

Identificação de *Staphylococcus* e Enterobactérias em Brinquedos de uma Creche em Mato Grosso, Brasil

Presence of *Staphylococcus* and Enterobacteriaceae in Toys at Day-Care Center in Mato Grosso, Brazil

Fabiana Cristina Furquim^{a*}; Loriane Tagliari Medina^b

^aHospital Municipal de Tangará da Serra, MT, Brasil.

^bUniversidade de Cuiabá, Curso de Farmácia, MT, Brasil.

*E-mail: fcfurquim@yahoo.com.br

Recebido: 16 de Junho de 2014; Aceito: 14 de Dezembro de 2014.

Resumo

Estudos apontam que crianças que frequentam creches tem maior probabilidade de adquirir e desenvolver infecções, sobretudo as de repetição, como as de ordem respiratória, gastrointestinal e cutânea. Considerando que em clínicas e hospitais já se observou a contaminação de brinquedos por microrganismos, a presente pesquisa objetivou verificar a presença de *Staphylococcus* e Enterobactérias em brinquedos compartilhados por crianças menores de 5 anos, em uma creche em Tangará da Serra-MT. Na creche municipal Tia Lina, foram coletadas 13 amostras em brinquedos, utilizando swabs de madeira esterilizados, que foram semeadas em ágar nutriente no próprio local. As colônias prevalentes foram isoladas em caldo nutriente e coradas pelo método de coloração de Gram. Os testes bioquímicos utilizados para identificar o bacilo Gram negativo (BGN) foram: Triplo Açúcar e Ferro (TSI), *Sulfeto-Indol-Motilidade* (SIM), *Voges Proskauer*, vermelho de metila, lisina, citrato, malonato e oxidase. Para os cocos Gram positivos (CGP), realizou-se os testes bioquímicos de catalase, oxidase, resistência a bacitracina, coagulase em tubo, DNase, *Voges Proskauer*, resistência à novobiocina e polimixina. Dentre as treze amostras/placas coletadas, onze apresentaram crescimento de colônias de CGP, dentre as quais, três foram identificadas como *Staphylococcus aureus*; três coagulase positivas sugestivas de *Staphylococcus schleiferi*; uma coagulase positiva sugestiva de *Staphylococcus intermedius*; e quatro *Staphylococcus epidermidis*. O BGN isolado em apenas uma amostra/placa caracteriza-se por não fermentar a glicose, não pertencendo assim à família Enterobacteriaceae e, por esse motivo, foi excluído da pesquisa. Os microrganismos encontrados fazem parte da microbiota podendo, no entanto, causar infecções, sobretudo em indivíduos susceptíveis.

Palavras-chave: Jogos e Brinquedos. Creches. *Staphylococcus*. Enterobacteriaceae.

Abstract

Studies have shown that children who attend Day-Care centers are more likely to acquire and develop infections, especially respiratory, gastrointestinal and cutaneous disorders. In clinics and hospitals, the toys contamination by microorganisms has been observed. This study aimed to investigate the presence of *Staphylococcus* and Enterobacteriaceae in toys shared by children under 5 years old in a Day-Care Center in Tangará da Serra - MT. At Tia Lina municipal Day-Care Center, 13 toy samples and water drinker samples were collected by using wooden swabs, sterilized and inoculated in agar nutrient. The prevalent colonies were isolated in nutrient broth and stained by the Gram stain method. Biochemical tests used to identify the Gram negative bacillus (BGN) were: Triple sugar iron (TSI) sulfide-Indol-motility (YES), *Voges Proskauer*, methyl red, lysine, citrate, malonate and oxidase. The Gram-positive cocci (GPC) were identified by biochemical catalase tests, oxidase, bacitracin resistance in tube coagulase, DNase, *Voges Proskauer*, novobiocin and polymyxin resistance. Among the 13 samples collected, 11 exhibited CGP colonies, of which 3 were identified as *Staphylococcus aureus*; 3 coagulase positive suggestive of *Staphylococcus schleiferi*; one coagulase positive suggestive of *Staphylococcus intermedius*; 4 *Staphylococcus epidermidis*. Once the BGN sample did not metabolize glucose, it did not belong to the Enterobacteriaceae Family, and therefore, was excluded from the search. Despite the microorganisms found are part of the microbiota, they may cause infection, particularly in susceptible individuals.

Keywords: Play and Playthings. Child Day Care Centers. *Staphylococcus*. Enterobacteriaceae.

1 Introdução

Nas últimas décadas, a conquista da mulher no mercado de trabalho foi responsável pela expansão das creches, o que resultou num aumento significativo do número de crianças atendidas em idade pré-escolar^{1,2}. No entanto, crianças que frequentam as creches têm maior probabilidade de adquirir e desenvolver infecções, sobretudo as de repetição, como as de ordem respiratória, gastrointestinal e cutânea³⁻⁶.

Ademais, o corpo humano é colonizado por uma numerosa e diversificada população de microrganismos. Essa microbiota pode ser responsável por infecções, quando se

dissemina para outros locais do corpo, onde a doença pode ser estabelecida⁷. Ou seja, caso as barreiras naturais como a pele ou mucosas estejam comprometidas por trauma ou cirurgia, o microrganismo pode se alojar no tecido e provocar uma lesão local⁸. Além disso, microrganismos da microbiota anfibiônica podem ser transferidos de um indivíduo suscetível para outro, por contato direto ou por fômites (por exemplo, roupas, ou roupas de cama contaminadas)⁹. Pelo fato de microrganismos poderem se multiplicar e sobreviver em uma ampla gama de reservatórios e a partir destes serem transferidos para um novo hospedeiro¹⁰, fômites são considerados um dos principais

transmissores de patógenos¹¹.

