

COLETA DE AMOSTRAS BACTERIANAS EM SOLAS DE CALÇADOS NO CAMPUS DO UNIDOCTUM

Jonas Antônio Quadros¹

Lincoln Almeida Aguilar²

Vítor Coelho Da Silva³

Fábio Mendes dos Santos⁴

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo analisar a presença de bactérias nas solas dos calçados de estudantes do Centro Universitário Doctum de Teófilo Otoni e cidades vizinhas. A pesquisa envolve a coleta de amostras bacterianas das solas de sapatos, seguida pelo cultivo em meios de ágar, incubação, e análise microscópica. Utilizando a técnica de coloração de Gram para determinar a classificação das bactérias em Gram-positivas e Gram-negativas. Os resultados destacaram a diversidade bacteriana presente nas solas dos sapatos, evidenciando a importância de práticas de higiene mais rigorosas para prevenir possíveis contaminações. O estudo contribui para o conhecimento sobre a dispersão de bactérias em ambientes acadêmicos e pode servir de base para futuras pesquisas na área.

Palavras-chave: Bactérias, Coloração de Gram, Solas de Calçados, Cultura de Bactérias.

1 INTRODUÇÃO

As bactérias habitam os mais diversos ambientes e organismos vivos na Terra. Elas desempenham um papel crucial tanto ecologicamente quanto economicamente. Muitas bactérias são fundamentais para a produção de oxigênio através da fotossíntese, a absorção de nutrientes pelas plantas, a decomposição de resíduos industriais e agrícolas, e o controle biológico de pragas. Além disso, são essenciais para a biorremediação, processos industriais de fermentação, engenharia genética, decomposição de organismos mortos, e os ciclos biogeoquímicos de elementos como oxigênio, nitrogênio, carbono, fósforo e enxofre. As bactérias também têm inúmeras aplicações na biotecnologia, entre outras áreas (Campos, 2012).

Esses, são organismos unicelulares procariotos, caracterizados por sua estrutura simples. Elas não possuem membrana nuclear, mitocôndrias, complexo de Golgi ou retículo

1 Aluno do Curso de Farmácia do Centro Universitário Doctum - UNIDOCTUM - em Teófilo Otoni/MG.

2 Aluno do Curso de Farmácia do Centro Universitário Doctum - UNIDOCTUM - em Teófilo Otoni/MG.

3 Aluno do Curso de Farmácia do Centro Universitário Doctum - UNIDOCTUM - em Teófilo Otoni/MG.

4 Doutor em Bioinformática pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Professor e Coordenador do Curso de Farmácia do Centro Universitário Doctum - UNIDOCTUM - em Teófilo Otoni/MG. Orientador deste trabalho.

endoplasmático, e se reproduzem através de divisão assexuada. A parede celular das bactérias é complexa e pode ser de dois tipos principais: nas bactérias Gram-positivas, a parede celular é composta por uma camada espessa de peptidoglicano; nas bactérias Gram-negativas, a parede celular tem uma camada fina de peptidoglicano, além de uma membrana externa sobreposta (MURRAY *et.al.*, 2004).

Algumas bactérias não possuem estrutura típica de parede celular e compensam essa ausência sobrevivendo exclusivamente no interior de células hospedeiras ou em ambientes hipertônicos. O tamanho (de 1 a 20 μm ou mais), forma (esférica, em bastonete, espiral) e o arranjo espacial (células isoladas, em cadeias, em grupos) são critérios utilizados para a classificação preliminar das bactérias. A classificação definitiva, por sua vez, baseia-se nas propriedades fenotípicas e genotípicas dessas bactérias (MURRAY *et.al.*, 2004).

A relevância deste estudo de transporte reside na ampliação do conhecimento sobre a microbiota presente em um calçado humano frequentemente. Além disso, os resultados poderão fornecer insights sobre a potencial necessidade de práticas de higiene mais rigorosas, contribuindo para a saúde e o bem-estar dos estudantes.

A metodologia a ser utilizada incluirá a coleta sistemática das amostras, o cultivo das bactérias em meio apropriado, a realização da coloração de Gram e a análise microscópica das amostras. Esta abordagem permitirá identificar a natureza das bactérias presentes e fornecer uma base sólida para futuras pesquisas na área. Em suma, este estudo pretende explorar um aspecto pouco investigado da microbiologia ambiental, oferecendo uma nova perspectiva sobre a dispersão bacteriana em ambientes acadêmicos.

Este trabalho tem como objetivo geral desenvolver uma análise bacteriológica para identificar as principais bactérias presentes nas solas dos sapatos de estudantes da cidade de Teófilo Otoni e cidades vizinhas que estudam na rede Doctum de ensino, no polo de Teófilo Otoni.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados em microbiologia são variados e desempenham funções específicas. Os meios sólidos geralmente são utilizados para obter colônias isoladas, e os meios líquidos são utilizados para facilitar o desenvolvimento microbiano, mas não permitem a obtenção de colônias isoladas (AGUIAR, 2008).

A cultura bacteriana é uma técnica fundamental na microbiologia, usada para isolar, identificar e estudar microrganismos em amostras ambientais, clínicas ou alimentares, permitindo a observação direta do crescimento bacteriano, facilitando a caracterização de microrganismos por meio de suas características morfológicas, bioquímicas e de comportamento. Também é essencial para avaliar a suscetibilidade antimicrobiana e determinar a presença de patógenos em amostras diversas (MADIGAN *et al*, 2020)

O meio de cultura Mueller-Hinton é amplamente utilizado na microbiologia clínica, especialmente em testes de suscetibilidade a antimicrobianos. É preferido devido à sua composição simples e ao fato de promover o crescimento de uma vasta gama de bactérias. Esse meio é padronizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para testes de sensibilidade a antibióticos, sendo utilizado em diversos estudos para verificar a resistência bacteriana (Brown, 2017).

Além do Mueller-Hinton, outros meios de cultura são usados na microbiologia para diferentes propósitos. O ágar sangue, por exemplo, é utilizado para o isolamento e diferenciação de bactérias com base em sua capacidade de hemolisar eritrócitos. É essencial para o cultivo de bactérias fastidiosas, como *Streptococcus* e *Neisseria*, permitindo a diferenciação entre bactérias hemolíticas e não hemolíticas (Prescott, *et al*, 2020).

Os meios de cultura podem variar quanto ao nível de inibição que exercem. Alguns possibilitam o crescimento de praticamente todas as enterobactérias, já que certas espécies só se desenvolvem na ausência de agentes altamente inibitórios. Entre os meios menos seletivos, que proporcionam uma análise mais precisa da flora Gram-negativa, destaca-se o Ágar EMB (Falcão, *et al.*, 1979). Este é um meio de cultura seletivo utilizado para o isolamento e identificação de bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. Ele permite o crescimento tanto de microrganismos fermentadores quanto não fermentadores de lactose, sendo amplamente empregado em análises microbiológicas para diferenciar e caracterizar essas bactérias com base em sua capacidade de metabolizar a lactose (COSTA *et al.*, 2016).

Segundo Madigan e Martinko (2018), outro meio amplamente utilizado é o ágar MacConkey, que é seletivo para bactérias Gram-negativas e diferencial para a fermentação de lactose. Ele é particularmente útil na diferenciação de bactérias entéricas, como *Escherichia coli* e *Salmonella*, destacando sua utilidade em estudos epidemiológicos e ambientais. Este contém sais biliares e cristal violeta, que inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas, promovendo o crescimento seletivo de enterobactérias.

