

Avaliação microbiológica de vasos sanitários em ambientes públicos e residenciais com isolamento de bactérias gram-negativas em meios seletivos e diferenciais

Microbiological evaluation of toilet seats in public and residential environments with isolation of gram-negative bacteria in selective and differential media

Camille Vitória Pinheiro dos Santos¹, Millena Bronze Macioni¹, Pollyana Maria Saud Melo¹

¹Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, UNIP, Santana de Parnaíba - SP, Brasil.

Resumo

Objetivo- Avaliar a presença de bactérias Gram-negativas em assentos sanitários de ambientes públicos e residenciais antes e após desinfecção com álcool 70%, utilizando meios seletivos e diferenciais. **Métodos-** Trata-se de um estudo experimental de abordagem qualitativa realizado por meio da coleta microbiológica de amostras obtidas de assentos sanitários de ambientes públicos (G1) e residenciais (G2). Foram avaliados cinco sanitários públicos e cinco residenciais, com coletas realizadas antes e após a desinfecção com álcool 70%, utilizando swabs estéreis, totalizando 20 amostras. As amostras foram semeadas em Ágar MacConkey e Salmonella-Shigella, seguidas de incubação bacteriana e identificação presumtiva por meio de testes bioquímicos, incluindo EPM, MILi e Citrato de Simmons. Por se tratar de coleta microbiológica ambiental sem envolvimento direto de seres humanos, não houve necessidade de submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa. **Resultados-** Observou-se crescimento bacteriano predominantemente em amostras provenientes de ambientes públicos. Foram identificados perfis compatíveis com bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli* (28,6%), *Klebsiella spp.* (14,3%), *Enterobacter spp.* (14,3%) e bacilos Gram-negativos não fermentadores (28,6%). Em contrapartida, as amostras provenientes de ambientes residenciais não apresentaram crescimento bacteriano. Após desinfecção com álcool 70%, verificou-se redução significativa do crescimento microbiano, embora algumas amostras ainda apresentassem desenvolvimento bacteriano residual. **Conclusão-** Os resultados demonstraram maior contaminação microbiológica em sanitários públicos quando comparados aos residenciais, além de redução significativa após a desinfecção com álcool 70%, evidenciando a importância da higienização adequada dessas superfícies na prevenção da disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos.

Descritores: Microbiologia; Bactérias; Antibacterianos; Contaminação Biológica; Meio ambiente; Saúde ambiental; Esterelização; Infecção hospitalar; Saúde Pública.

Abstract

Objective- To evaluate the presence of Gram-negative bacteria on toilet seats in public and residential environments before and after disinfection with 70% alcohol, using selective and differential media. **Methods-** This is an experimental study with a qualitative approach, carried out through the microbiological collection of samples obtained from toilet seats in public (G1) and residential (G2) environments. Five public and five residential toilets were evaluated, with samples collected before and after disinfection with 70% alcohol, using sterile swabs, totaling 20 samples. The samples were seeded on MacConkey and Salmonella-Shigella agar, followed by bacterial incubation and presumptive identification through biochemical tests, including EPM, MILi, and Simmons citrate. Because this was an environmental microbiological collection without direct involvement of human beings, there was no need for submission to the Research Ethics Committee. **Results-** Bacterial growth was observed predominantly in samples from public environments. Profiles consistent with Gram-negative bacteria, such as *Escherichia coli* (28,6%), *Klebsiella spp.* (14,3%), *Enterobacter spp.* (14,3%), and non-fermenting Gram-negative bacilli (28,6%), were identified. In contrast, samples from residential environments showed no bacterial growth. After disinfection with 70% alcohol, a significant reduction in microbial growth was observed, although some samples still showed residual bacterial development. **Conclusion-** The results demonstrated greater microbiological contamination in public restrooms compared to residential restrooms, as well as a significant reduction after disinfection with 70% alcohol, highlighting the importance of proper hygiene of these surfaces in preventing the spread of potentially pathogenic microorganisms.