Algumas pesquisas identificaram em clínicas e hospitais a contaminação de brinquedos infantis por microrganismos e a ocorrência de infecções veiculadas por estes artigos¹¹, porém pouca atenção é dada aos brinquedos compartilhados em creches e as possíveis infecções transmitidas.

O gênero *Staphylococcus* é amplamente distribuído na natureza⁷. Normalmente compõe a microbiota anfiótica da pele íntegra e das mucosas de mamíferos e aves¹². No homem, *Staphylococcus coagulase negativa* são encontrados sobre a pele e *Staphylococcus aureus* faz parte da microbiota transitória, principalmente nas dobras cutâneas úmidas. A orofaringe e os tratos gastrintestinal e urogenital também podem abrigar ambos os microrganismos⁷. O gênero engloba importantes microrganismos patogênicos que podem causar doenças como: furúnculos, carbúnculos, infecções de feridas, celulite, impetigo, bacteremia, endocardite, abscesso cerebral, meningite (raro), abscesso epidural, infecções pulmonares embólicas e por aspiração, osteomielite, artrite, carbúnculo renal, infecções das vias urinárias inferiores, síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada, intoxicação alimentar, entre outras doenças¹³.

O *Staphylococcus aureus* é o segundo microrganismo causador de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, devido à sua capacidade de produção de enterotoxinas, sendo a Enterotoxina-A a mais frequente¹⁴. Pelo fato de ser colonizador frequente da pele e membranas mucosas, pode facilmente se infiltrar na cadeia de alimentos, possuindo alta transmissibilidade entre pessoas, animais e alimentos¹⁵.

O *Staphylococcus aureus* é também considerado uma das causas mais comuns de infecções nosocomiais, assim como de infecções comunitárias, as quais podem apresentar elevados índices de morbidade e mortalidade¹⁶, devido aos fatores de virulência ou através da resistência aos antimicrobianos atualmente utilizados¹⁷. São sensíveis a altas temperaturas, desinfetantes e soluções antissépticas. Todavia, sobrevivem em superfícies secas por longos períodos⁷.

Na comunidade, cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina foram encontradas em indivíduos sem qualquer relato de infecção ou colonização, nem de admissão em hospitais, cirurgias, diálise ou catéteres¹⁸.

O relatório da Organização Mundial de Saúde, publicado em 2014, alerta que a resistência antimicrobiana ameaça a prevenção e tratamento eficaz de um número cada vez maior de infecções causadas por bactérias, parasitas, vírus e fungos. Segundo dados do relatório, em alguns ambientes, até 90% das infecções por *Staphylococcus aureus* são resistentes à metilicina, o que significa que o tratamento com antibióticos convencionais não funcionam¹⁹. Também existe nas Américas uma elevada resistência de *Escherichia coli* às cefalosporinas de terceira geração e fluorquinolonas. A resistência de *Klebsiella pneumoniae* à cefalosporinas de terceira geração, também é elevada e generalizada.

Os membros da família Enterobacteriaceae que podem fazer parte ou não da flora normal do intestino, podem causar doenças como: diarreia, infecção das vias urinárias e das vias respiratórias, seps e meningite. São transmitidos via fecal-oral, ou através de veículos como fezes, alimentos, líquidos, dedos, moscas, fômites e copulação²⁰.

O gênero *Shigella* e a *Escherichia coli* O 157:H7 são relatados em infecções em creches, transmitidas de pessoa a pessoa²¹. O risco de diarreia entre crianças de creches é 2,5 vezes maior do que nas crianças que não frequentam creches²².

As infecções mais comuns causadas pelo gênero *Salmonella* são a gastroenterite e a febre tifoide. Os doentes ou portadores podem contaminar, através das fezes, o ambiente, a água potável e os alimentos²³.

Um estudo do perfil epidemiológico de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil no período de 1998 a 2011 demonstrou que e as enterobactérias do gênero *Salmonella* foram os agentes mais frequentes envolvidos nestes surtos seguidos pelo *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*²⁴.

Além do mais, o surgimento de enterobactérias resistentes aos carbapenens (CRE), causadoras de infecções hospitalares, representam grandes desafios para o tratamento²⁵.

A transmissão de microrganismos ao indivíduo suscetível pode ocorrer, dentre outros mecanismos, pelo compartilhamento de brinquedos contaminados com secreções. Por isso, recomenda-se que brinquedos utilizados por bebês e crianças pequenas não sejam compartilhados, especialmente aqueles pequenos o suficiente para que as crianças os coloquem na boca¹¹.

Diante do valor socioeconômico das creches, do elevado número de crianças que passam cada vez mais tempo nessas instituições, do aumento do risco e frequência de contraírem ou desenvolvem infecções, assim como o aparecimento de microrganismos resistentes à antimicrobianos, inclusive em infecções comunitárias, pesquisou-se a presença de cocos Gram positivos e bacilos Gram negativos pertencentes ao grupo das enterobactérias potencialmente veiculados através dos brinquedos em uma creche do município de Tangará da Serra-MT.

