenhado por Leeuwenhoek, de alguns dos animáculos observados por ele através de seu microscópio.

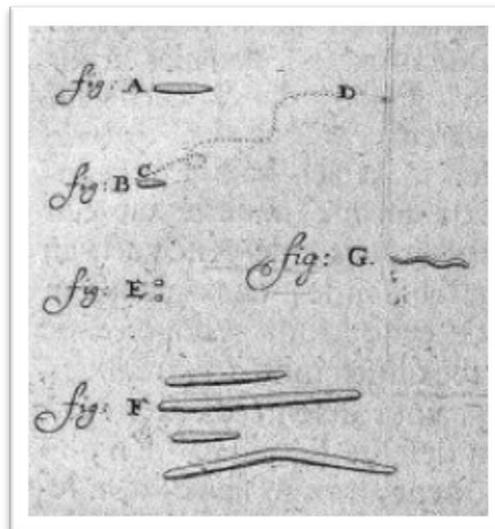


Figura 2 – Esboço dos micro-organismos observados por Leeuwenhoek (In: PELCZAR JR; CHAN; KRIEG, 1996 p.4).

2.2 ABIOGÊNESE X BIOGÊNESE

Com a descoberta dos micro-organismos muitos cientistas começaram a questionar a origem desses seres, dividindo-se em duas teorias, a abiogênese e a biogênese. Os cientistas que acreditavam na abiogênese (também conhecida por Geração Espontânea) tinham por teoria que os micro-organismos formavam-se espontaneamente a partir de matéria orgânica em decomposição ou putrefação. Já os que acreditavam na biogênese tinham por teoria que a origem desses micro-organismos estava presente no ar, onde ganhavam acesso aos materiais e cresciam se ali houvesse as condições adequadas (TORTORA, FUNKE, CASE, 2000).

A crença na geração espontânea perdurou por muitos anos, ganhando força quando Heedham em 1749 demonstra que em diferentes tipos de infusões, protegidas ou não, fervidas ou não, emergiam-se micro-organismos. Atualmente se sabe que os experimentos de Heedham não eram confiáveis, pois este não tomava precauções higiênicas para proteger suas infusões do ar, o que permitia a contaminação dos seus experimentos (CARVALHO, 2010).

Somente na segunda metade do século XIX cientistas provaram com experimentos que os micro-organismos não se originavam de uma geração espontânea, como acreditavam na abiogênese, e sim que se originavam de pais iguais a eles (HOITMAN, TRAVASSOS, AZEVEDO, 2006).

2.3 LOUIS PASTEUR

Louis Pasteur (1822-1895) foi um cientista francês de enorme importância para a ciência, entre os seus maiores feitos pode-se citar a criação de vacinas como a antirrábica (contra a raiva) e a invenção de um processo hoje chamado de pasteurização (ARROIO, 2006).

Foi Pasteur quem apresentou um dos experimentos cruciais para o fim da abiogênese, ele utilizou de uma vidraria chamada pescoço de cisne (Figura 3), cuja foi preenchida com um caldo nutritivo e aquecida para a eliminação de qualquer

micro-organismo. O ar tinha livre acesso ao caldo, pois os frascos eram abertos, mas nenhum micro-organismo surgiu na solução. Com a curvatura do gargalo a poeira e os micro-organismos ficavam retidos na superfície interna e não chegavam ao caldo (TRABULSI; ALERTHUM; 2005; PARKER; 1999).

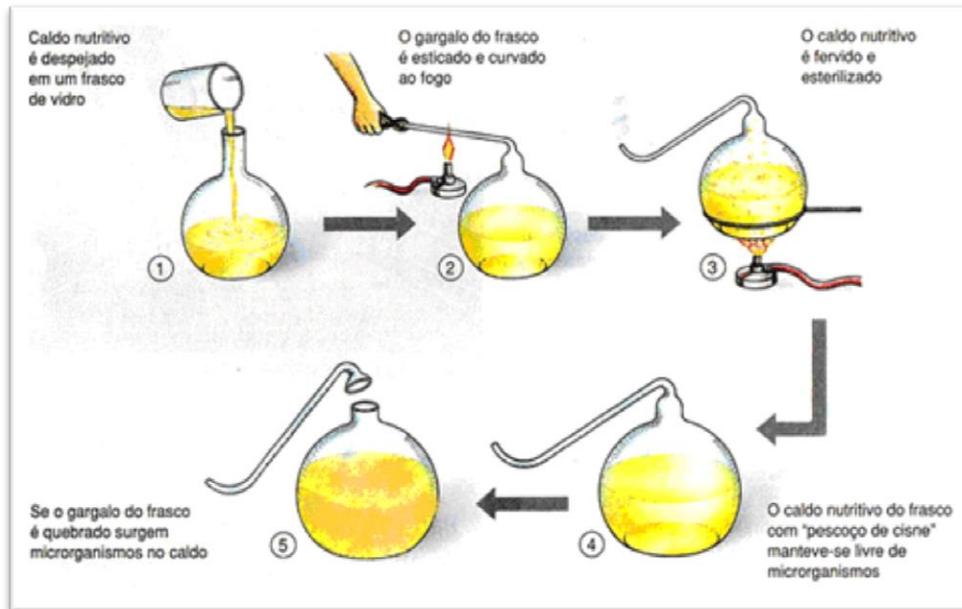


Figura 3 – Representação da vidraria pescoço de cisne e do experimento feito por Louis Pasteur para derrubar a teoria da abiogênese (In: ARROIO, 2006).

2.3.1 Pasteurização

Atendendo aos pedidos de vinicultores, Louis Pasteur começou a investigar o motivo pelo qual os vinhos azedavam. Depois de estudos Pasteur sugeriu que para combater esse problema que era causado por micro-organismos, a bebida deveria ser aquecida entre 50°C e 60°C por alguns minutos, assim matando os micro-organismos causadores do problema. Este processo também foi utilizado na cerveja e no leite recebendo o nome de pasteurização em sua homenagem e ainda é utilizado até os dias de hoje (ARROIO, 2006).

2.3.2 Vacinas

Pasteur descobriu através de pesquisas que ao se manter culturas de micro-organismos por períodos longos em condições adequadas estas perdiam sua virulência e induziam a imunização se injetadas em um organismo, criando assim o princípio da vacinação. Em 1885 utilizou com sucesso a vacina antirrábica em Joseph Meister de nove anos que havia sido mordido por um cão contaminado pela raiva (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

2.4 ROBERT KOCH

Robert Koch (1843 – 1910) foi um contemporâneo de Pasteur, terminou seu curso de medicina no ano de 1872 e trabalhou como médico na Alemanha durante boa parte de sua carreira. Foi quando comprou um microscópio que dedicou a maior parte do seu tempo ao estudo das bactérias, principalmente as causadoras de doenças. Dentre suas principais realizações, podemos destacar a descoberta da bactéria causadora do Antraz, uma doença contagiosa e letal ao gado e algumas vezes até para os seres humanos, e a formulação dos quatro postulados para correlacionar um determinado organismo a uma doença específica. Koch também encontrou uma maneira de cultivar as bactérias em culturas puras, ou seja, culturas com apenas um tipo de organismos (BLACK, 2002).

Segue os quatros postulados de Koch de acordo com Black (2002, p.12):

1. O agente causador específico deve ser encontrado em todos os casos de doenças.
2. O organismo causador da doença deve ser isolado em uma cultura pura.
3. A inoculação de uma amostra da cultura em um animal saudável e susceptível deve fazer com que esse animal desenvolva a mesma doença.
4. O organismo causador da doença deve ser recuperado a partir do animal inoculado.

3. CLASSIFICAÇÃO DOS SERES VIVOS

Desde a descoberta dos micro-organismos e a inicialização dos seus estudos, viu-se insuficiente a divisão dos seres vivos em dois reinos, animal e vegetal. Foi então que, em 1866, Haeckel sugeriu a criação de um terceiro reino chamado de Protista, este reino incluía bactérias, algas, fungos e protozoários e mostrou-se satisfatório até o avanço dos estudos sobre a estrutura celular (TRABULSI; ALTERTHUM; 2005).

Em 1969, Wittaker sugere a ampliação da classificação proposta por Haeckel, baseando-se na organização celular e na forma de se obter alimento e energia, dividindo os seres vivos em cinco reinos: Reino *Monera* (bactérias e cianobactérias), Reino *Protista* (algas e protozoários), Reino *Plantae* (plantas), Reino *Fungi* (bolores e leveduras) e Reino *Animalia* (animais) (AMABIS; MARTHO; 2005).