Em seu estudo, Levy (2004), também descreve o Ágar Sangue como um meio rico e não seletivo que é diferencial para hemólise, permitindo o crescimento da maioria dos Gram negativos e Gram positivos, além de fungos, filamentosos e leveduras, exceto algumas espécies de hemófilos e outros microrganismos fastidiosos; o Ágar chocolate, como um meio rico e não seletivo que suporta o crescimento da maioria das bactérias aeróbias e facultativas, e quando incubado em CO₂, também favorece o crescimento de microaerófilos e pode mostrar halos esverdeados com colônias alfa-hemolíticas; o Ágar MacConkey, como um meio seletivo que viabiliza o crescimento de Gram negativos, e diferencial para a utilização de lactose, inibindo o crescimento de Gram positivos. Bactérias lactose positivas aparecem avermelhadas, enquanto lactose negativas mantêm a coloração inalterada. Excepcionalmente, *Enterococcus*, *Candida* e

Bacillus podem crescer; o ágar Salmonela-Shigella como um meio seletivo que viabiliza o crescimento de Salmonela e Shigella, diferencial para a utilização de lactose (coloração rósea) e produção de H₂S (coloração negra) respectivamente; o Ágar Salmonela-Shigella como um meio seletivo, que viabiliza o crescimento de Salmonela e Shigella, diferencial para a utilização de lactose (coloração rósea) e produção de H₂S (coloração negra) respectivamente; e por fim o Ágar Thayer Martin Modificado, caracterizado como um meio seletivo que através da adição de colistina, vancomicina e nistatina, inibe o crescimento de enterobactérias, Gram positivos, fungos e algumas Neisserias saprófitas.

2.2 Potencial de crescimento

Segundo Levy (2004), o crescimento dos microrganismos em diferentes meios de cultura fornece informações cruciais para a sua identificação, e é fundamental compreender o potencial de crescimento de cada meio e adaptá-lo ao perfil bacteriano esperado para cada tipo de material.

As condições de incubação, como temperatura, pH e a presença de oxigênio, também desempenham um papel crucial no sucesso da cultura bacteriana. Diferentes tipos de bactérias requerem condições específicas de crescimento. bactérias aeróbicas, como Pseudomonas aeruginosa, necessitam de oxigênio para crescer, enquanto bactérias anaeróbicas, como Clostridium difficile, crescem melhor em ambientes sem oxigênio (Atlas, Bartha, 2017).

Para viabilizar o crescimento dos microrganismos, são utilizados os meios de crescimento, classificados como meios seletivos, meios não seletivos, meios de base e meios diferenciais, sendo que cada um tem diferentes propriedades de crescimento e especificidades distintas para cada tipo de microrganismo a ser cultivado. Os meios seletivos contém substâncias que inibem o crescimento de grupos de bactérias específicos; os meios não seletivos são suplementados para facilitar o crescimento microbiano de uma maior variedade de microrganismos; os meios diferenciais, que são utilizados como prova bioquímica para avaliar a presença de enzimas específicas responsáveis por vias metabólicas (AGUIAR, 2008).

2.3 Métodos de coleta microbiológica

A coleta microbiológica é um processo crucial para a detecção, isolamento e identificação de microrganismos presentes em diversas superfícies e ambientes. A escolha do método adequado para a coleta depende do tipo de amostra, do ambiente a ser analisado e do objetivo da pesquisa. Métodos eficazes de coleta garantem que a amostra representativa seja mantida viável até o momento da análise laboratorial, permitindo resultados confiáveis (FORBES, *et al.* 2007).

Um dos métodos mais comuns para a coleta de amostras microbiológicas em superfícies é o uso de swabs estéreis. Segundo Moreira e Cardoso (2018), swabs embebidos em soluções salinas ou soro fisiológico estéril são amplamente utilizados para a coleta de microrganismos em

superfícies sólidas e em áreas onde é necessário garantir a precisão da coleta. Esse método é ideal para amostras ambientais, como solas de sapatos, onde há uma grande diversidade microbiana. Os swabs permitem que os microrganismos sejam transferidos para o laboratório em um estado viável, prontos para cultivo e identificação.

Além dos swabs, outro método comum é o uso de placas de contato, que permitem a coleta direta de microrganismos de superfícies planas. Esse método é particularmente útil em ambientes controlados, como salas limpas e hospitais, onde é necessário avaliar a presença de contaminantes em superfícies específicas. Segundo Barros e Fernandes (2019), as placas de contato são fáceis de usar e permitem a quantificação direta de unidades formadoras de colônias (UFC), oferecendo uma visão clara da carga microbiana presente na superfície.

Outro aspecto importante do processo de coleta é o transporte adequado das amostras. De acordo com Silva e Pereira (2020), o uso de tubos Falcon estéreis é recomendado para o transporte de swabs e outras amostras ambientais, como solos, águas e superfícies. Os tubos Falcon fornecem um ambiente estéril e controlado, reduzindo o risco de contaminação durante o transporte. Esse tipo de recipiente é amplamente utilizado em estudos ambientais, garantindo a integridade da amostra até que seja processada no laboratório.

2.4 Classificação de bactérias

As bactérias são organismos procariotos unicelulares com uma estrutura simples. Elas não possuem membrana nuclear, mitocôndrias, complexo de Golgi ou retículo endoplasmático e se reproduzem por divisão assexuada. A parede celular bacteriana é complexa e varia entre dois tipos: nas bactérias Gram-positivas, a parede celular tem uma camada espessa de peptidoglicano; nas bactérias Gram-negativas, a parede celular possui uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa adicional (MURRAY, *et al.*, 2004)

As células bacterianas podem apresentar várias formas, tais como: Bacilo (em forma de bastão), cocos (esféricos ou ovoides) e os espirilos (em forma de saca-rolha ou curvados), que são as formas mais comuns. Também, podem apresentar forma de estrela ou quadrada. Podem formar pares, cadeias, grupos ou outros agrupamentos (TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

As formas das bactérias vistas ao microscópio óptico revelam uma diversidade impressionante. Cada espécie bacteriana pode exibir uma forma celular distinta, como cocos, bastonetes, vibriões, filamentos, entre outras. Além disso, células filhas, derivadas de uma célula mãe, frequentemente se organizam em arranjos específicos, como amontoados ou cadeias. Algumas espécies são pleomórficas, o que significa que podem alterar sua forma ao longo do ciclo de vida, como os actinomicetos e micoplasmas. Essas características morfológicas e os

padrões de agrupamento são influenciados por fatores como gênero, família, espécie, subespécie, cepa, meio de cultura (seja líquido, sólido, composição) e idade da cultura (Shah, 2023).

A estrutura das bactérias compreende um citoplasma contendo organelas, uma membrana citoplasmática e uma parede bacteriana única. Esta última é crucial para a forma e estrutura da bactéria, protegendo-a contra a pressão osmótica e proporcionando resistência estrutural. Além da parede, existem estruturas externas à membrana, como cápsulas, cílios, flagelos e fimbrias (pilis), além das esporas bacterianas, formas especiais de resistência encontradas em certos gêneros bacterianos, como *Clostridium* e *Bacillus* (Mahon; Lehman, 2023).

O material genético das bactérias é composto pelo cromossomo bacteriano ou nucleóide, plasmídeos independentes e elementos genéticos móveis com certa autonomia, como fagos, transpósons, sequências de inserção, integrons, ilhas de patogenicidade e de resistência. O cromossomo bacteriano é uma molécula circular de DNA que contém todas as informações genéticas essenciais para o metabolismo e reprodução bacteriana. Em bactérias patogênicas, o cromossomo pode incluir genes responsáveis pela síntese de fatores de virulência e mecanismos de resistência a desinfetantes e/ou antibióticos (Mahon; Lehman, 2023).

2.4.1 Bactérias Gram negativas

As bactérias Gram-negativas possuem uma parede mais fina e complexa. O peptidoglicano forma uma camada de cerca de 5 nm de espessura, circundada por uma membrana externa semelhante à membrana plasmática, onde diversos antígenos, como o antígeno somático 'O', estão fixados. O espaço periplasmático fica entre a membrana citoplasmática e a membrana externa. Além da membrana externa, as bactérias Gram-negativas apresentam uma camada de proteína ou polissacarídeo, conhecida como camada S, glicocálice, cápsula ou zoogloea (Chaughule; Lokur, 2023).