2 Material e Métodos

A pesquisa foi realizada em uma creche do município de Tangará da Serra – MT. As turmas são organizadas conforme a idade das crianças em: Maternal I (crianças de 1 à 2 anos), Maternal II (crianças de 2 a 3 anos), Maternal III (crianças de 3 a 4 anos) e Pré I (crianças de 4 a 5 anos).

Foram coletadas 13 amostras no final de um dia letivo, selecionando-se os brinquedos mais utilizados pelas crianças de cada turma.

As amostras foram coletadas com *swabs* de madeira esterilizados e semeadas em ágar nutriente no próprio local. Após incubação em estufa microbiológica a 37 °C, durante 24 horas, realizou-se a contagem das colônias em contador de

colônias, expressando-se o resultado em unidades formadoras de colônia/amostra (UFC/amostra).

Em cada placa, as colônias com características morfológicas prevalentes foram isoladas em caldo nutriente, e submetidas à identificação morfológica e bioquímica, conforme descritas no Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde da Agência Nacional de Vigilância Sanitária¹⁷.

Para o estudo morfológico utilizou-se a coloração de Gram. Os cocos Gram positivos foram semeados em Ágar Sangue, onde se verificou a atividade hemolítica e procederam-se os testes bioquímicos de identificação para estafilococos: catalase, oxidase, resistência a bacitracina, coagulase em tubo, DNase, Voges Proskauer, resistência à novobiocina e polimixina. O bacilo Gram negativo foi semeado em Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB Ágar) e Ágar MacConkey, realizando-se os seguintes testes bioquímicos de identificação para enterobactérias: Triplo Açúcar e Ferro (TSI), *Sulfeto-Indol-Motilidade* (SIM), *Voges-Proskauer* (VP), vermelho de metila, lisina, citrato, malonato e oxidase¹⁷.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste *D'Agostino & Pearson omnibus normality*, do software GraphPad Prism 5.0, para a verificação da normalidade.

O risco de doenças infecciosas entre crianças de creche depende em parte das características da criança, como idade, sexo, estado imunológico e o ingresso recente em uma nova instituição, bem como as características da instituição²⁶. O hábito de levar constantemente objetos à boca, que é mais acentuado até o segundo ano de vida, é outro fator preponderante à aquisição de doenças infecciosas. Neste contexto, uma entrevista foi realizada com a diretora da creche para caracterização da população atendida (número, faixa etária, período de tempo em que permanecem na instituição) e verificação dos procedimentos de limpeza e desinfecção dos brinquedos.

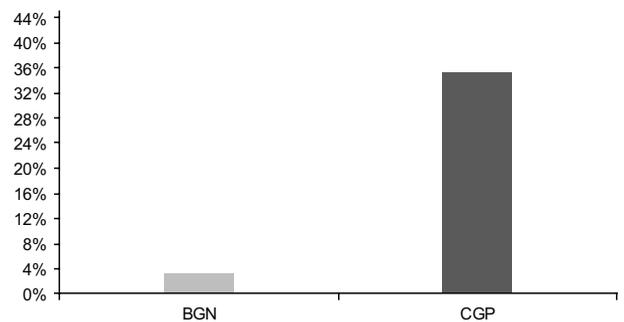
O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIC/HGU em 26/03/2010, protocolo nº2010-031, registro nº038 CEP/UNIC.

3 Resultados e Discussão

As colônias bacterianas visíveis no Ágar nutriente foram contadas em contador de colônias, sendo consideradas para isolamento em caldo nutriente, as colônias com características morfológicas prevalentes.

Das treze amostras/placas coletadas na creche, isolou-se 31 colônias (Figura 1) que, ao exame microscópico, foram classificadas, segundo as características morfológicas e tintoriais, em: 13 colônias (41,9%) bacilos Gram positivos (BGP); 1 colônia (3,2%) bacilo Gram negativo (BGN); 11 colônias (35,5%) cocos Gram positivos (CGP); e 6 colônias (19,4%) cocos Gram negativos (CGN).

Figura 1: Colônias isoladas dos brinquedos



Fonte: Dados da pesquisa.

As onze colônias de CGP foram positivas para a produção de catalase. A positividade no teste da catalase sugere a possibilidade de cepas do gênero *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Planococcus*, *Stomatococcus*, entre outras. No teste da bacitracina, todas as colônias apresentaram resistência ao antibiótico, o que demonstra pertencerem ao gênero *Staphylococcus* (Quadro 1).

Quadro 1: Microrganismos identificados nos brinquedos

Amostra	Turma	Espécie
Amostra 3	Maternal I	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
Amostra 4	Maternal I	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Amostra 4	Maternal I	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
Amostra 4	Maternal I	<i>Staphylococcus aureus</i>
Amostra 8	Maternal II	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
Amostra 8	Maternal II	<i>Staphylococcus aureus</i>
Amostra 8	Maternal II	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Amostra 9	Maternal II	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Amostra 10	Maternal III	<i>Staphylococcus intermedius</i>
Amostra 11	Pré I	<i>Staphylococcus aureus</i>
Amostra 12	Pré-I	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Amostra 13	Pré-I	BGN

Fonte: Dados da pesquisa.