Então, em 1977, estudos comparativos entre RNAs ribossômicos feitos por Carl Woese e seus colaboradores na Universidade de Illinois, descobriram que os procariotos e eucariotos evoluíram por caminhos diferentes de um mesmo ancestral, propondo então outra classificação (Figura 4) para os seres vivos: Eucariotos (que inclui animais, plantas, protozoários, algas e fungos), Arquibactérias (que inclui bactérias metanôgenicas, halófitas, acidófilas e termófilas) e Eubactérias (que inclui as cianobactérias e as demais bactérias) (PELCZAR; CHAN; KRIEG; 1996. TRABULSI; ALTERTHUM; 2005).

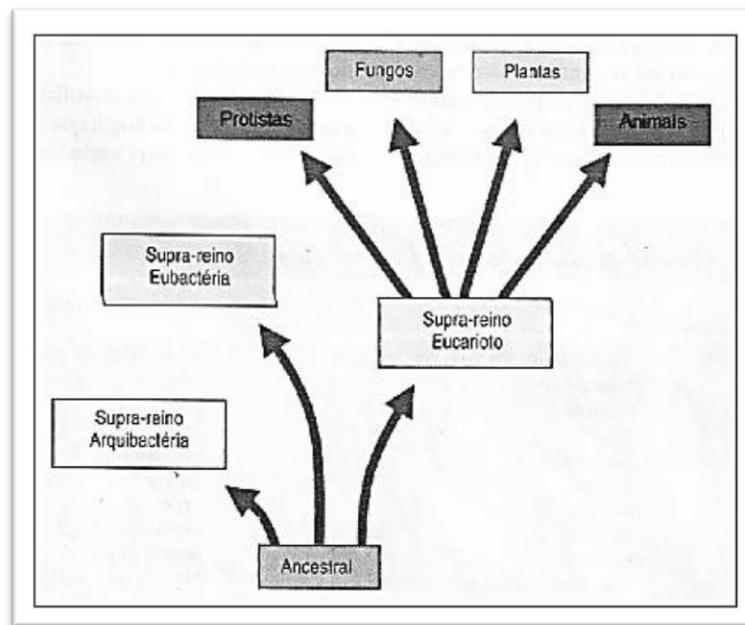


Figura 4 – Classificação e organização dos seres vivos proposta por Carl Woese (TRABULSI; ALTERTHUM; p – 4; 2005).

3.1 CÉLULAS PROCARIONTES E EUCARIONTES

Todas as células vivas podem ser classificadas em dois grupos, procarióticas e eucarióticas, estes dois grupos possuem algumas semelhanças químicas, pois ambos possuem ácidos nucleicos, proteínas, lipídios, e carboidratos. Eles também compartilham do mesmo tipo de reação para formar proteínas, armazenar energia e metabolizar alimentos. A principal diferença entre os procariotos e eucariotos está na estrutura das paredes celulares e ausência de organelas (TORTORA; FUNKE; CASE; 2005).

Os procariotos (do termo grego significando pré-núcleo), não possuem seu DNA envolvido por uma membrana, ou seja, os cromossomos encontram-se dispersos no citoplasma, também não possuem organelas revestidas por membranas, suas paredes celulares quase sempre possuem o polissacarídeo complexo peptidoglicano. Sua divisão normalmente ocorre através de fissão binária, onde o DNA é duplicado e a célula se divide em duas. A Figura 5 mostra a estrutura típica de uma célula procarionte (COOPER, HOUSMAN; 2007).

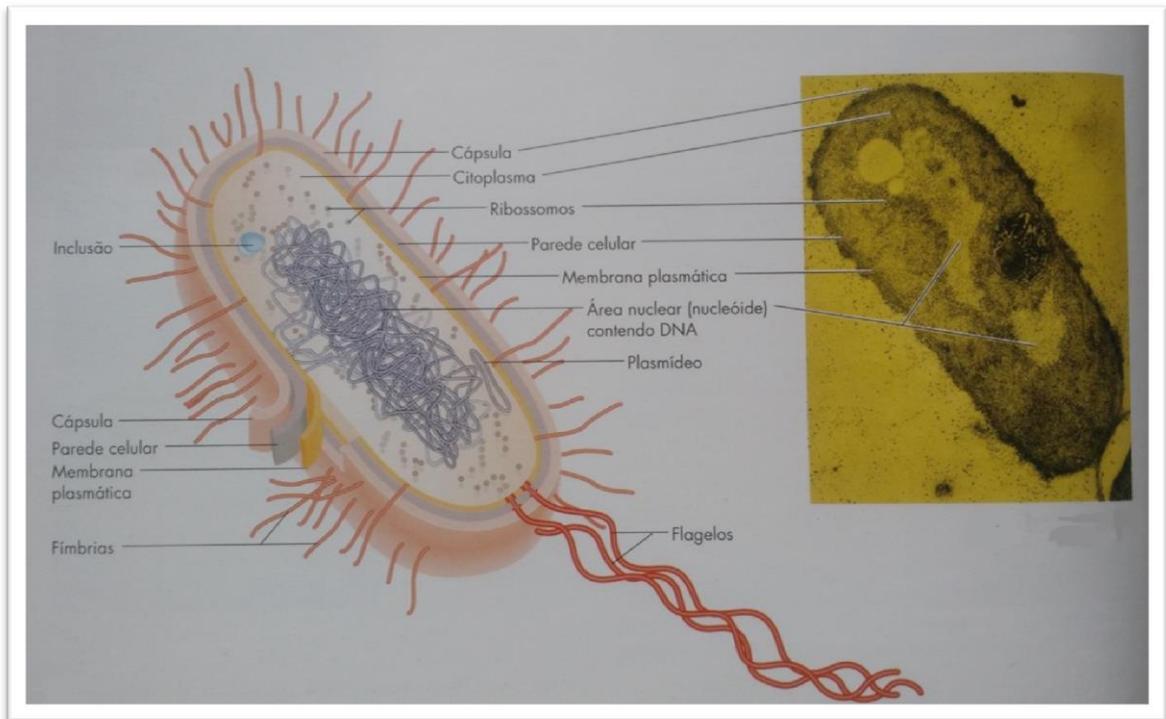


Figura 5 – Desenho e Micrografia de uma bactéria em corte transversal para revelar suas estruturas internas (In: TOTORA; FUNKE; CASE; p-78; 2005).

Já nos eucariotos (do termo grego significando núcleo verdadeiro), seu DNA encontra-se no núcleo da célula que é separado do citoplasma por uma membrana nuclear, os eucariotos também possuem diversas organelas revestidas por membranas (Figura 6). Suas paredes celulares, quando presentes, são quimicamente mais simples e sua divisão geralmente ocorre por mitose, onde os cromossomos são duplicados e em conjunto idêntico são distribuídos para os dois núcleos, processo que é controlado pelo fuso mitótico, seguido da divisão do citoplasma e de outras organelas, de maneira que as duas células produzidas são idênticas (ALBERTS; et al; 2009).