2.4.2 Bactérias Gram positivas

As bactérias Gram-positivas apresentam uma parede espessa (20 a 80 nm), com aspecto homogêneo, composta principalmente por peptidoglicano associado a certos carboidratos e ácido teicóico. O periplasma é delimitado pela membrana citoplasmática e pela parede bacteriana. Em algumas espécies deste grupo, uma camada de proteína ou polissacarídeo cobre a parede, conhecida como camada S, glicocálice, cápsula ou zoogloea (Chaughule; Lokur, 2023).

2.4.3 Peptidoglicano

O peptidoglicano (PDG) é um complexo polimérico tridimensional que inclui dois amino açúcares e pelo menos quatro aminoácidos diferentes, os quais juntos formam o muropeptídeo, a unidade polimérica. A composição e estrutura do muropeptídeo variam conforme a bactéria. Nas bactérias Gram-negativas, o PDG é constituído por duas a três camadas, enquanto nas bactérias Gram-positivas, por cerca de 10 camadas sobrepostas. As variações na composição química e na natureza das ligações covalentes são mais significativas entre bactérias Grampositivas do que entre as Gram-negativas (Stepec, Wunch, Skovhus, 2024).

2.5 Coloração de Gram

O termo Gram origina do nome de Christian Gram, pesquisador dinamarquês que, em 1884, desenvolveu, de maneira empírica, o método de coloração que passou a ter o seu nome e que permite dividir as bactérias em dois grandes grupos: Grampositivos e Gram-negativos. O método, ou técnica de Gram, consiste, essencialmente, no tratamento sucessivo de um esfregaço bacteriano, fixado pelo calor, com os seguintes reagentes: cristal violeta, lugol, álcool e fucsina (TRABULSI *et al.*,2015).

Essa técnica permite diferenciar as bactérias em dois tipos. As Gram-positivas, que adquirem uma cor azul ou roxa, e Gram-negativas, que adquirem uma cor rosa ou vermelha. A teoria por trás da diferenciação na coloração de Gram baseia-se na estrutura da parede celular e no componente lipídico das bactérias (TRABULSI *et al.*,2015).

A coloração de Gram se fundamenta em duas teorias principais, chamadas de teoria da parede celular e teoria dos lipídios. De acordo com o estudo de (Shen; Zhang,2017), nas bactérias Gram-positivas, a parede celular é rica em peptidoglicano, o que facilita a desidratação pela ação do álcool. Isso faz com que o complexo cristal violeta fique retido na parede celular, mantendo a coloração roxa característica (Shen; Zhang,2017).

Nas bactérias Gram-negativas, a parede celular possui uma alta concentração de lipídios (10-15%), o que permite ao álcool remover facilmente o complexo cristal violeta. Após essa descoloração, a parede celular, que fica incolor, é tingida com safranina, adquirindo uma coloração rosa ou vermelha (Shen; Zhang,2017).

Sendo assim, a coloração de Gram é um método empregado para classificar bactérias com base em características como tamanho, morfologia celular e reação aos corantes. Em laboratórios de microbiologia clínica, esse procedimento é utilizado como um teste rápido adicional para o diagnóstico de agentes infecciosos, além de avaliar a qualidade das amostras clínicas. A interpretação dos esfregaços coloridos pelo Gram leva em consideração aspectos

como a coloração, o tamanho, a forma e o agrupamento das células, que podem ser influenciados por fatores como a idade da cultura, o meio de cultivo, a atmosfera de incubação e a presença de substâncias inibidoras (Levy, 2004).

2.6 Solas de sapatos como veículo de microrganismos

Segundo estudo realizado por Rashid *et al.* (2020), as solas de sapatos são frequentemente contaminadas por bactérias resistentes a antibióticos, especialmente em ambientes hospitalares. Esse estudo mostrou que os sapatos de profissionais de saúde e visitantes eram fontes comuns de microrganismos, criando um risco potencial para a transmissão de infecções dentro do ambiente hospitalar.

Um estudo de Gerba *et al.* (2016) indicou que as solas de sapatos são frequentemente mais contaminadas do que outras superfícies, como maçanetas e superfícies de trabalho, devido à sua exposição constante ao solo e a áreas potencialmente contaminadas, como banheiros públicos e ruas. O estudo analisou sapatos usados por uma semana e encontrou uma média de 421.000 unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias nas solas. Além disso, 96% das solas estavam contaminadas com coliformes fecais, indicando contato com fezes humanas ou animais.

No contexto de ambientes urbanos e escolares, estudos como o estudo de Amoah *et al.* (2017) sugerem que as solas de sapatos de estudantes podem ser veículos de microrganismos patogênicos, especialmente em locais onde o saneamento é inadequado. A pesquisa realizada em escolas da África Ocidental mostrou que os sapatos usados em banheiros públicos transportavam *Escherichia coli* e outras bactérias entéricas, destacando a necessidade de medidas de higiene e políticas de prevenção para minimizar o risco de contaminação cruzada.

Além disso, a pesquisa de Boulanger *et al.* (2018) investigou o papel das solas de sapatos na propagação de vírus respiratórios, como influenza e o SARS-CoV-2, e concluiu que as solas podem, de fato, transportar partículas virais. Embora a transmissão direta de vírus por sapatos seja menos comum do que por gotículas respiratórias, a pesquisa demonstrou que partículas virais podem se aderir a superfícies de solas e permanecer viáveis por horas, aumentando o risco de contaminação em ambientes como hospitais e lares de idosos.

De acordo com os estudos citados, entende-se que as solas de sapatos têm sido amplamente reconhecidas como um vetor significativo de microrganismos entre diferentes ambientes, especialmente em locais com alta circulação de pessoas, como hospitais, escolas e áreas públicas. Estudos demonstram que as solas de sapatos podem carregar uma ampla gama de microrganismos, incluindo bactérias patogênicas, fungos e até vírus, que são transportados de

ambientes contaminados para ambientes limpos, contribuindo para a propagação de doenças infecciosas.

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

A coleta das amostras bacterianas foi realizada no saguão do Bloco D da Faculdade Doctum, localizada em Teófilo Otoni – MG, no dia 06/11/2024. A amostragem foi feita especificamente das solas dos sapatos dos alunos, devido ao potencial de acumulação de microorganismos trazidos do ambiente externo.

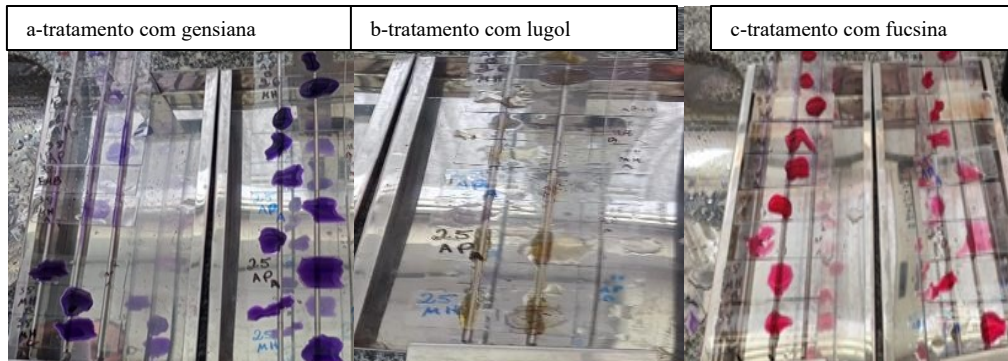
O material foi coletado com a utilização de cotonetes estéreis, que foram umedecidos previamente com soro fisiológico e esfregados vigorosamente na superfície das solas dos sapatos dos alunos, e as amostras coletadas foram identificadas com o nome dos locais de onde os alunos voluntários vinham (seja cidade ou bairro), com o objetivo de identificar possíveis micro-organismos aderidos a essas superfícies. Após a coleta, os Swabs foram armazenados em sacos plásticos estéreis (Cordeiro *et al.*, 2017).