Destas 11 colônias, quatro foram negativas na prova da coagulase em tubo, sendo também negativas para a presença da enzima DNase. No teste de resistência à novobiocina todas apresentaram halo maior de 16mm, sendo, portanto, sensíveis ao antibiótico e, conseqüentemente, identificadas como *Staphylococcus epidermidis*. Uma dessas amostras foi coletada no Maternal I, outra do Pré-I e duas do Maternal II.

Dentre as sete colônias positivas no teste da coagulase em tubo, três demonstraram a presença da enzima DNase, pela formação de halo transparente ao redor das colônias, o que indica a despolimerização do DNA presente no meio pelas cepas. Esse teste identifica as três colônias como *Staphylococcus aureus*, as quais foram coletadas em brinquedos das salas do Maternal I e II e Pré I.

Para as quatro colônias coagulase positivas e DNase negativas, realizou-se o teste de *Voges Proskauer*, onde três

apresentaram coloração avermelhada e cuja positividade sugere a espécie *Staphylococcus schleiferi*. Duas colônias foram coletadas no Maternal I e uma no Maternal II. A colônia negativa na prova de *Voges Proskauer*, coletada no Maternal III, apresentou sensibilidade ao antibiótico polimixina, o que é sugestivo de *Staphylococcus intermedius*.

Considerando $\alpha=0,05$, o gênero *Staphylococcus* apresentou distribuição normal no teste de normalidade *D'Agostino & Pearson omnibus normality* com p-valor de 0.7001. O desvio padrão foi de 1.068.

O bacilo Gram negativo (Quadro 1), na prova TSI (Triplíce Açúcar Ferro), apresentou ápice e base alcalinas (coloração avermelhada) o que evidencia a degradação oxidativa da glicose. Não houve formação de gás (CO_2 e H_2), nem precipitação de sais de ferro, em razão de formação de gás sulfídrico. No teste da oxidase, o aparecimento de coloração roxa imediata na fita indica positividade. Portanto, a não fermentação da glicose e a presença da enzima citocromo oxidase, exclui o BGN da família Enterobacteriaceae.

O gênero *Staphylococcus* consiste de 35 espécies e 17 subespécies. A importância para os seres humanos consiste no amplo espectro de doenças que ameaçam a vida, como doenças de pele, tecidos moles, ossos, trato urinário, além de infecções oportunistas⁷. Pode ser dividido em dois grupos: coagulase positiva (*S. aureus* e *S. lugdunensis*; *S. schleiferi*; *S. intermedius*, *S. delphini*) e coagulase negativa (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii* entre outros)²⁶.

Staphylococcus epidermidis foi isolado em amostras do Maternal I, Maternal II e Pré-I, ou seja, em brinquedos compartilhados por crianças de diferentes faixas etárias. É a espécie coagulase negativa predominante na microbiota normal da pele e mucosas e que mais frequentemente causa infecções²⁸.

As infecções por *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus haemolyticus* estão associadas, principalmente, à produção de biofilme. Os fatores de virulência de maior frequência do *S. epidermidis* são a produção de toxinas e biofilme, enquanto *S. haemolyticus* se destaca pela maior resistência e redução da suscetibilidade antimicrobiana que fazem com que esses microrganismos obtenham sucesso como agentes oportunistas²⁹.

Uma pesquisa realizada na brinquedoteca de um hospital filantrópico no interior do estado de São Paulo, em 10 brinquedos de plástico duro, encontrou as seguintes espécies do gênero *Staphylococcus*: *Staphylococcus warneri* (17,4%), *S. haemolyticus* (10,0%) e *S. xylosus* (6,0%) *S. urealyticum* (2,4%), *S. hominis* (1,6%), *S. epidermidis* (0,8%) e *S. intermedius* (0,8%)³⁰.

Nesse estudo, houve predominância de espécies coagulase negativa, as quais compõem a microbiota de seres humanos, assim como de outros mamíferos e algumas aves³¹. Nenhuma espécie coagulase positiva foi isolada.

Já nos estudos abaixo citados, verifica-se a presença de espécies coagulase positiva em brinquedos, todavia, também há predominância de espécies coagulase negativa.

Davis *et al.* verificando a contaminação bacteriana em piscina de bolinhas de restaurantes, encontrou 24,3% de *Staphylococcus epidermidis* e 21,6% de *Staphylococcus aureus* (média das três piscinas estudadas)³². Em um Hospital Pediátrico de San Jose, Costa Rica, 78% dos brinquedos analisados foram positivos para *Staphylococcus* coagulase negativa e 18% para *S. aureus*³³.

Em pesquisa desenvolvida na brinquedoteca da clínica de pediatria do Hospital Universitário de Taubaté, São Paulo, o gênero *Staphylococcus* estava presente em 87% (52/60) dos brinquedos analisados. Foram isoladas 73 cepas, sendo 29% (21/73) de *Staphylococcus* coagulase positiva e 71% (52/73) de *Staphylococcus* coagulase negativa. Além de mais prevalente nos brinquedos, os *Staphylococcus* coagulase negativa apresentaram maior resistência aos antibióticos testados, quando comparados ao *Staphylococcus* coagulase positiva³⁴.