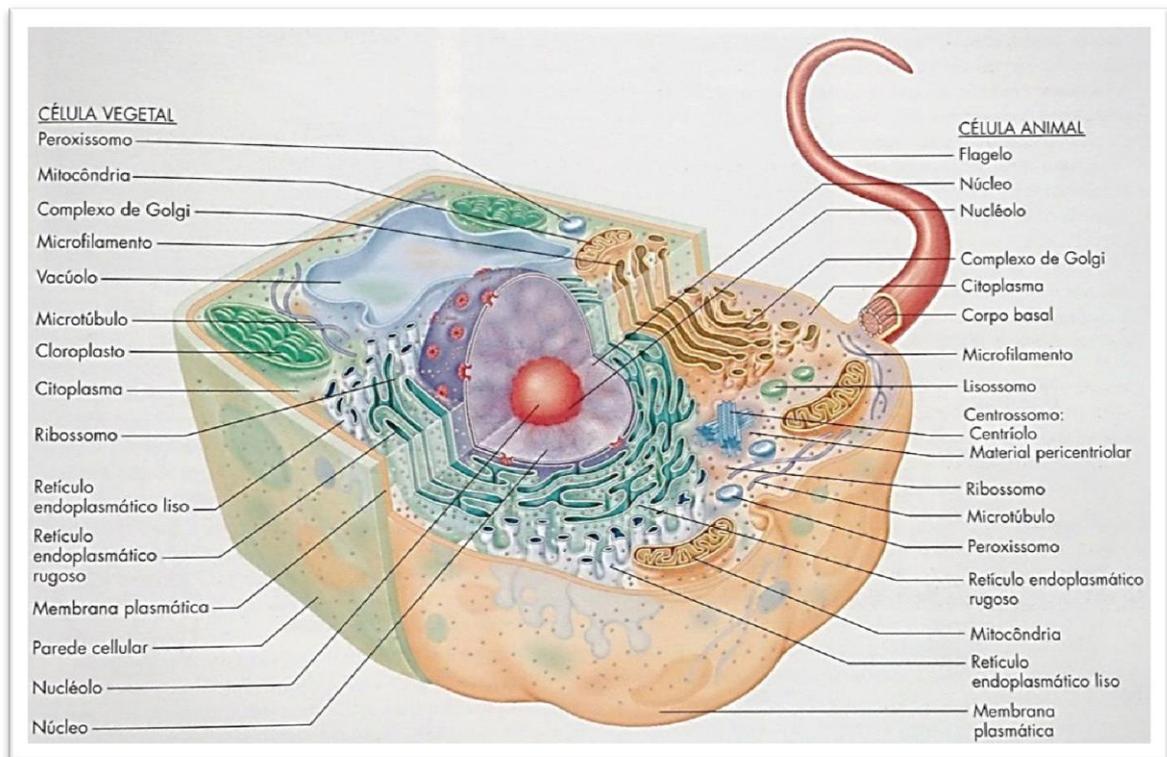


Figura 6 – Diagrama esquemático de uma célula eucarionte composta, metade vegetal e metade animal (In: TORTORA; FUNKE; CASE; p-97; 2005).

3.2 CARACTERÍSTICAS DAS BACTÉRIAS

As bactérias são seres unicelulares e procariontes, embora tenham aproximadamente quatro bilhões de anos de evolução, possuem estrutura celular bastante simples, mas nem sempre apresentam as mesmas características, podendo variar em suas formas, tamanhos e virulência. Grande parte das bactérias podem possuir esporos quando as condições não são adequadas para a sobrevivência, ou seja, quando há falta de nutrientes necessários ao desenvolvimento. Há também as bactérias que não possuem os esporos, sendo assim, são chamadas de vegetativas (RIBEIRO; SOARES; 2000).

3.2.1 Tamanho das Bactérias

Donas de varias formas e tamanhos, as bactérias podem variar de 0,1 μ m a até 1,0 mm, sendo o tamanho médio da maioria das espécies em torno de 1,0 μ m. Recentemente houve a descoberta de uma espécie de bactéria, denominada nanobactéria, podendo chegar a até 0,05 μ m de comprimento. Há também as denominadas bactérias gigantes, como as da espécie *Thiomargarita namibiensis* (Figura 7), que podem chegar a até 0,8 mm de comprimento (MADIGAN; MARTNKO; PARKER; 2010).



Figura 7 – Imagem comparativa da bactéria *Thiomargarita namibiensis* com a cabeça de uma mosca (In:<http://www.microbeworld.org/component/content/article?id=158>).

3.2.2 Morfologia Bacteriana

Quanto a suas formas as bactérias podem ser classificadas em três grupos, cocos esféricos, bacilos e em espiral, sendo que estas formas podem ainda apresentar algumas variações. Suas formas são determinadas por fatores genéticos e pela presença da parede celular, descobriu-se recentemente a presença de um citoesqueleto nas bactérias, cujo também é responsável pela forma das bactérias. As bactérias ainda podem se agrupar formando uma variedade de arranjos como, por exemplo, pares, cadeias ou cachos. A formação desses grupos ocorre quando as bactérias se dividem, mas não se separam sendo que a formação do arranjo depende do tipo de divisão ocorrido (CABEEN; JACOBS-WAGNER; 2005). As Figuras 8 A e B mostram as formas e arranjos básicos das bactérias.

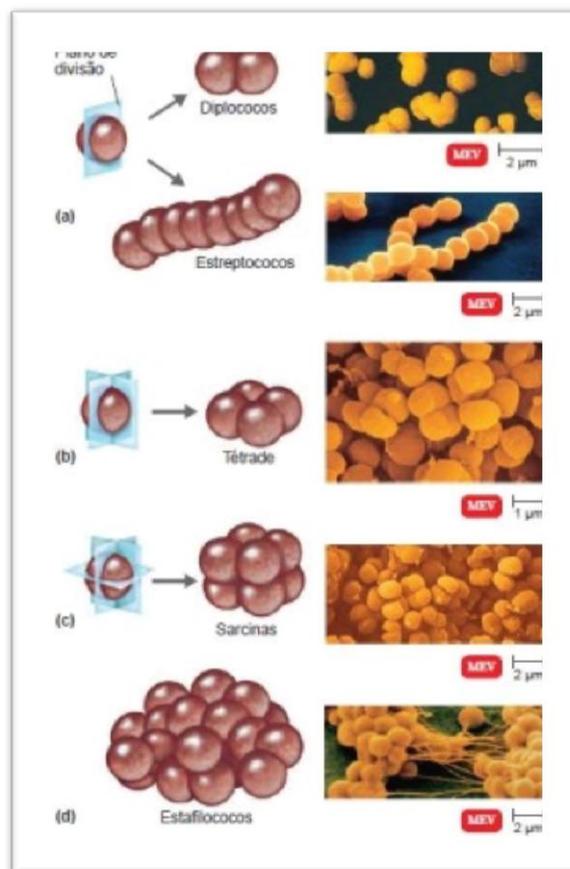


Figura 8 (A) – Arranjo das bactérias em forma de cocos (In: FIDEMANN; 2014).

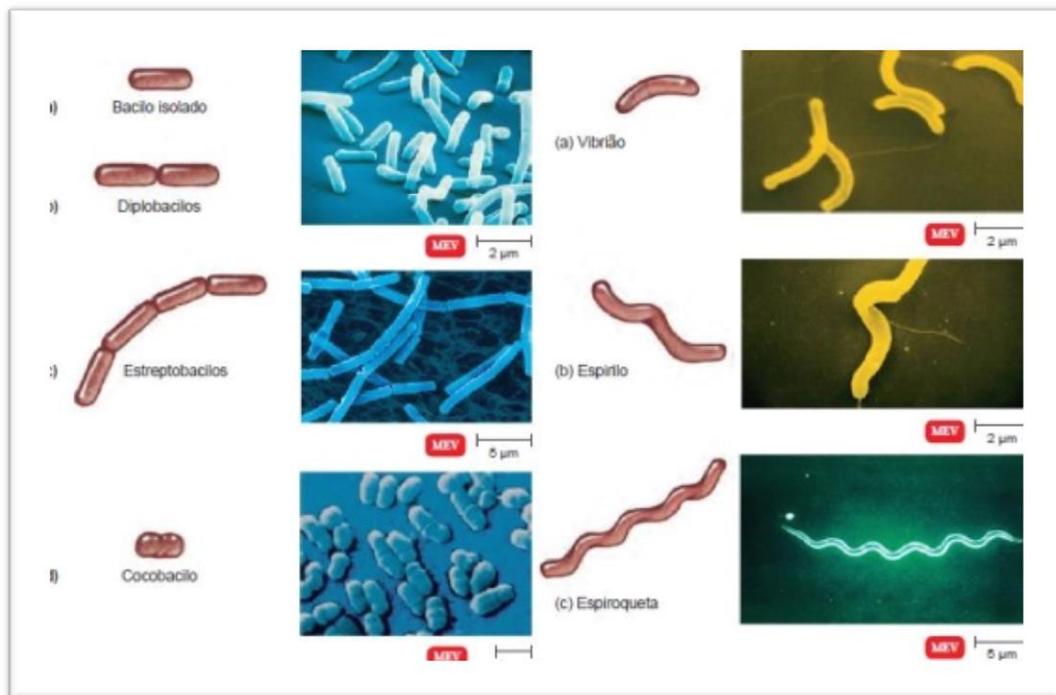


Figura 8 (B) – Arranjo das bactérias em forma de bacilos e espiral (In: FIDEMANN; 2014).