Após realização da coleta, as amostras foram transportadas imediatamente para o laboratório e semeadas em placas de Petri contendo o meio de cultura Mueller Hinton, Ágar Padrão e EMB (Eosina Azul de Metileno), que foram selecionados por suas características de promover o crescimento de uma ampla gama de bactérias. As placas foram incubadas a 37°C por 36 horas com o auxílio da estufa, para permitir o crescimento das colônias bacterianas. (PÊGAS *et al.*, 2015)

Após o período de incubação, as colônias crescidas foram submetidas ao processo de coloração de Gram, onde os resultados permitiram a classificação das bactérias em Gram-positivas ou Gram-negativas. A técnica foi realizada conforme protocolo padrão, com a fixação das amostras em lâminas, aplicação dos corantes, e posterior visualização em microscópio óptico. Os esfregaços foram corados utilizando genciana por 1 minuto, e em seguida, lavados com água corrente. Após a aplicação da solução de lugol, por 1 minuto e sua remoção com decolorante, procede-se a adição do corante fucsina por 30 segundos e a lavagem com água corrente e após a secagem ficaram prontas para análise, onde foram identificadas as bactérias em Gram-positivas e Gram-negativas (SANTOS *et al.*, 2020).

O tratamento com cristal violeta (Genciana), permitiu a visualização microscópica das bactérias Gram-positivas, e foi utilizado Lugol como mordente para intensificar a fixação do cristal violeta. A aplicação do corante fucsina foi realizada como contracoloração, permitindo a visualização de células Gram-negativas, como mostra na **Figura 1**. A coloração diferencia tipos bacterianos com base na composição de suas paredes celulares.

Figura 1. Etapas do método de Coloração de Gram.



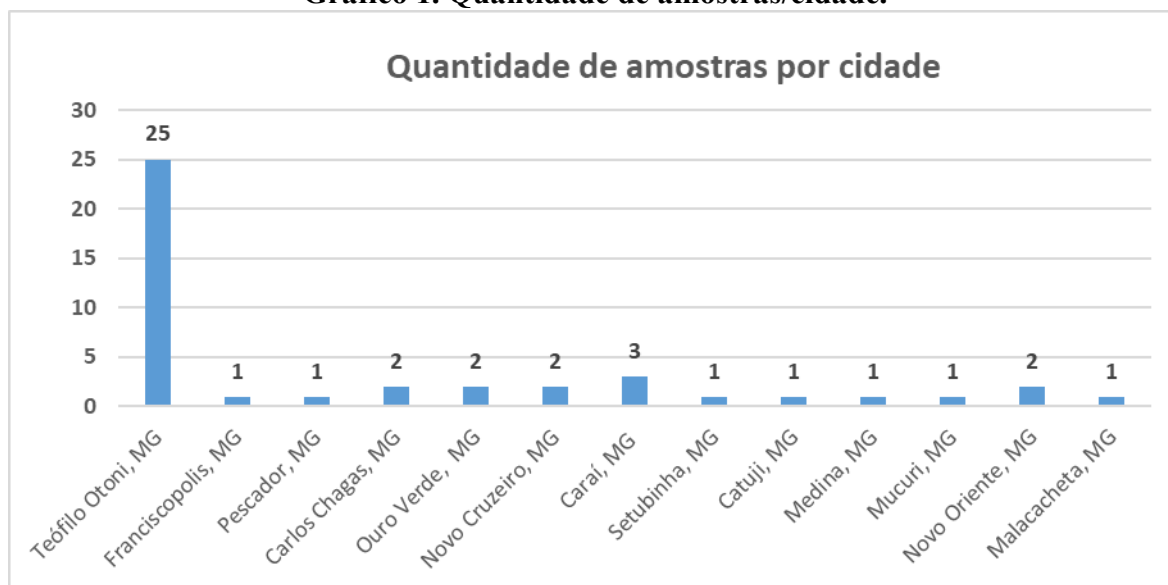
Posteriormente, foi realizado o teste de Catalase, utilizado para identificar a presença da enzima catalase, caracterizando as bactérias como catalase-positivas e catalase-negativas. O teste foi realizado pingando uma pequena quantidade peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sobre as colônias bacteriana crescidas, observando a formação de bolhas de oxigênio indicando resultado positivo e a não formação indicando resultado negativo (CUNHA, ZÖLLNER,2022).

4 ANÁLISE E DISCUSSÃO

Demos início ao experimento no dia 06/11/2024 com a realização da coleta das amostras no saguão do bloco D da faculdade Doctum, onde foram coletadas as amostras das solas de sapatos dos alunos. A coleta foi realizada utilizando cotonetes estéreis e soro, sendo que a sola dos sapatos a serem coletadas as amostras foram umedecidas com soro, e foi passado vigorosamente o cotonete no local, que também havia sido umedecido com soro previamente, e posteriormente o material foi envolvido em saco estéril contendo uma pequena quantidade de soro.

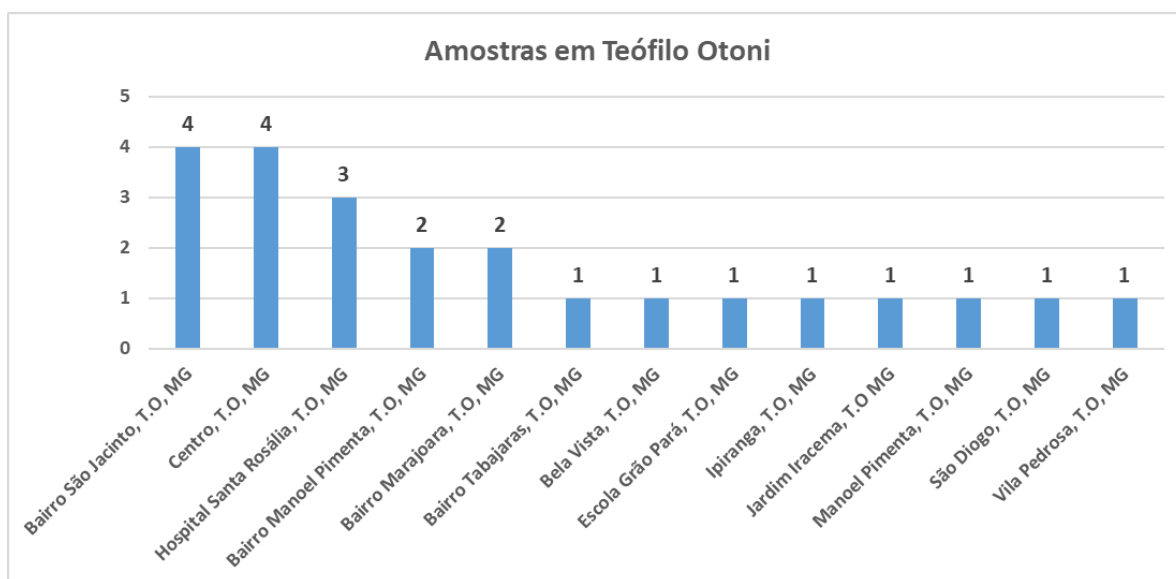
Analisando a distribuição da quantidade de amostras coletadas por diferentes cidades, de acordo com o **Gráfico 1**, a cidade de Teófilo Otoni destaca-se como a localidade com o maior número de amostras coletadas, totalizando 25, o que representa uma concentração significativa em relação às demais cidades. Outras localidades, como Franciscópolis, Pescador, Carlos Chagas, Ouro Verde, Novo Cruzeiro e Malacacheta, apresentam números consideravelmente menores, variando de 1 a 3 amostras, sendo Carai-MG a segunda maior contribuição com 3 amostras.