Esses dados, assim como os da presente pesquisa, indicam que o gênero *Staphylococcus* é um dos mais prevalentes em brinquedos. Além disso, como em outros estudos, espécies coagulase negativa foram mais frequentemente isoladas, o que nos leva a questionar se a capacidade de produção de biofilmes de certas espécies poderia ser responsável por tais achados.

O *Staphylococcus aureus* foi isolado em brinquedos do Maternal I, Maternal II e Pré-I. É considerado a causa mais comum de lesões cutâneas nas mãos, uma vez que ao habitar as fossas nasais, podem contaminar as mãos. Além disso, a ingestão de enterotoxina produzida por *S. aureus* é uma das principais causas de gastroenterite³⁶.

Tendo em vista a participação dos manipuladores de alimentos na cadeia epidemiológica das toxinfecções alimentares, uma pesquisa realizada em quatro das cinco escolas públicas estaduais de Pirenópolis-GO, durante o mês de março de 2010, verificou através de coletas de amostras das mãos, que dos 10 manipuladores das quatro escolas analisadas, sete (70%) eram portadores de *Staphylococcus aureus*. Todas as escolas tiveram manipuladores positivos para *S. aureus*³⁶.

Os *Staphylococcus* podem ser transferidos para superfícies de contato com alimentos, pelos manipuladores de alimentos, ao espirrarem e tossirem sobre as superfícies e/ou por não higienizarem as mãos de forma adequada. Entretanto, os equipamentos e as superfícies também veicular *S. aureus*³⁸.

Em relação a *S. schleiferi*, sua presença foi constatada no meio externo e em áreas internas hospitalares³⁹. Presente em brinquedos do Maternal I e Maternal II, é membro da microbiota normal da pele e mucosas, podendo causar infecções oportunistas, geralmente hospitalares, em órgãos e tecidos²⁸.

S. intermedius faz parte da microbiota de cães, bisões, cavalos e gatos, podendo, no entanto, causar infecções em

humanos²⁷. Uma colônia foi isolada em um brinquedo do Maternal III, e como a pesquisa foi realizada em uma creche, existe a possibilidade das crianças e/ou dos profissionais que lá trabalham terem contato com animais domésticos como cães e gatos, e devido à má higienização das mãos, poderiam disseminar dessas bactérias para os brinquedos e/ou outras crianças.

As espécies *Staphylococcus schleiferi* e *Staphylococcus intermedius* também foram isoladas em brinquedos de uma brinquedoteca da unidade pediátrica hospitalar de Taubaté, São Paulo. Embora sejam mais comumente considerados patógenos de animais, podem causar infecções em seres humanos. O *Staphylococcus intermedius* também está associado à intoxicações alimentares³⁴.

A origem dessas espécies, frequentemente encontradas em animais domésticos, como cães e gatos, e presente em brinquedos de brinquedotecas hospitalares foi questionada em outro estudo. A autora indagou se os brinquedos seriam contaminados por crianças expostas à animais anteriormente à internação ou se houvera visita terapêutica desses animais no hospital. Todavia, apenas estudos moleculares poderiam atestar a origem dessas cepas⁴⁰.

Apenas uma colônia de BGN foi encontrada em um brinquedo no Pré I (crianças de 4-5 anos). Como se trata de um bacilo não fermentador, não pertence à família Enterobacteriaceae. Avila-Aguero *et al.*³³ também não isolaram nenhuma enterobactéria em sua pesquisa, identificando apenas os gêneros *Pseudomonas sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Streptococcus sp.* e *Bacillus sp.*

Na brinquedoteca do hospital filantrópico no interior do estado de São Paulo, anteriormente citada, também foram encontradas duas espécies de bacilos Gram negativos: *Enterobacter cloacae* (4,1%) e *Enterobacter sakazakii* (1,6%). Ambas são geralmente encontradas no intestino humano, demonstrando a possibilidade de contaminação dos brinquedos pelas mãos dos pacientes³⁰.

Davis *et al.*³² relataram a presença de *Serratia macerans*, *Escherichia coli*, *Yersinia sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Streptococcus sp.*, entre outros.

Em um Centro de Educação Infantil no município de São Paulo verificou-se contagem microbiana significativa de aeróbios mesófilos em brinquedos, inclusive naqueles que foram lavados e desinfetados por uma auxiliar de enfermagem. Apenas um brinquedo não apresentou crescimento microbiano após a higienização⁴¹, o que demonstra a inadequação dos procedimentos adotados.

Conforme entrevista realizada com a diretora da creche, verificou-se que estão matriculadas 155 crianças, das quais 20 possuem idade de 1-2 anos; 20 de 2-3 anos; 20 de 3-4 anos; e 95 de 4-5 anos. Muitas delas (60 crianças) permanecem na instituição em tempo integral, sendo estas com idade até 4 anos; 47 ficam das 7:00 às 11:00h e 48 das 13:00 às 17:00h.

Durante a coleta das amostras na creche, observou-se crianças com brinquedos na boca, a maioria deles com sinais de mordida, sendo guardados sem posterior higienização.