3.2.3 Coloração de Gram

A técnica de coloração conhecida por Coloração de Gram ou Técnica de Gram, recebeu este nome em homenagem ao médico dinamarquês Hans Cristian Joaquin Gram que por volta de 1884 observou que as bactérias adquiriam cores diversificadas quando tratadas com diferentes corantes. Este é um dos procedimentos de coloração mais úteis, pois com ele podemos classificar as bactérias em gram-positivas e gram-negativas (Figura 9) (RIBEIRO; SOARES; 2000).

A seguir temos o procedimento da técnica de Gram de acordo com TORTORA; FUNKE; CASE (2005).

1. Um esfregaço fixado pelo calor é recoberto com um corante básico púrpura, normalmente a violeta genciana. Uma vez que a coloração púrpura impregna todas as células, é denominada **coloração primária**.

2. Após um curto período, o corante é recoberto com iodo, um mordente. Quando o iodo é lavado, ambas as bactérias gram-positivas e gram-negativas aparecem em cor violeta escuro ou púrpura.
3. A seguir, a lâmina é lavada com álcool ou uma solução de álcool-acetona. Essa solução é um **agente descolorante**, que remove o púrpura das células de algumas espécies, mas não de outras.
4. O álcool é lavado, e a lâmina é então corada com safranina, um corante básico vermelho. O esfregaço é lavado novamente, seco com papel e examinado microscopicamente.

Sendo assim, as bactérias denominadas gram-positivas ficam com a coloração violeta, enquanto as gram-negativas recebem a coloração rosa. Isso ocorre, pois as bactérias gram-positivas possuem uma camada espessa de peptidoglicana em sua parede celular, essa camada espessa retém a coloração primária na etapa onde o esfregaço é lavado com o álcool, deste modo permanece com a coloração violeta e não é afetado quando se aplica a safranina. Já nas bactérias gram-negativas, onde a camada de peptidoglicana é fina, o álcool descolore as bactérias na etapa da lavagem, tornando-as incolores e por isso elas recebem a coloração rosa quando o corante safranina é aplicado (TRABULSI; ALERTHUM 2005).

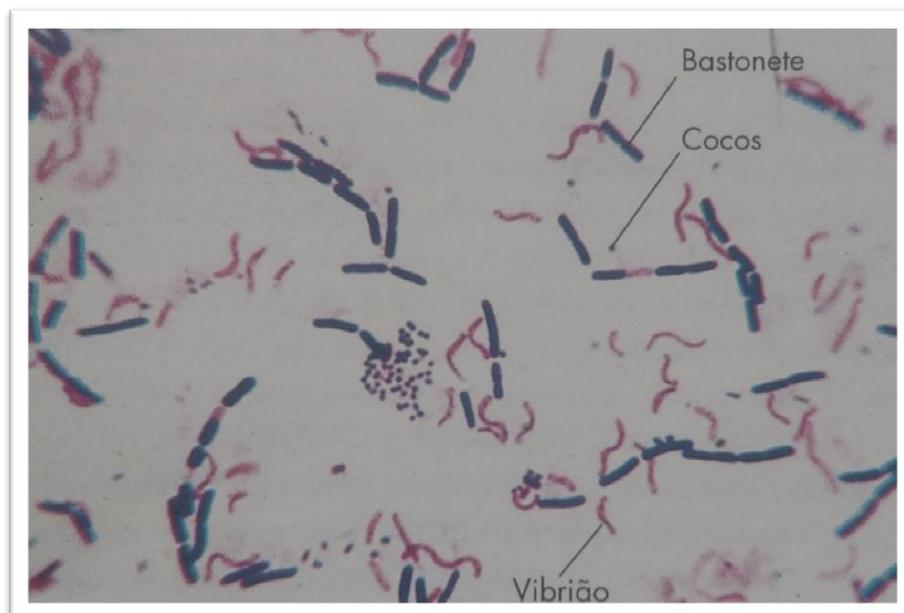


Figura 9 – Micrografia de bactérias coradas pela técnica de Gram, onde os bastonetes e os cocos são gram-positivos e os vibriões são gram-negativos (In: TORTORA; FUNKE; CASE; pg-68; 2005).

4. PATOGENICIDADE DAS BACTÉRIAS

O termo patogenicidade refere-se a capacidade que uma bactéria tem de causar doenças. A patologia é a ciência que estuda a doença, estando relacionada com a causa da doença, com a forma qual a doença se desenvolve e com as alterações e efeitos desencadeados pela doença no corpo contaminado. Denomina-se infecção a invasão ou colonização de micro-organismos patogênicos no corpo, os patógenos podem infectar o corpo humano ou de outro hospedeiro, através de vias denominadas portas de entrada (TORTORA; FUNKE; CASE; 2005).

Podemos diferenciar os micro-organismos patogênicos de outros da mesma espécie pelo fato de estes possuírem genes codificadores de fatores de virulência, ou seja, ocasionam a apresentação de sintomas anormais no corpo hospedeiro, sendo assim, definindo o estado de doença. Podemos definir como fatores de virulência, as estruturas, os produtos ou as estratégias que ajudam uma bactéria a melhorar sua capacidade de causar uma infecção. Dentre os mais importantes fatores de virulência encontramos as adesinas, as toxinas, as invasinas, os sideróforos e os fatores que abolem as defesas do organismo (TRABULSI; ALERTHUM; 2005; VIEIRA; 2009).

4.1 PRINCIPAIS PORTAS DE ENTRADA

De acordo com Tortora, Funke & Case (2005), dentre as portas de entrada destacam-se as membranas mucosas, a pele e deposição direta sob as membranas ou a pele.

4.1.1 Membranas Mucosas

A maioria dos patógenos tem acesso ao corpo através das membranas mucosas dos tratos gastrintestinal e respiratório. O trato respiratório é o de mais frequência utilizado pelos agentes infecciosos, os micro-organismos que utilizam desta porta de entrada são inalados, pelo nariz ou pela boca, através de gotículas de umidade ou de poeira. Entre as doenças que são normalmente contraídas pelo trato respiratório estão o resfriado comum, a pneumonia, a tuberculose, a gripe, o sarampo e a varicela (TORTORA; FUNKE; CASE; 2005).

4.1.2 Pele

Apesar de impenetrável para a maior parte dos micro-organismos, alguns patógenos ganham acesso ao corpo através de pequenas aberturas na pele, como por exemplo, folículos pilosos e ductos de glândulas sudoríparas (TORTORA; FUNKE; CASE; 2005).

4.1.3 Via Parenteral

Via Parenteral é denominada a rota na qual os micro-organismos tem acesso ao corpo através de lesões na pele ou nas membranas. Essas lesões podem ser ocasionadas por injeções, picadas, cortes, cirurgias e rompimentos devido a ressecamentos ou edemas, proporcionando uma via parenteral ao patógeno (TORTORA; FUNKE; CASE; 2005).

4.2 COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Coliformes termotolerantes são bactérias gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase-negativas, caracterizadas pela atividade da enzima β -galactosidase. Podem crescer em meios contendo agentes tenso-ativos e fermentar a lactose nas temperaturas de 44° - 45°C, com produção de ácido, gás e aldeído. Além de estarem presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos, ocorrem em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que não tenham sido contaminados por material fecal (CONAMA, 2005).

A determinação de sua concentração é de enorme importância como parâmetro de indicação da presença de micro-organismos patogênicos. Podemos destacar como pertencentes a este grupo algumas bactérias do gênero *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e a bactéria *Escherichia coli*, sendo a *E. Coli* a única encontrada no trato intestinal humano (SILVA, et al; 2005; SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA; 2006).

4.2.1 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* (Figura 10), ou somente *E. coli*, é uma bactéria em forma de bastonete e anaeróbia, sendo um constituinte do trato gastrointestinal normal dos seres humanos e de outros animais de sangue quente, sua presença é essencial na produção de algumas vitaminas e na digestão de alguns alimentos quais não seriam digeridos sem sua presença. Geralmente quando se encontra no intestino, essa bactéria não causa nenhuma infecção, no entanto, quando sua presença é dada em outras regiões do corpo é capaz de causar infecções (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER; 2010; WILEY, SHERWOOD; WOLVERTON; 2009).