Gráfico 1. Quantidade de amostras/cidade.



Podemos observar que houve um maior quantitativo de amostras coletadas da cidade de Teófilo Otoni, sendo assim, foi realizada uma subdivisão detalhada das amostras por bairro. O **Gráfico 2**, apresenta o número de amostras coletadas em diferentes locais, listados no eixo horizontal, enquanto a descrição dos bairros e locais de onde os estudantes vieram é indicada no eixo vertical. Observa-se que os bairros de onde obtivemos o maior número de amostras, foram os bairros São Jacinto e Centro, ambos com 4 amostras, em seguida, vem Hospital Santa Rosália e o Bairro Manoel Pimenta com 3 amostras coletadas, e do bairro Marajoara obtivemos 2 amostras. Dos bairros Tabajaras, Bela Vista, Ipiranga, Jardim Iracema, Manoel Pimenta, São Diogo, Vila Pedrosa e da Escola Grão Pará obtivemos apenas uma amostra cada.

Gráfico 2. Amostras coletadas em Teófilo Otoni.



Após a realização da coleta, as amostras foram encaminhadas imediatamente ao laboratório de microbiologia para darmos início ao processo de inoculação nas placas de Petri, que haviam sido preparadas previamente e estavam prontas para a inoculação.

As amostras foram inoculadas próximas à chama do bico de Bunsen, com o intuito de garantir a integridade do experimento, assepsia e cuidado para evitar possível contaminação própria. O processo foi realizado atrito do cotonete sobre o meio de crescimento de forma suave e em formato de Z. Na sequência, as amostras foram encaminhadas para a estufa de crescimento e foram incubadas por 36 horas a 37 °C.

Na manhã do dia 08/11/2024 às 08:00 horas demos início ao processo de análise, onde foi feita a fixação das amostras em lâminas de observação, coloração para teste de Gram e posteriormente teste de catalase. O experimento teve duração de 14 horas para a conclusão de todos os testes e análises, finalizando às 22:00 do dia 08/11/2024.

A fixação das amostras de colônias crescidas foi realizada utilizando a técnica do esfregão como mostra a **Figura 2**, com a utilização de lâmina microscópica limpa, soro estéril, bico de Bunsen e alça de platina. A lâmina foi previamente envolvida ao calor da chama para garantir a esterilidade e posteriormente foi introduzida uma gota de soro estéril sobre a lâmina; a alça de platina foi flambada e, em seguida, foi coletada uma pequena quantidade da colônia crescida; o material foi esfregado de forma suave sobre a lâmina com soro fazendo movimentos circulares suaves; o bico de Bunsen foi utilizado posteriormente, para fazer a secagem das lâminas, cuidando sempre para não deixar que a lâmina se aquecesse demasiadamente.

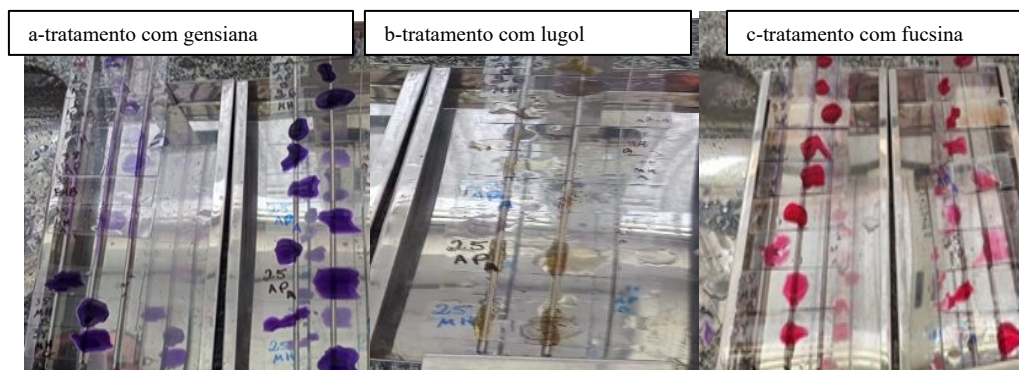
Figura 2. Representação da preparação dos esfregaços.



Após realizados os esfregaços, foi realizado o processo de coloração como mostra a **Figura 3**. As amostras foram colocadas em uma base de material inoxidável; e as amostras foram tratadas com o corante Genciana que agiu por 1 minuto, e posteriormente as lâminas foram lavadas com água corrente. Em seguida foi aplicado Lugol em todas as amostras e deixado agir por 1 minuto, sendo novamente lavadas utilizando solução descorante. Por fim, as

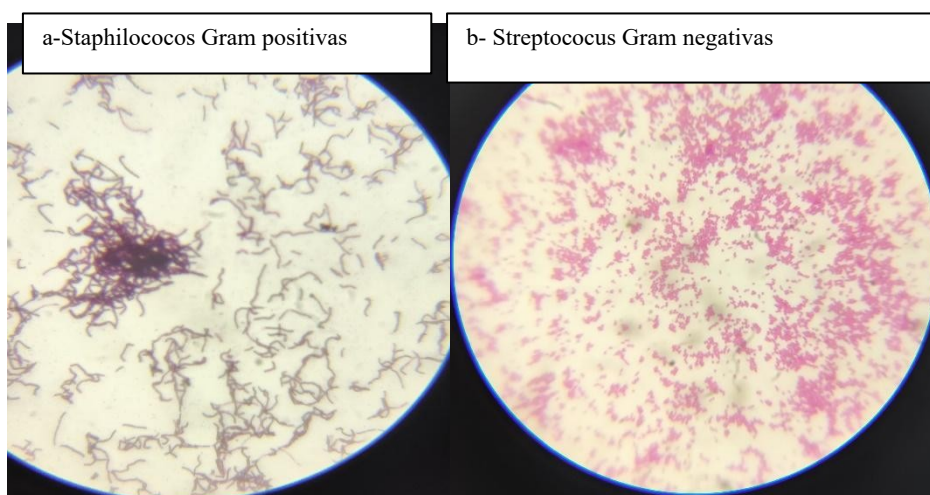
foi aplicado Fucsina em todas as amostras por mais 30 segundos e lavado com água corrente em seguida. Após a realização do procedimento descrito acima, as lâminas estavam prontas para serem analisadas.

Figura 3. Coloração de Gram.



No total, foram semeadas 126 placas resultando em 177 colônias diferentes, que foram classificadas através do experimento em Gram-positivas, Gram-negativas, Staphilococos e Streptococcus, catalase positiva ou catalase negativa. Na **Figura 4**, por exemplo, a primeira imagem representa a visualização microscópica de bactérias do tipo Staphilococos Gram positivas e a segunda imagem representa a visualização microscópica de bactérias do tipo Streptococcus Gram negativas.

Figura 4. bactérias Gram- positivas e Gram- negativas.



Os resultados obtidos nos diferentes meios de cultura revelaram distintas capacidades de crescimento bacteriano de acordo com a **Tabela 1**, evidenciando a diversidade e as características específicas das bactérias coletadas.

No Ágar Padrão, foram analisadas 77 amostras, das quais 26 (33,8%) apresentaram crescimento de bactérias gram-positivas e 51 (66,2%) apresentaram crescimento de bactérias gram-negativas. Este meio é amplamente utilizado para o cultivo geral de microrganismos, sendo eficaz para uma grande variedade de bactérias, conforme esperado. A elevada proporção de amostras negativas pode indicar uma menor carga bacteriana viável em algumas das solas analisadas ou condições menos favoráveis para o crescimento de determinados microrganismos.