Os brinquedos são lavados três vezes ao ano com “sabão de álcool” (sabão produzido artesanalmente) em um tanque comum e colocados para secar em varal ao ar livre. Para a produção do sabão, os funcionários utilizam quinhentas gramas de hidróxido de sódio, três litros de óleo, dois litros de etanol e vinte litros de água. Os brinquedos de pelúcia recebem enxágue com amaciante, que é diluído conforme orientações do fabricante. Outros ficam de molho por alguns minutos em água com hipoclorito de sódio, ou seja, são adicionados cerca de 150 mL de hipoclorito de sódio na concentração de 2% em 30 litros de água. Álcool 96°GL, sem nenhum tipo de diluição, é utilizado para a desinfecção dos não laváveis.

Segundo a diretora da instituição, todos esses procedimentos são realizados sem nenhum tipo de padronização ou protocolo, e o sabão produzido não é testado ou aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ou outro órgão.

Os brinquedos presentes em cada sala são selecionados pelos funcionários da instituição, utilizando-se os seguintes critérios: idade das crianças, tamanho das peças e dureza, sendo que para as crianças de até três anos são oferecidos livros de pano, brinquedos de pelúcia e outros de materiais flexíveis.

Os procedimentos de limpeza, desinfecção e seleção dos brinquedos adotados são inadequados, possivelmente devido à falta de orientações sobre o assunto. Além disso, não existem protocolos específicos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ou outro órgão, para a limpeza e/ou desinfecção de brinquedos, até mesmo em ambientes hospitalares.

Um estudo realizado em 2013, em 51 creches de 15 municípios do Estado de São Paulo, verificou a utilização de brinquedos de plástico e de tecido em 100% das instituições municipais e conveniadas, seguidos de brinquedos de madeira em 85,4% das municipais e 80,0% das conveniadas. Todavia, com relação à periodicidade dos procedimentos de higienização dos brinquedos, 40,0% das instituições conveniadas e 22,0% das municipais declararam higienizá-los uma vez por semana e 14,6% das municipais declararam não realizar o procedimento⁴².

Em brinquedotecas hospitalares, constatou-se que brinquedos podem apresentar contaminação por bactérias potencialmente patogênicas com resistência aos antimicrobianos, o que representa uma possível fonte de infecção hospitalar para pacientes normalmente já debilitados³⁴.

Um estudo submeteu brinquedos de pano à vários processos de desinfecção hospitalar, após a contaminação com diferentes microrganismos da microbiota humana: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida krusei*. A avaliação microbiológica após as lavagens demonstrou uma remoção ineficaz dos

microrganismos inoculados, o que demonstrou a necessidade de se estabelecer protocolos de lavagens mais específicos para os brinquedos de panos de acordo com a sujidade e tipo de tecido utilizado na confecção dos mesmos⁴³.

O *California Child Care Health Program*⁴⁴ recomenda que bebês e crianças pequenas não compartilhem brinquedos. E que os brinquedos levados à boca pelas crianças sejam lavados e desinfetados entre os usos. Para lavar e desinfetar um brinquedo de plástico rígido, o programa sugere que o brinquedo seja esfregado em água morna e sabão, e que se utilize um pincel para alcançar as fendas. Após lavar em água limpa, o brinquedo deverá ser colocado em solução de água sanitária e deixado de molho na solução por 10-20 minutos. Posteriormente, o brinquedo deverá ser removido da solução aquosa e lavado em água fria; crianças que usam fraldas devem ter apenas brinquedos laváveis; brinquedos e equipamentos utilizados por crianças mais velhas e não levados à boca devem ser limpos semanalmente ou quando sujos, com água e sabão. Nenhuma desinfecção é necessária, segundo o órgão.

No Brasil, o Referencial Curricular Nacional para a Educação Infantil⁴⁵ assinala a necessidade de segurança, do ponto de vista químico e físico dos brinquedos, tintas e lápis. Também ressalta que os procedimentos de limpeza do ambiente e objetos devem ser executados por pessoal treinado e com produtos adequados. Produtos de limpeza devem ser diluídos e aplicados de acordo com sua finalidade, sempre seguindo as recomendações de segurança, ou seja, a limpeza não deve ser realizada com crianças presentes no ambiente, para evitar quedas e inalação de produtos como sabão, água sanitária, amoníaco e outros. Todavia, o documento não especifica/padroniza nenhum tipo de produto de limpeza a ser utilizado, nem mesmo normatiza os procedimentos.

A maioria dos estudos realizados em creches no Brasil relata a falta de orientações e higiene adequada no cuidado infantil, relacionados à manipulação dos alimentos.

Um estudo realizado em cinco creches no Município de São Paulo revelou que 100% dos manipuladores de alimentos apresentaram inadequação na higiene das mãos (técnica) e 87,5% quanto às práticas sanitárias durante a manipulação dos alimentos⁴⁶.

Assim como os manipuladores de alimentos, os profissionais da educação também poderiam constituir uma fonte potencial de infecção, principalmente para as crianças menores e que usam fraldas, ao manusear os brinquedos, se as mãos não estiverem devidamente higienizadas?

Considerando que foram registrados nestas instituições surtos infecciosos, por diferentes tipos de microrganismos e diferentes veículos de disseminação, como mãos, brinquedos, fraldas, água e mamadeiras⁴², é necessário o comprometimento de funcionários, a orientação dos pais e o envolvimento de profissionais e administradores de saúde para o desenvolvimento de programas de prevenção e controle de infecções em creches⁴⁷.