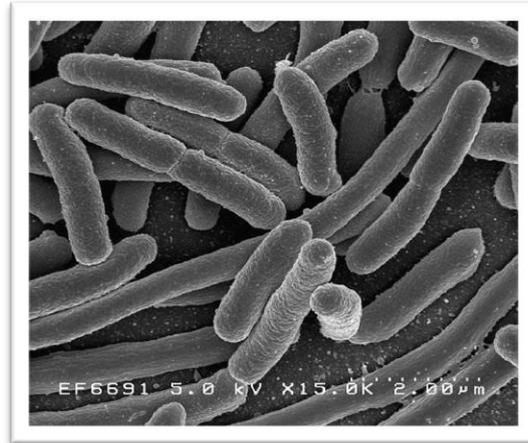


Figura 10 – Colônia de *Escherichia coli* (In: pt.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli).

A *E. coli* possui uma enorme diversidade patogênica, possuindo uma divisão de ao menos cinco classificações de acordo com os sintomas e os mecanismos de infecção. Dentre os sintomas causados pela infecção por *E. coli*, destacam-se inflamações intestinais, diarreia forte, febre, vômitos, podendo causar desidratação, que chega a ser fatal, principalmente em indivíduos com o sistema imunológico mais frágil, como idosos e crianças. É comum também a ocorrência de cistites quando as bactérias *E. coli*, do trato intestinal se alojam no trato urinário (TRABULSI; ALERTHUM; 2005).

A contaminação por *E. coli* normalmente se dá através do consumo de água e alimentos contaminados com a bactéria. Dentre as doenças causadas por ela estão a gastroenterite, a infecção urinária, a apendicite e a meningite, sendo que na maioria dos casos a bactéria causa uma leve gastroenterite com duração menor que sete dias. Dentre os tratamentos para a infecção por *E. coli*, inclui-se a ingestão maior de líquidos e sais de hidratação oral e o uso de antibióticos segundo orientação médica. Há também meios de prevenção contra contaminação como a lavagem das mãos antes e depois de usar o banheiro, das refeições e do preparo das refeições, bem como a lavagem adequada de alimentos quais são consumidos sem cozimento (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER; 2010).

4.2.2 *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* (Figura 11), ou somente *S. aureus*, é uma bactéria esférica do grupo dos cocos gram-positiva com aproximadamente 0,5 a 1,5 µm de diâmetro. Essa bactéria pode apresentar-se de diversas formas, desde isoladas, aos pares, em cadeias curtas ou agrupamentos irregulares (semelhante a cachos de uva), sendo considerada uma das bactérias patogênicas mais importantes, pois é o agente de uma grande variedade de infecções. É frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. As doenças causadas por esse micro-organismo são geralmente classificadas em superficiais, invasivas ou tóxicas podendo ainda apresentar características mistas, tóxicas e invasivas (TRABULSI; ALERTHUM; 2005; SANTOS; et al; 2007).

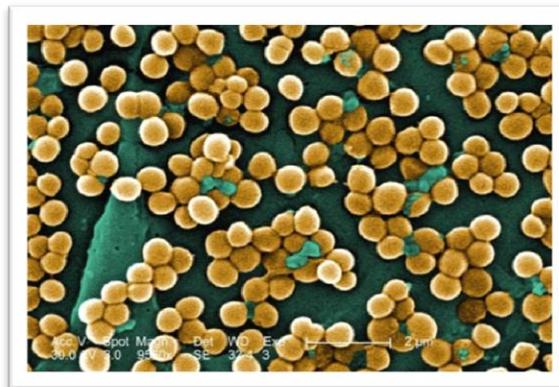


Figura 11 – Colônia de *Staphylococcus aureus* (In: www.mdsaude.com)

A *S. aureus*, tem como um dos principais fatores de virulência a produção de toxinas que atuam através de diferentes mecanismos, motivo pelo qual a ingestão de alimentos contaminados pode ocasionar vômitos e diarreia em até quatro horas após o consumo. Além da produção de toxinas outros fatores que são responsáveis pela sua patogenicidade é o fato de terem bom desenvolvimento mesmo sob alta pressão osmótica e baixa umidade e a capacidade de rapidamente desenvolver resistência a

antibióticos, oferecendo risco elevado para pacientes clínicos (TRABULSI, ALERTHUM; 2005; TORTORA; FUNKE; CASE; 2012).

A infecção por *S. aureus* pode ocorrer pelas bactérias que se encontram no corpo do próprio indivíduo ou ainda ser adquirida de outros indivíduos doentes ou mesmo saudáveis, através do contato direto ou indireto. Apesar do grande número de doenças causadas pelo *S. aureus*, podemos dividi-las em três tipos: as infecções superficiais, as infecções sistêmicas e os quadros tóxicos. Dentre as principais doenças a contaminação por esta bactéria pode causar infecções cutâneas e do tecido celular subcutâneo, bacteremias, endocardites, pneumonia e empiema, osteomielite, artrites, intoxicação alimentar, síndrome do choque tóxico e síndrome da pele escaldada (TRABULSI; ALERTHUM; 2005). A figura 12 mostra lesões cutâneas causadas pela infecção por *S. aureus*.



Figura 12 – Lesões causadas na pele pela doença Impetigo que tem como agente patógeno a bactéria *Staphylococcus aureus* (In:pt.wikipedia.org/wiki/Impetigo).

O diagnóstico das infecções causadas pelo *S. aureus* são feitas através de exames bacterioscópico de esfregaços corados pelo método de Gram, isolamento e

identificação do micro-organismo. Devido ao fato da elevada capacidade de desenvolver resistência a antibióticos, o tratamento para infecções por *S. aureus* deve ser escolhido após ser analisado os resultados de testes de suscetibilidade, lembrando-se que as amostras isoladas de pacientes clínicos são geralmente mais resistentes que as amostras isoladas de pacientes na comunidade (SANTOS; et al; 2007).

5. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

O professor exerce o principal papel na educação, tendo como missão transformar a sociedade. Por isso, mesmo que a escola supra todas as necessidades, como livros de qualidade, computadores, laboratórios, verbas e etc., nenhum sistema educacional será melhor do que a qualidade e habilidade do professor (ALVES, 2007; MATTIOLI; SAVIANI, 2000).

É de conhecimento geral que grande parte dos alunos possui dificuldades em relacionar conceitos passados em sala de aula com seu dia-a-dia. Sendo assim, passam a decorar formulas e símbolos, fazendo com que seja de enorme importância, principalmente no ensino de química, que o professor alie a teoria com a prática. Uma excelente forma de isso acontecer é através de aulas experimentais, excepcionalmente na química, as experimentações facilitam e contribuem de forma grandiosa na compreensão de conceitos e distingue a prática da teoria (FARIAS; BASAGLIA; ZIMMERMANN, 2012; MEDEIROS, et al, 2013; MARQUES; et al, 2008).

A aula experimental faz com que os alunos explorem e elaborem ideias comparando-as com as científicas, assim então, tendo um melhor desenvolvimento cognitivo. Na realização de uma aula prática devem-se considerar alguns fatores como: a infraestrutura escolar, os materiais e reagentes requeridos, e as escolhas das experiências. O experimento deve ser de fácil percepção e compreensão, além de ser, de um modo geral, seguro para evitar acidentes com os estudantes e ainda assim ser atrativo para despertar o interesse dos mais indiferentes em sala de aula. Deve se atentar também aos materiais para que sejam de fácil acesso ao professor e aos alunos (FARIAS; BASAGLIA; ZIMMERMANN 2012).

Visando então cumprir com a relação entre a prática e a teoria, a aplicação do ensino médio por este trabalho sugerida é a de um experimento apelidado de “Bactéria de estimação” para complementar as aulas de biologia ou química quando o assunto for micro-organismos, mostrando aos alunos colônias de bactérias cultivadas em meios de cultura caseiros. Podendo ser abordado dentro da química, assuntos diversos como, por exemplo, a utilização de nutrientes (caldo de carne), a

fonte de N para o crescimento microbiológico, a gelatinização do amido e a formação de gel na gelatina, entre outros conteúdos quais podem ser explorados pelo professor.