No Ágar Mueller Hinton, 65 amostras foram analisadas, com 22 (29,3%) apresentando crescimento de bactérias gram-positivas e 53 (70,7%) apresentaram crescimento de bactérias gram-negativas. Este meio, conhecido por seu uso em testes de sensibilidade antimicrobiana, é menos nutritivo que o Ágar Padrão. A leve diminuição na proporção de amostras positivas pode ser atribuída à menor capacidade deste meio de suportar o crescimento de bactérias mais exigentes em termos nutricionais.

No Ágar EMB, 15 colônias foram analisadas, e todas apresentaram crescimento de bactérias gram-negativas.

Tabela 1. Teste de Gram

Tipo de Bactéria	Contagem de AP	Contagem de MH	Contagem de EMB
Gram –	51	53	15
Gram +	26	22	0
Total	77	65	15

Geral

Ainda, as bactérias foram classificadas quanto aos seus tipos de acordo com o formato. A **Tabela 2**, mostra os resultados da contagem de bactérias Estafilococos e Streptococos em três diferentes meios de cultura: Ágar Padrão (AP), Mueller-Hinton (MH) e Eosina Azul de Metileno (EMB). Os valores representam o número de colônias observadas para cada bactéria em cada meio, com os totais gerais apresentados na última linha para facilitar a análise comparativa. No Ágar padrão foram encontradas 45 bactérias do tipo Staphilococos e 32 do tipo Streptococos, no Ágar Mueller Hinton 40 bactérias do tipo Staphilococos e 24 do tipo Streptococos, e no Ágar EMB 10 bactérias do tipo Staphilococos e 6 do tipo Streptococos.

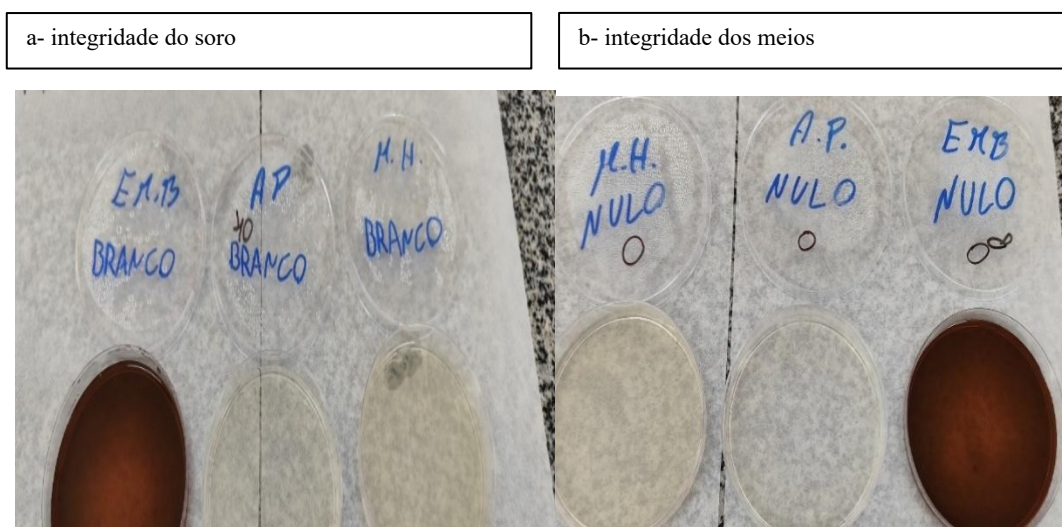
Tabela 2. Formato das bactérias

Forma das	Contagem	Contagem	Contagem de
-----------	----------	----------	-------------

bactérias	de AP	de MH	EMB
Staphilococos	45	40	10
Streptococos	32	25	5
Total Geral	77	65	15

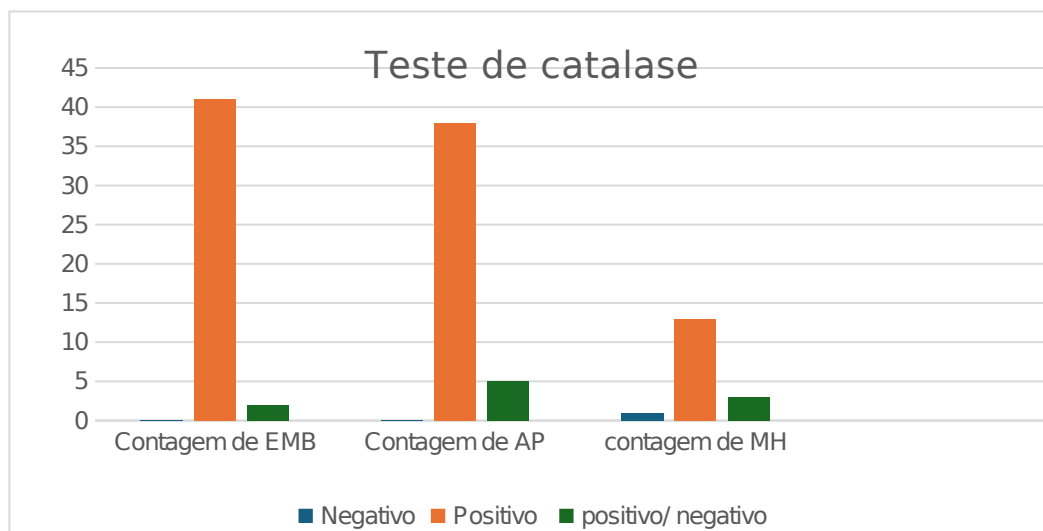
Para garantir a integridade do experimento, realizamos a inoculação e incubação pelo mesmo período de tempo (36 horas) do soro que foi utilizado na coleta e no transporte das amostras (o resultado final garantiu que não houve nenhum tipo de contaminação, pelo não crescimento de colônias nas placas inoculadas). Realizamos o mesmo experimento com três exemplares dos meios de crescimento utilizados sem adição de qualquer amostra, obtendo êxito no experimento, pelo não crescimento de colônias nos exemplares, e garantindo que as placas não estavam previamente contaminadas, conforme está descrito na **Figura 5**.

Figura 5. teste de integridade do soro e meios de crescimento



Após o término dos esfregaços para o teste de gram foi realizado o teste de catalase em todas as placas, com a introdução de peróxido de hidrogênio sobre todas as colônias crescidas, com o auxílio de uma pipeta dosadora. O resultado positivo pôde ser observado pela formação de espuma sobre as colônias, e o resultado negativo pela não formação de espuma. Os resultados do teste de catalase podem ser observados no **Gráfico 3**, e tabela com todos os resultados pode ser vista no **ANEXO I** deste artigo. No **Gráfico 3**, no eixo vertical, é indicado o número de amostras (variando de 0 a 45), enquanto o eixo horizontal mostra os diferentes meios de cultura avaliados. Os resultados estão distribuídos em tres categorias, onde a cor azul representa os resultados negativos, a cor laranja os resultados positivos, e a cor cinza representa os resultados positivos/ negativos. Os resultados positivos/ negtivos são explicados porque no mesmo meio de crescimento foram observados resultados positivos em uma das colônias crescidas e negativos em outras colônias.

Gráfico 3. Resultados dos testes de catalase



Os dados indicam a predominância de resultados negativos na maioria das colônias testadas, sendo mais evidente nos meios AP (Ágar Padrão) e MH (Mueller Hinton), evidenciando. O meio EMB apresentou a maior diversidade nos resultados, incluindo todas as categorias.