4 Conclusão

Os microrganismos identificados fazem parte da microbiota normal humana e não humana, podendo, no entanto, causar infecções, sobretudo em indivíduos susceptíveis. Uma vez que as creches alojam crianças que não possuem o sistema imunológico completamente desenvolvido, as infecções causadas por bactérias oportunistas podem evoluir para quadros graves de infecção. Considerando que a avaliação microbiológica de brinquedos de pano submetidos à vários processos de desinfecção hospitalar, após a sua contaminação com diferentes microrganismos da microbiota humana, demonstrou remoção ineficaz dos microrganismos inoculados após a lavagem, os órgãos competentes deveriam estabelecer protocolos para a limpeza e desinfecção de brinquedos compartilhados por crianças, assim como instituir um rigoroso processo de seleção destes, que considere o tipo de material utilizado na fabricação do brinquedo e a faixa etária das crianças.

No Brasil, poucos estudos envolvendo brinquedos foram realizados, geralmente em ambiente hospitalar. As pesquisas em creches sobre as doenças transmissíveis, na maioria das vezes, não os avaliam como potenciais transmissores de patógenos.

Desse modo, novos estudos são necessários para uma avaliação mais precisa da importância clínica da colonização bacteriana em brinquedos compartilhados por crianças que frequentam creches, tendo em vista o aparecimento de microrganismos potencialmente patogênicos, com resistência a antimicrobianos, e causadores de infecções comunitárias. Além disso, a realização de estudos moleculares poderia constatar a origem das cepas encontradas, uma vez que muitas fazem parte da flora de seres humanos e animais.

Referências

1. Vieira FMJ, Figueiredo CR, Soares MC, Weckx LY, Santos O, Magalhães G, *et al.* Prevalência de *Streptococcus pyogenes* em orofaringe de crianças que frequentam creches: estudo comparativo entre diferentes regiões do país. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(5):587-91.
2. Konstantyner T, Taddei JAAC, Palma D. Fatores de risco de anemia em lactentes matriculados em creches públicas ou filantrópicas de São Paulo. *Rev Nutr* 2007;20(4):349-3.
3. Vico ESR, Laurenti R. Mortalidade de crianças usuárias de creches no Município de São Paulo. *Rev Saúde Pública* 2004;38(1):38-44.
4. Pedraza DF, Queiroz D, Sales MC. Doenças infecciosas em crianças pré-escolares brasileiras assistidas em creches. *Ciênc Saúde Coletiva* 2014;19(2):511-28.
5. Baldacil ER, Vico ESR. Mortalidade por varicela em crianças atendidas em creche. *Pediatria (São Paulo)* 2001;23(3):213-6.
6. Lopes CRC, Berezin EN. Fatores de risco e proteção à infecção respiratória aguda em lactentes. *Rev Saúde Pública* 2009;43(6):1030-4.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Microbiologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