5.1 MATERIAIS

- 2 Tabletes de caldo de carne (Aprox. 80g);
- 2 Colheres de sopa de amido de milho;
- 1 Saquinho de gelatina incolor;
- 200 mL de água;
- 1 Béquer de 250 mL (ou 1 panela pequena);
- 1 Béquer de 100 mL (ou 1 copo comum);
- 1 Bastão de vidro (ou uma colher);
- 6 Placas de petri (ou tampas de potes de margarina);
- Cotonetes;
- Etiquetas;
- Caneta;
- Filme Plástico;

5.2 PROCEDIMENTOS

Para o preparo do primeiro meio de cultura dissolva um tablete de caldo de carne em 20 mL de água, dissolva as duas colheres de amido de milhos em 80 mL de água e adicionar o caldo que já foi dissolvido, colocar em fogo baixo e mexer até formar uma massa/gel. Para o segundo meio dissolva o caldo em 100 mL de água e adicionar a gelatina, levar ao fogo baixo até que a gelatina se solubilize totalmente,

sem deixar ferver. Os meios então devem ser despejados até cobrir o fundo das placas de petri ou tampas de margarina.

Pegar os cotonetes e passar em locais de possível contaminação, como por exemplo, entre os dentes, entre os dedos dos pés e em vasos sanitários. Esfregar os cotonetes suavemente sobre a superfície dos meios e tampar as placas de petri ou cobrir as tampas de margarina com o papel filme, etiquetar e a anotar qual o tipo de contaminação. Após três dias observar as alterações ocorridas em cada meio de cultura.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 MATERIAIS

6.1.1 Equipamentos

- Estufa bacteriológica MA32 (MARCONI);
- Capela para plaqueamento (fluxo laminar) – TROX;
- Auto-Clave Vertical (PHOENIX);
- Balança semi-analitica (Radwag WTB 300);
- Microcópico Carl Zeiss
- Banho Maria

6.1.2 Meios de Cultura

- Agar Baird Parker (Acumedia 7112A Lote: 106088B)
- Caldo Lauril Sulfato Triptose
- Agar Brain Heart Infusion

6.1.3 Amostras

Será coletado Amostras da superfície de carrinhos e cestinhas de um supermercado de médio porte situado na cidade de Assis.

6.2 MÉTODOS

6.2.1 Preparação dos Swabs

Fixou-se um pedaço de algodão em uma das pontas do palito de bambu, de forma que este ficasse firme e não se soltasse com facilidade. O processo foi repetido até que foram feitos um total de 50 swabs. Encapou-se então os swabs de forma a identificar qual ponta estaria com o algodão. Em seguida os swabs foram autoclavados a 121°C por 15 minutos.

6.2.2 Preparação dos meios de Cultura

Os meios utilizados no trabalho foram preparados conforme instruções dos fabricantes. Após preparo, foram dispensados em vidraria adequada e autoclavados a 121°C por 15 minutos.

6.2.3 Coleta das amostras

Coletou-se a amostra de 5 carrinhos e de 5 cestinhas de um supermercado da cidade de Assis - SP, os dias foram escolhidos aleatoriamente assim como os carrinhos e as cestas, sendo as coletas sempre realizadas no período da manhã. Identificou-se os tubos com a letra C seguida de um número, ordenado pela sequência da coleta, para os carrinhos e a sílaba CE seguida de um número, ordenado pela sequência da coleta, para as cestinhas. O Swab foi umedecido na água de diluição do tubo correspondente e esfregado de forma devida por toda a superfície na qual se se empurra os carrinhos e se segura as cestinhas. Devolveu-se o Swab para o tubo correspondente e quebrou-se a haste de bambu de tamanho adequado para se tampar o tubo. As amostras coletadas foram condicionadas em isopor até o início das análises.

6.2.4 Análises Microbiológicas

6.2.4.1 Coliformes Totais e Termotolerantes

As análises de coliformes totais e termotolerantes foram realizadas pelo método dos tubos múltiplos, conforme a figura 13.

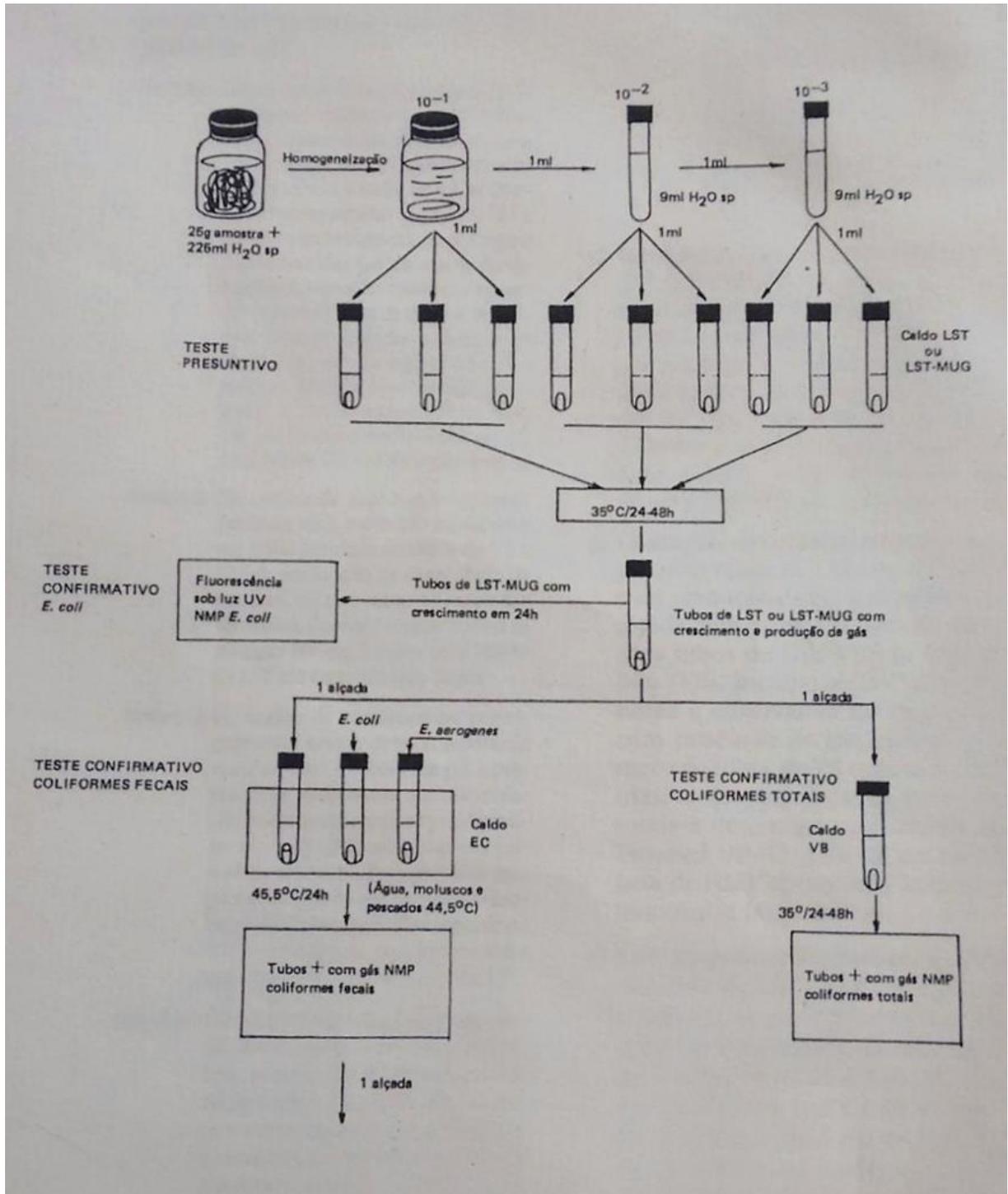


Figura 13 – Esquema geral do teste de presença/ausência de Coliformes Totais e Coliformes termotolerantes (In: Lancette & Bennett; 2001).

As análises de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes foram realizadas dentro da capela de fluxo laminar e todos os materiais utilizados foram previamente esterilizados.

6.2.4.2 *S. aureus*

A análise de *S. aureus* foi realizada pela técnica de plaqueamento em superfície conforme o esquema (Figura 14).