5 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram a presença significativa de bactérias, com predominância de microrganismos Gram-negativos e, em menor quantidade, Gram-positivos. Além disso, foi possível identificar colônias pertencentes aos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, corroborando a diversidade microbiana esperada nesse tipo de amostra

Os achados ressaltam a importância dos calçados como vetor de microrganismos potencialmente patogênicos, reforçando a necessidade de medidas preventivas, como higienização regular e barreiras sanitárias em locais de grande circulação. Apesar das limitações, como o não isolamento de espécies específicas e o pequeno tamanho amostral, o estudo contribui para uma melhor compreensão da microbiota presente em superfícies frequentemente expostas a diferentes ambientes.

A partir dos resultados, recomenda-se a realização de pesquisas futuras que aprofundem a identificação de espécies bacterianas e avaliem a resistência antimicrobiana desses microrganismos. Assim, será possível expandir o conhecimento sobre os riscos à saúde pública decorrentes à contaminação microbiológica associada aos calçados.

Conclui-se que o controle da microbiota em ambientes coletivos é fundamental para a prevenção de infecções, e os dados obtidos no presente estudo reforçam a relevância de práticas sanitárias nesse contexto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, E. Introdução à microbiologia clínica. Casa do Novo Autor Editora: São Paulo, 2008 p. 39-41, 45-54, 93.

AMOAHA, D., ABUBAKARI, A., & STENSTRÖM, T. A. (2017). Shoe soles as potential vectors for pathogenic bacteria: A study in urban schools of Africa. *International Journal of Environmental Health Research*, 27(3), 205–213.

ATLAS, R. M., & BARTHA, R. (2017). *Microbial ecology: Fundamentals and applications* (6th ed.). Benjamin Cummings.

BARROS, R. S., & FERNANDES, G. L. (2019). Evaluation of microbial contamination in hospital environments using contact plates. *Journal of Clinical Microbiology*, 12(4), 65-72.

BOULANGER, R., FAUCI, A., & RICCIARDI, W. (2018). Viral contamination of shoes: The overlooked vector in hospital and public health settings. *Journal of Clinical Virology*, 105(3), 555-562.

BROWN, D. F. J. (2017). Antibiotic susceptibility testing: Methods and interpretive issues. In C. G. Mayhall (Ed.), *Hospital Epidemiology and Infection Control* (pp. 85–91). Lippincott Williams & Wilkins.

CAMPOS, R. Identificação das colônias bacterianas encontradas em bebedouros escolares. 2012. 38 f., il. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas)— Consórcio Setentrional de Educação a Distância, Universidade de Brasília, Universidade Estadual de Goiás, Brasília, 2012.

CHAUGHULE, R.S. (ed.); LOKUR, A. S. (ed.). *Applications of Nanotechnology in Microbiology*. 1. Ed. Cham: Springer, 2023.

COSTA, W. F. Análise bacteriológica da água e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das *Escherichia coli* isoladas. *Journal Health NPEPS, Barra do Garças*, v. 1, n. 1, p. 160-177, 2016. Disponível em: <http://periodicos.unemat.br/index.php/jhnpeps>. Acesso em: 5 dez. 2024.

CUNHA, A; ZÖLLNER, M. Presença de microrganismos dos gêneros *Staphylococcus* e *Candida* aderidos a máscaras faciais utilizadas em atendimento odontológico. *Revista Biociências, Taubaté*, v. 8, n. 1, p. 95-101, jan./jun. 2002.

FALCÃO, D. P. Avaliação do meio “Agar Xilose Lisina Verde Brilhante” no isolamento de *Salmonella*. *Revista de Saúde Pública, São Paulo*, v. 13, n. 1, p. 43-46, 1979.

FORBES, BETTY, A.; SAHM, F.; WEISSFELD, A. S. *BAILEY & SCOTT'S Diagnostic Microbiology*. 12. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007.

GERBA, C. P., S., & SIFUENTES, L. (2016). Bacterial contamination of shoes: A source of pathogen transmission in the home and beyond. *Journal of Applied Microbiology*, 121(2), 329-336.

LEVY, C. E. Detecção e identificação de fungos de importância médica. In: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Brasília: Anvisa, 2004. Cap. 1, p. 1-27.

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., & BENDER, K. S. (2018). *Brock biology of microorganisms* (14th ed.). Pearson.

MAHON, C. R.; LEHMAN, D. C. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 7. Ed. Philadelphia: Elsevier, 2023. 1105 p.

MOREIRA, M. A., & CARDOSO, P. H. (2018). Microbiological sampling techniques: A comparative study. *Journal of Environmental Microbiology*, 12(2), 31–38.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia Médica*. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004 p. 1, 7-9, 14-17.

PRESCOTT, L. M., HARLEY, J. P., & KLEIN, D. A. (2020). *Microbiology* (11th ed.). McGraw-Hill.

PEREIRA, C; PÊGAS, S; RABELLO, B; KIRYU, E; MELLO, F. Avaliação da contaminação por bactérias em cédulas e moedas circulantes em cantina do Centro Universitário de Volta Redonda - UniFOA. *Cadernos UniFOA, Volta Redonda*, v. 10, n. 27, p. 75–81, 2015. DOI: 10.47385/cadunifoa.v10.n27.128. Disponível em: <https://revistas.unifoa.edu.br/cadernos/article/view/128>. Acesso em: 17 dez. 2024.

RASHID, T., KHAN, M. I., & NAEEM, M. (2020). Shoe soles as a potential vector for pathogen transmission in hospital settings. *Journal of Infection Control*, 48(7), 510-514.

SHAH, M. P. *Modern Approaches in Waste Bioremediation: Environmental Microbiology*. Singapore: Springer Nature, 2023. 522 p.

SHEN, C.; ZHANG, Y. *Food Microbiology Laboratory for the Food Science Student: A Practical Approach*. 2. Ed. Cham: Springer, 2017. 163 p.

SILVA, L. F., & PEREIRA, M. A. (2020). Proper transport of microbiological samples: A comparative study of different methods. *Environmental Health Perspectives*, 28(1), 43-50.

STEPEC, B. A. N. (ed.); WUNCH, K. (ed.); SKOVHUS, Torben Lund (ed.). *Microbes, Materials, and the Engineered Environment: Petroleum Microbiology – The Role of Microorganisms in the Transition to Net Zero Energy*. 1. Ed. Boca Raton: CRC Press, 2024.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C.L. *Microbiologia*. 10. Ed, Artmed, 2012.

TRABULSI, L. R.; ORDOÑEZ, J. G.; MARTINEZ, M. B. Enterobacteriaceae. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F (Orgs). *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. P. 269-271.

Anexo I - Resultados dos testes de catalase

N ^o	Local de Coleta	AP	EMB	MH
1	Carlos Chagas, MG	Positivo	Positivo	Positivo
2	Franciscópolis, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
3	São Jacinto Pinto, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
4	Jardim Iracema, T.O MG	Positivo	Positivo	Positivo
5	Manoel Pimenta, T.O, MG	Positivo/Negativo	Sem crescimento	Positivo/ Negativo
6	Pescador, MG	Positivo/Negativo	Positivo	Positivo
7	Bairro Marajoara, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo
8	Carlos Chagas MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
9	Hospital Santa Rosália, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo
10	Ouro Verde, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
11	Hospital Santa Rosália, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo
12	Bairro Manoel Pimenta, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
13	Ipiranga, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
14	Escola Grão Pará, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
15	Marajoara, T.O, MG	Positivo/Negativo	Sem crescimento	Positivo
16	Novo Cruzeiro, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
17	Caraí, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
18	Centro, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo
19	Bairro Tabajaras, T.O, MG	Positivo/Negativo	Positivo	Positivo
20	São Diogo, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo
21	Bela Vista, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
22	Caraí, MG	Positivo	Positivo	Positivo
23	Bairro Manoel Pimenta, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo

2 4	Setubinha, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
2 5	Novo Cruzeiro, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
2 6	Catuji, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
2 7	Vila Pedrosa, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
2 8	Centro, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo
2 9	Centro, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
3 0	Carai, MG	Positivo	Sem Crescimento	Positivo
3 1	Bairro São Jacinto, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
3 2	Bairro São Jacinto, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
3 3	Medina, MG	Positivo/Negativo	Positivo/Negativo	Positivo
3 4	Mucuri, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
3 6	Novo Oriente, MG	Positivo	Positivo/negativo	Positivo
3 7	Bairro São Jacinto, T.O, MG	Positivo	Positivo	Positivo/ Negativo
3 8	Malacacheta, MG	Positivo	Negativo	Positivo
3 9	Hospital Santa Rosália, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
4 0	Novo Oriente, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo
4 1	Distrito de Carai	Positivo	Sem crescimento	Positivo
4 2	Ouro Verde, MG	Positivo	Sem Crescimento	Positivo
4 3	Centro, T.O, MG	Positivo	Sem crescimento	Positivo

Anexo II – Resultados dos testes de Gram

Teste de Gram

Nº	Ágar Padrão	MH	EMB
1	Gram +	Gram +	Gram -
2a	Gram +	Gram +	
2b	Gram -	Gram -	
3a	Gram -	Gram -	
3b	Gram -	Gram -	
3c	Gram -	Gram -	
4a	Gram +	Gram +	Gram -
4b	Gram +		
5a	Gram +	Gram -	Sem Crescimento
5b		Gram -	
6a	Gram -	Gram -	Gram -
6b	Gram -	Gram -	
7a	Gram -	Gram -	Gram -
7b		Gram -	
8a	Gram -	Gram +	Sem Crescimento
8b	Gram +	Gram -	Sem Crescimento
9a	Gram -	Gram -	Gram -
9b	Gram -	Gram -	
10a	Gram +	Gram +	Sem Crescimento
10b	Gram +	Gram +	
11a	Gram -	Gram +	Gram -
11b	Gram -	Gram -	
12a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
12b	Gram +	Gram -	
13a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
13b	Gram -	Gram -	
14	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
15a	Gram -	Gram +	Sem Crescimento
15b	Gram -	Gram -	
16a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
16b	Gram -	Gram -	
16c		Gram -	
17a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
17b	Gram -	Gram -	

18a	Gram -	Gram -	Gram -
18b	Gram -		
19a	Gram +	Gram -	Gram -
19b	Gram -	Gram -	
19c		Gram +	
20a	Gram -	Gram -	Gram -
20b		Gram +	
21a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
21b		Gram +	
22a	Gram +	Gram +	Gram -
22b	Gram -		Gram -
23a	Gram -	Gram -	Gram -
23b	Gram -		
23c	Gram -		
24a	Gram +	Gram +	Sem Crescimento
24b	Gram +		
25a	Gram +	Gram +	Sem Crescimento
25b	Gram +		
26a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
26b	Gram -	Gram +	
27a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
27b	Gram -		
28a	Gram -	Gram -	Gram -
28b		Gram -	
29a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
29b	Gram +	Gram -	
30	Gram +	Gram -	Gram -
31a	Gram +	Gram -	Sem Crescimento
31b	Gram -		
32a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
32b	Gram -		
32c	Gram -		
33a	Gram +	Gram +	Gram -
33b	Gram -	Gram +	Gram -
34a	Gram -	Gram +	Sem Crescimento
34b	Gram +	Gram -	
35a	Gram -	Gram -	Gram -
35b	Gram -	Gram -	
35c	Gram -	Gram -	
36a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
36b		Gram -	
36c		Gram -	
37a	Gram +	Gram +	Sem Crescimento
37b	Gram +		
38	Gram +	Gram +	Sem Crescimento
39a	Gram -	Gram +	Sem Crescimento
39b	Gram -		

40a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
41b	Gram +	Gram -	
41a	Gram -	Gram -	Sem Crescimento
41b		Gram -	
42	Gram +	Gram +	Sem Crescimento
43a	Gram +		Sem Crescimento
43b	Gram -	Gram -	

Anexo III – Resultados da análise microscópica das colônias de bactérias.

Nº	AP	MH	EMB
1	Estafilococos	Estafilococos	Estafilococos
2a	Estafilococos	Estafilococos	
2b	Estafilococos	Estafilococos	
3a	Estafilococos	Estafilococos	
3b	Estafilococos	Estafilococos	
3c	Estafilococos	Estafilococos	
4a	Estafilococos	Estafilococos	Estafilococos
4b	Estreptococos		
5a	Estafilococos	Estreptococos	
5b		Estafilococos	
6a	Estreptococos	Estreptococos	
6b	Estreptococos	Estafilococos	
7a	Estafilococos	Estafilococos	
7b		Estafilococos	
8a	Estreptococos	Estafilococos	
8b	Estafilococos	Estafilococos	
9a	Estafilococos	Estreptococos	Estreptococos
9b	Estafilococos	Estreptococos	
10a	Estafilococos	Estreptococos	
10b	Estafilococos	Estreptococos	
11a	Estafilococos	Estafilococos	Estreptococos
11b	Estafilococos	Estreptococos	
12a	Estafilococos	Estafilococos	
12b	Estreptococos	Estreptococos	
13a	Estafilococos	Estafilococos	Estafilococos
13b	Estreptococos	Estafilococos	
14	Estafilococos	Estafilococos	
15a	Estreptococos	Estreptococos	
15b	Estafilococos	Estreptococos	
16a	Estreptococos	Estafilococos	
16b	Estreptococos	Estafilococos	
16c		Estafilococos	
17a	Estafilococos	Estreptococos	
17b	Estafilococos	Estafilococos	
18a	Estafilococos	Estafilococos	Estafilococos
18b	Estafilococos		

19a	Estreptococos	Estreptococos	Estreptococos
19b	Estreptococos	Estreptococos	
19c		Estreptococos	
20a	Estreptococos	Estreptococos	Sem amostra
20b		Estafilococos	
21a	Estreptococos	Estreptococos	Estreptococos
21b		Estreptococos	
22a	Estreptococos	Estreptococos	Estreptococos
22b	Estreptococos		Estreptococos
23a	Estreptococos	Estreptococos	Estreptococos
23b	Estafilococos		
23c	Estreptococos		
24a	Estafilococos	Estreptococos	
24b	Estafilococos		
25a	Estafilococos	Estafilococos	
25b	Estreptococos		
26a	Estafilococos	Estreptococos	
26b	Estreptococos	Estafilococos	
27a	Estafilococos	M.H._ STAPHILOCOCUS	
27b	Estafilococos		
28a	Estreptococos	Estreptococos	Estreptococos
28b		Estreptococos	
29a	Estreptococos	Estafilococos	
29b	Estafilococos	Estreptococos	
30	Estafilococos	Estafilococos	Sem amostra
31a	Estafilococos		
31b	Estreptococos		
32a	Estafilococos	Estafilococos	
32b	Estreptococos		
32c	Estafilococos		
33a	Estreptococos	Estafilococos	Sem amostra
33b	Estreptococos	Estreptococos	Sem amostra
34a	Estreptococos	Estafilococos	
34b	Estafilococos	Estreptococos	
35a	Estafilococos	Estreptococos	Estafilococos
35b	Estafilococos	Estreptococos	
35c	Estreptococos	Estreptococos	
36a	Estafilococos	Estreptococos	Estafilococos
36b		Estreptococos	
36c		Estreptococos	
37a	Estafilococos	Estafilococos	Estafilococos
37b	Estreptococos		
38	Estafilococos	Estafilococos	Estafilococos
39a	Estreptococos	Estafilococos	
39b	Estreptococos		
40a	Estreptococos	Estreptococos	

41b	Estafilococos	Estreptococos
41a	Estafilococos	Estafilococos
41b		Estafilococos
42	Estafilococos	Estafilococos
43a	Estreptococos	Estreptococos
43b	Estafilococos	Estreptococos