8. Menezes HD, Ramos LMMC, Pamenzoni P, Barbaresco VB, Rocha MLP. Perfil de sensibilidade dos *Staphylococcus aureus* isolados de vários materiais biológicos. *NewsLab* 2010;99:122-8.
9. Rodrigues APC, Nishi CYM, Guimarães ATB. Levantamento de bactérias, fungos e formas de resistência de parasitos em duas rotas de ônibus do transporte coletivo de Curitiba, Paraná. *Rev Unicen Biol Saúde* 2006;2(2):24-31.
10. Butz AM, Fosarelli P, Dick J, Cusack T, Yolken R. Prevalence of rotavirus on high-risk fomites in day-care facilities pediatrics. *Pediatrics* 1993;92(2):202-5.
11. Cardoso MFS. A higienização dos brinquedos no ambiente hospitalar. In: Viegas D. *Brinquedoteca hospitalar: isto é humanização*. Rio de Janeiro: WAP; 2007.
12. Griffeth GC, Morris DO, Abraham JL, Shofer FS, Rankin SC. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs healthy and inflamed skin. *Vet Dermat* 2008;19(3):142-9.
13. Tally FP, Barg NL. Estafilococos: abscessos e outras doenças. In: Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BI, Medoff G. *Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.120-7.
14. Miranda GB, Rossi EM, Bertolini C. Detecção do gene SEA em *Staphylococcus aureus* isolados de produtos lácteos. *Rev Sem Inic Cient Sem Int. Ensino Pesq Extensão* 2014;4(1).
15. Baptista LG. Pesquisa do cluster de imuno evasão e tipagem molecular em *Staphylococcus aureus* metilina-sensíveis (MSSA), isolados de manipuladores de alimentos. 2014. 44 f. Dissertação [Mestrado em Biociências] - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2014.
16. Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, d'Azevedo PA. *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina: disseminação emergente na comunidade. *An Bras Dermatol* 2009;84(5):501-6.
17. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica*. Brasília; 2013.
18. Menegotto FR, Picoli SU. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. *Rev Bras Anal Clin* 2007;39(2):147-50.
19. WHO - World Health Organization. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. Geneva: WHO; 2014.
20. Keusch GT, Acheson DWK. Bactérias entéricas: diarreia "secretória" (aquosa). In: Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BI, Medoff G. *Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.157-64.
21. Keusch GT, Acheson DWK. Patógenos bacterianos entéricos invasivos e causadores de dano tecidual: diarreia sangüinolenta e disenteria. In: Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BI, Medoff G. *Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.165-76.
22. Barros H, Lunet N. Association between child-care and acute diarrhea: a study in Portuguese children. *Rev Saúde Pública* 2003;37(5):603-8.
23. Ferreira EO, Campos LC. Salmonella. In: Trabulsi LR, Alterthum F. *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu; 2008. p.329-38.
24. Garcia DP, Duarte DA. Perfil epidemiológico de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Brasil. *Rev Eletr Acervo Saúde* 2014;6(1):545-54.
25. Safdar N, Anderson DJ, Braun BI, Carling, Cohen S, et al. The evolving landscape of healthcare-associated infections: recent advances in prevention and a road map for research. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2014;35(5):480-93.
26. Holmes SJ, Morrow AL, Pickering LK. Child-care practices: effects of social change on the epidemiology of infectious diseases and antibiotic resistance. *Rev Epidemiol* 1996;18(1):10-28.
27. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Junior WC. *Diagnóstico microbiológico*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
28. Bueris V, Moreira CG, Teixeira LM, Santos KRN, Trabulsi LR. *Staphylococcus epidermidis* e outras espécies de *Staphylococcus*, *Micrococcus* e *Rothia (Somatococcus)*. In: Trabulsi LR, Alterthum F. *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu; 2005. p.183-7.
29. Pinheiro, L. *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus haemolyticus*: detecção de genes de biofilme, toxinas, resistência a antimicrobianos e tipagem clonal em isolados de hemoculturas. 2014. 113f. Dissertação [Mestrado em Biociências] - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2014.
30. Freitas APB, Silva MCF, Carvalho TC, Pedigone MAM, Martins CHG. Brinquedos em uma brinquedoteca: um perigo real? *Rev Bras Anal Clin* 2007;39(4):291-4.
31. Nagase N, Sasaki A, Yamashita K, Shimizu A, Wakita Y, Kitai S, et al. Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *J Vet Med Sci* 2002;64(3):245-50.
32. Davis SG, Corbitt AM, Everton VM, Grano CA, Kiefner PA, Wilson AS, et al. Are ball pits the playground for potentially harmful bacteria? *Pediatric Nurs* 1999;25(2):151-5.
33. Avila-Aguero ML, German G, Paris MM, Herrera JF. Toys in a pediatric hospital: are they a bacterial source? *Am J Infect Control* 2004;32(5):287-90.
34. Boretti VS, Corrêa RN, Santos SSF, Leão MVP, Gonçalves e Silva CR. Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* isolados de brinquedos de brinquedoteca de um hospital de ensino. *Rev Paul Pediatr* 2014;32(3):151-6.
35. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. Porto Alegre: Artmed; 2005.
36. Santos NM, Souza KMC. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos de escolas públicas de Pirenópolis-GO. *Rev Bras Pesq Aliment* 2013;4(1):35-40.
37. Iwamura, LCT. Avaliação da qualidade das práticas de higiene em restaurantes de uma universidade pública. 111 f. Dissertação [Mestrado em Segurança Alimentar e Nutricional] - Universidade Federal do Paraná; 2014.
38. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Morbidity and Mortality weekly report*. 2013 [acesso em 20 jan 2014]. Disponível em http://www.cdc.gov/mmwr/mmwr_wk/wk_cvol.html.
39. Pereira RG, Reis D, Ambrósio Junior GN, Raddi MSG, Pedigone MAM, Martins CHG. Bioaerossóis bacterianos em um hospital. *Rev. Ciênc Farm Básica Apl* 2005;26(1):77-81.
40. Ramos SRTS. Brinquedos em brinquedotecas como uma fonte de microrganismos patogênicos para as infecções

- hospitalares. Rev Paul Pediatr 2014;32(3):149-50.
41. Correa FR, Maranhão DG. Contagem de microrganismos aeróbicos mesófilos totais em amostras de brinquedos manipulados por crianças usuárias de creche. In: Anais do 3º Congresso Brasileiro de Enfermagem Pediátrica e Neonatal e do 16º Encontro Catarinense de Enfermagem Pediátrica; 2009.
42. Simão EPC, Padovani CR, Zornoff DCM, Corrêa I. Brinquedos e sua higienização em creche. J Infect Control 2014;3(4):90-331.
43. Costa JFB, Silva CB, Ueda SMY, Mimica LMJ. Estudo da resistência dos brinquedos de pano aos processos de higienização hospitalar e eficiência destes métodos para retirada dos micro-organismos. Arq Méd Hosp Fac Ciênc Méd 2012;57(2):67-72.
44. California Child Care Health Program. Health and Safety in the Child Care Setting: Prevention of Infectious Disease. A curriculum for the training of child care providers; 1998 [acesso em 20 jan 2014]. Disponível em <http://www.ucsfchildcarehealth.org/pdfs/Curricula/idc2book.pdf>
45. Brasil. Ministério da Educação e do Desporto. Secretaria de Educação fundamental. Referencial Curricular Nacional para a Educação Infantil; 1998 [acesso em 20 jun. 2014]. Disponível em <http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/volume2.pdf>
46. Oliveira MN, Brasil ALD, Taddei JAAC. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. Ciênc Saúde Coletiva 2008;13(3):1051-60.
47. Nesti MMM, Goldbaum M. As creches e pré-escolas e as doenças transmissíveis. J Pediatr 2007;83(4):299-312.