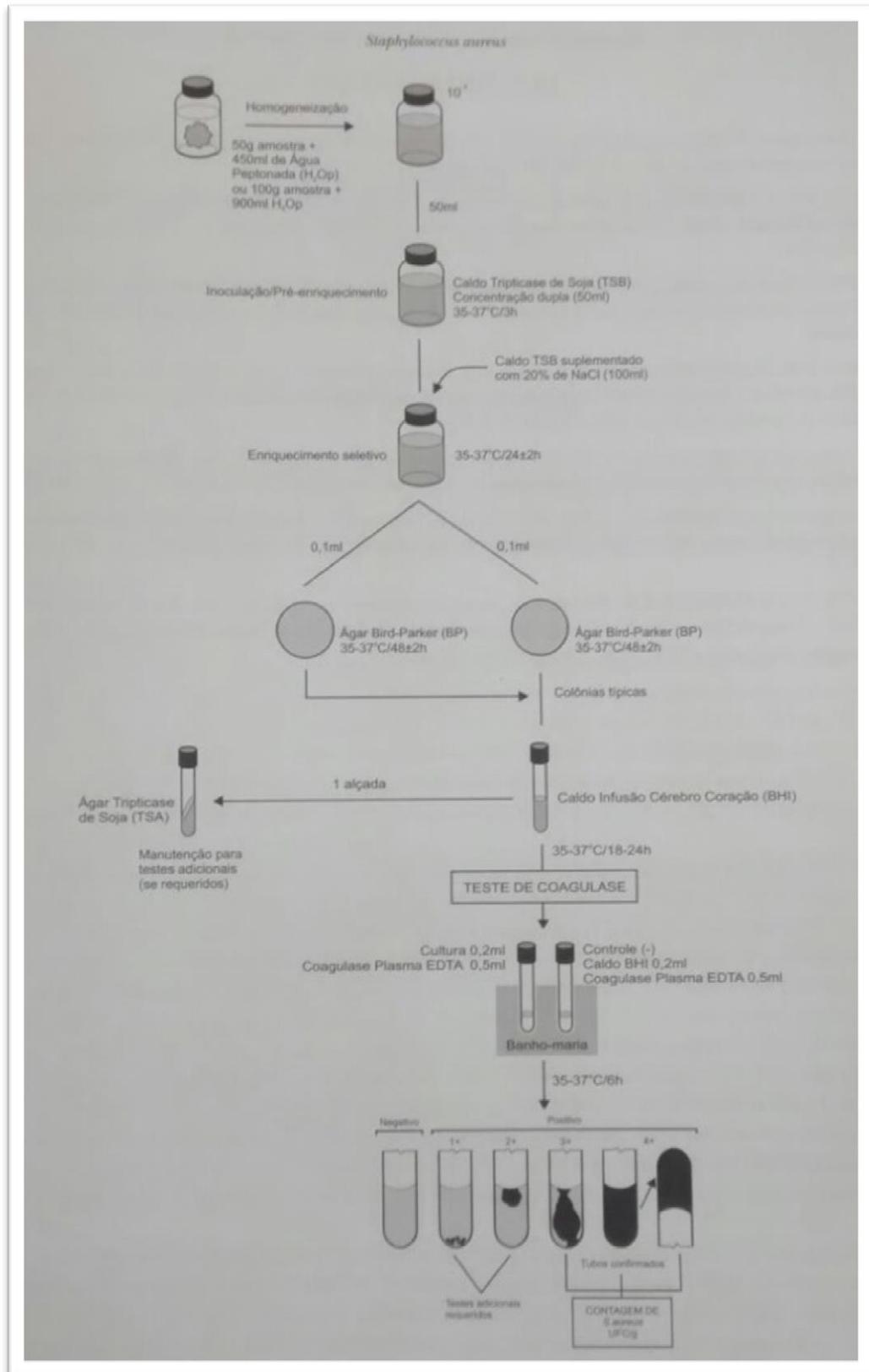


Figura 14 – Esquema geral do teste para presença/ausência de *S. aureus* (In: Lancette & Bennett; 2001).

6.2.5 Coloração de Gram

O seguinte procedimento foi realizado com as amostras na qual foi observada a presença de *Staphylococcus aureus*.

Separou-se e lavou-se com solução de álcool 70% a quantidade necessária de lâminas para microscópio, então secou-se e identificou-se segundo a amostra utilizada. Mergulhou-se a alça de platina previamente esterilizada no tubo com a amostra e fixou-se o esfregaço através de calor.

As lâminas já contendo os esfregaços fixos, foram recobertas com o corante cristal violeta, após 60 segundos adicionou-se a solução de lugol. Após 90 segundos as lâminas foram lavadas com a solução de álcool-cetona 50/50 seguidas de outra lavagem por um filamento contínuo de água destilada. As lâminas foram então coradas com o corante Fucsina, esperou-se 30 segundos e então as lâminas foram lavadas e secas. Todas as lâminas foram analisadas microscopicamente.

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na tabela 1 observam-se os resultados obtidos das análises das quatro coletas realizadas. O resultado para os coliformes é dado através do cálculo do número mais provável (NMP) de micro-organismos em cada amostra coletada, este número é baseado em cálculos de probabilidade estatística, ou seja, uma estimativa na densidade média de coliformes nas amostras, com um intervalo de confiança de 95%. Já o resultado para *S. aureus* é dado através do cálculo das unidades formadoras de colônias (UFC).

AMOSTRAS	Coleta 1		Coleta2		Coleta 3		Coleta 4	
	C.Totais NMP/mL	<i>S.aureus</i> UFC/mL	C.Totais NMP/mL	<i>S.aureus</i> UFC/mL	C.Totais NMP/mL	<i>S.aureus</i> UFC/mL	C.Totais NMP/mL	<i>S.aureus</i> UFC/mL
C1	<3	15	4	10	4	40	<3	5
C2	<3	20	<3	50	9	35	<3	0
C3	<3	5	<3	0	<3	5	<3	0
C4	20	15	23	135	4	0	93	5
C5	<3	50	<3	20	4	0	<3	0
CE1	<3	5	<3	5	<3	10	3	25
CE2	<3	30	4	20	9	0	<3	35
CE3	<3	50	<3	40	4	60	<3	0
CE4	4	20	<3	5	<3	0	<3	65
CE5	<3	15	9	10	<3	65	<3	10

Tabela 1 – Resultados das análises de coliformes e *S. aureus* onde C refere-se as coletas das superfícies dos carrinhos seguido do numero da ordem coletada e CE as coletas das superfícies das cestas seguido do numero da ordem coletada.

Observa-se nos resultados que 35% das amostras estão contaminadas com coliformes totais, todas as amostras foram confirmadas com o caldo Verde Brilhante, porém apresentaram-se negativas ao teste com o Caldo E.C. que detecta a presença de coliformes termotolerantes. Destaca-se que, para a análise de coliformes totais, onde o resultado é <3 NMP/mL o resultado foi negativo para a amostra. Para *S. aureus*, 77,5% das amostras se mostraram contaminadas, todas foram submetidas ao teste de gram e ao teste Coagulase onde se mostraram positivas, confirmando a presença de bactérias do tipo *Staphylococcus aureus* em grande concentração.

Embora 35% das amostras estejam contaminadas por coliformes totais, sua baixa concentração não necessariamente representa risco a saúde, levando em consideração que não foi detectado a presença de coliformes termotolerantes. Já para a contaminação por *S. aureus*, em qual 77,5% das amostras mostraram-se contaminadas, deve-se considerar alto risco de contaminação, uma vez que essas bactérias são responsáveis por grande número de doenças e de fácil transmissão, transformando os carrinhos e cestas de supermercados em um meio transmissão em potencial, já que ao manuseá-los a pessoa pode se contaminar através dos olhos, da boca ou por qualquer lesão na pele, ou ainda servir de veículo para a bactéria se alojar em outra superfície ou outra pessoa.

Como o *S. aureus* é um micro-organismo presente nas mucosas e na pele humana e sua presença no hospedeiro não ocasiona lesões aparentes, o alto índice de contaminação encontrado nas análises é justificável. Cerca de um terço da população encontra-se com a bactéria como parte da flora natural o que torna o indivíduo fonte de infecção para outras pessoas e para si próprio (SALES; SILVA 2012).

Como sugestão para diminuir o risco de contaminação, cogita-se a possibilidade do supermercado disponibilizar, perto a área onde ficam os carrinhos e cestas, ao menos um frasco de álcool em gel para higienização das mãos e/ou da superfície de contato dos carrinhos e cestas. Sugere-se ainda um estudo mais aprofundado do

caso, analisando um maior tipo de micro-organismos com o fim de verificar a presença de outros patógenos.

8. CONCLUSÃO

Conclui-se que 35% das amostras apresentaram-se positivas para a presença de coliformes totais e 77,5% das amostras apresentaram-se positivas para *S. aureus*. Sendo assim, é necessária uma maior atenção quanto a possibilidade da transmissão de doenças pelos carrinhos e cestas de supermercados, é também interessante que uma maior variedade de micro-organismos seja analisada em trabalhos futuros.

REFERENCIAS

ALBERTS, Bruce; JOHNSON, Alexander; LEWIS, Julian; NELSON, David L.; COX, Michael M.; RAFF, Martin; **Biologia molecular da célula**. Traduzido por Anne D. Villela e colaboradores; Ed. 5; Editora Artmed; 1396 pgs; 2009.

ALVES, Wanderson Ferreira; **A formação de professores e as teorias do saber docente: contexto, dúvidas e desafios**; Revista Educação e Pesquisa, São Paulo; v. 33; nº 2; pgs 263-280; mai/ago; 2007.

AMABIS, José Mariano; MARTHO, Gilberto Rodrigues; **Biologia dos organismos**; Edição 2; Editora Moderna, 2005.

ARROIO, Agnaldo; **Louis Pasteur: um cientista humanista**, Revista Eletrônica de Ciências, n.31, Fevereiro, 2006.

BLACK, Jacquelyn G.; **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. 4. ed. Tradução de Eiler Fritsch Toros. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2002.

CABEEN, Matthew T.; JACOBS-WAGNER, Cristine; BacterialCellShape; **NatureReview/Microbiology**; Vol. 3; pgs 601-610; August; 2005.

CARVALHO, Irineide Teixeira de; **Microbiologia Básica**. e-Tec Brasil – Escola Técnica Aberta do Brasil. UFRP/CODAI. 2010.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente; **Resolução nº 357 do dia 17 de março de 2005**; Publicado no DOU nº 053, págs. 58-63. 18 de março de 2005.

COOPER, Geoffrey M.; HAUSMAN, Robert E.; **A Célula uma abordagem molecular**. Edição 3; 2007.

FARIAS, Cristiane Sampaio; BASAGLIA, Andréia Montani, ZIMMERMANN, Alberto; A importância das atividades experimentais no Ensino da Química; In: 1º Congresso Paranaense de Educação Em Química; 1; 2009; Londrina; **Anais do 1º Congresso Paranaense de Educação Em Química**; v. 1; Novembro; 2009 p. 41- 47.

FIDEMANN, Tiago; **VERIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM SALA DE ESPERA DE CONSULTÓRIOS MÉDICOS**. 2014. 66p. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial). Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA/Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis - IMESA.

HOITMAN. Isaac; TRAVASSOS, Luiz R.; Azevedo, João Lúcio; **Tratado de Microbiologia**, Volume 2, editora Manole, 1991.

JESUS, Cláudio José da Silva de; **Staphylococcus aureus: resistência a antibióticos**. Disponível em <http://www.minutobiomedicina.com.br/postagens/2015/02/21/staphylococcus-aureus-resistencia-a-antibioticos/> Acesso em : 17 de Maio de 2015.

KARAMANOU, M.; POULAKOU-REBELAKOU, E.; TZTIS, M.; ANDROUTSOS, G.; **Anton Van Leeuwenhoek (1632-1723): Father of micromorphology and discoverer of spermatozoa**. Revista Argentina de Microbiologia. V. 42. 2010. P. 311-314.

MATTIOLI, Daniele Ditzel; SAVIANI, Demerval; Pedagogia histórico-crítica: primeiras aproximações; **Práxis Educativa (Brasil)**; Campinas; v. 8; nº 1; pgs 319-324; 2011.

MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; PARKER, Jack; DUNLAP, Paul V.; CLARK, David P.; **Microbiologia de Brock**; Ed.12; Editora Artmed; 1160 pgs; São Paulo; 2010.

MARQUES, André L.; ALVES, Aline J. V.; SILVA, Ana Flávia G. M. da; MORAIS, Lorraine M.; GUIMARÃES, Pâmela G.; LIMA, Jocasta M.; RIBEIRO, Fernanda B.; SANTOS, Leidimar A. M.; MEDEIROS, Eliziane S.; FRANCO, Vânia A.; XIV Encontro Nacional de Ensino de Química; 14; 2008; Curitiba; **Anais do XIV Encontro Nacional de Ensino de Química**; v. 14; Julho; 2008.

MEDEIROS, A. S.; MORAIS, A. E. R.; LIMA, S. L. C.; REINALDO, S. M. A. S.; FERNANDES, P. R. N.; Importância das aulas práticas no Ensino da Química; IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN; 9; 2013; Currais Novos; **Anais do IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN**; v. 9 ; Julho; 2013; p. 1881-1886.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A.; **Microbiologia Médica**. 6. ed. Tradução de Carlos Pelleschi Taborda et al. Rio de Janeiro. Editora: Elsevier Ltda, 2010.

PARKER, Steve; **Caminho da Ciência: Pasteur e os Micro-organismos**; Editora Scipione, 1 de Janeiro, 1999.

PELCZAR JR, Michael Joseph; CHAN, E. C. S.; KRIEG, Noel R.; **Microbiologia: conceitos e aplicações**, volume I, 2ª ed. Tradução de Sueli Fumie Yamada, Tania Ueda Nakamura, Benedito Prado Dias Filho, São Paulo: Editora Makron books, 1996.

PINHEIRO, Pedro. ***Staphylococcus aureus*, quais os riscos desta bactéria?** Disponível em: < <http://www.mdsaude.com/2009/02/estafilococos-aureus-mrsa.html>> Acesso em 17 de Julho de 2015.

RIBEIRO, MariangelaCagnoni; SOARES, Maria Magali S. R.; **Microbiologia Prática Roteiro e Manual**; Ed. 1; 112 pgs; Editora Atheneu; 2000.

RUSSO, Eliza Maria Agueda; CARVALHO, Rubens Côrte Real de; LORENZO, José Luiz de; GARONE NETTO, Narciso; CARDOSO, Marcio Vivan; GROSSI, Eric; **Avaliação da intensidade de contaminação de pontas de Seringas Tríplice.** Pesqui.Odontol.Bras. V. 14, N. 3, Jul/Set; pag. 243-247. 2000.

SALES, Lais Monteiro; SILVA, Tatiane Mendes da; *Staphylococcus aureus* METICILINA RESISTENTE: UM DESAFIO PARA A SAÚDE PÚBLICA; **Acta Biomedica Brasiliensia**; V. 3; Nº 1; Junho; 2012.

SANTOS, André Luis dos; SANTOS, Dilvani Oliveira; FREITAS, Cícero Carlos de; FERREIRA, Bruno Leal Alves; AFONSO, Ilídio F.; RODRIGUES, Carlos Rangel; CASTRO, Helena C.; ***Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar.** Bras. Patol. Med. Lab. Vol 43; N. 6; pags 413-423; Dezembro; 2007.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIEVIRA, T. C. R. M.; **Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos.** Ciênc. Tecnol. Aliment, Campinas; Vol. 26; pag 352-259; Abr-Jun; 2006.

SILVA, Neusely da; NETO, Romeu Cantúcio; JUNQUEIRA, Valéria C.A; SILVEIRA, Neliane Ferraz de Arruda; **Manual de análise microbiológica de água.** 20 ed. Tradução Jairo Porfírio. São Paulo: Editora Varela Editora e Livraria LTDA, 2005.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L..**Microbiologia**, 8. ed. Tradução de Roberta Marchiori Martins. Porto Alegre. Editora Artmed, 2005.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L..**Microbiologia**, 10. ed. Tradução de Aristóboło Mendes da Silva. Porto Alegre. Editora Artmed, 2012.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio; MARTINEZ, Marina Baquerizo; CAMPOS, Leila Carvalho; GOMPERTZ, Olga Fischman; RÁCZ; Maria Lucia. **Microbiologia**, 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

VIEIRA, Mônica Aparecida Midolli; Ilhas de Patogenicidade; Artigo de Revisão, **O Mundo da Saúde**; Edição 33; pg 406-414; São Paulo; Abril; 2009.

WILEY, Joanne M.; SHERWOOD, Linda M.; WOOLVERTON, Christopher J.; **Prescott's principles of microbiology**, 1ª ed., Nova York: Editora The McGraw-Hill Companies, Inc, 2009.