Descriptors: Microbiology; Bacteria; Antibacterial; Biological Contamination; Environment; Environmental health; Sterilization; Hospital infection; Public Health.

Introdução

O corpo humano possui um microbioma composto por diferentes sistemas, genética, estruturas, metabolismo e metabólitos, em um ambiente de interação diversificado. Esse microbioma pode ser subdividido em microbiota, que apresenta comunidades de microrganismos adaptados às características da mucosa em que estão inseridos.¹

A microbiota intestinal é formada por uma pluralidade de microrganismos não apenas devido às condições do meio, mas também em função da variabilidade genética do hospedeiro. Ao longo da vida, fatores

como idade, alimentação, morfologia intestinal e uso de medicamentos podem modificar essa composição, interferindo na relação simbiótica entre hospedeiro e microrganismos. Durante a infância, observa-se crescimento de determinados grupos bacterianos, enquanto na velhice há redução significativa dessa diversidade.²

Alguns dos principais gêneros bacterianos presentes no intestino são *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Lactobacillaceae*, *Streptococci* e *Enterobacteria*. Além destes, também são encontradas *Verrucomicrobia*, *Fusobactérias*, *Proteobactérias*,

fungos e vírus. O conjunto desses microrganismos exerce funções essenciais para o equilíbrio do organismo, proporcionando bem-estar, proteção e manutenção da homeostase.¹

As bactérias comensais possuem características que proporcionam a fixação e colonização na mucosa intestinal, no entanto essas características não se restringem a elas, pois bactérias patogênicas/opportunistas também possuem características morfológicas que viabilizam a invasão, gerando doenças ao hospedeiro, principalmente, em um ambiente com disbiose. Um grande exemplo é a utilização de medicamentos que alteram a flora intestinal, fazendo com que organismos oportunistas como *Clostridium difficile* causem uma inflamação intestinal conhecida como colite.^{3,4}

As enterobactérias são bacilos Gram-negativos, com metabolismo anaeróbio facultativo. Algumas espécies apresentam mobilidade por meio dos flagelos. Esse grupo é frequentemente denominado bactérias entéricas, pois colonizam a mucosa intestinal. principais gêneros da família *Enterobacteriaceae*, encontram-se microrganismos de grande importância clínica, como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* e *Klebsiella*, frequentemente associados a surtos de infecções.⁵

Além disso, essas bactérias possuem fímbrias, que favorecem sua aderência a superfícies e membranas mucosas, um fator crucial na colonização e na patogenicidade. Outra estrutura presente em algumas espécies são os pili sexuais, responsáveis pela transferência horizontal de genes entre células bacterianas. Esse mecanismo é particularmente preocupante, pois frequentemente envolve genes de resistência antimicrobiana, favorecendo a disseminação de cepas multirresistentes.⁵

Por isso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) realizou uma lista com os tipos de bactérias patogênicas que necessitam de novos antibióticos, entre elas destacam-se *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. (prioridade crítica), *Salmonella* spp. (alta prioridade) e *Shigella* spp. (prioridade média).⁶ Do ponto de vista metabólico, destacam-se por serem fermentadoras de glicose e outros carboidratos, característica importante para sua identificação em laboratório. Devido à sua relevância clínica e epidemiológica, diferentes métodos de isolamento e caracterização bioquímica são utilizados na microbiologia clínica.⁵

As superfícies de uso coletivo podem atuar como importantes reservatórios de microrganismos potencialmente patogênicos, contribuindo para a disseminação de infecções na comunidade¹. Entre essas superfícies, os assentos sanitários merecem destaque devido ao contato frequente com secreções humanas e à possibilidade de contaminação fecal.³

A presença de bactérias Gram-negativas em banheiros públicos tem sido amplamente reportada na literatura, ressaltando esses ambientes como potenciais reservatórios microbianos. Um estudo realizado em banheiros de grande circulação identificou a presença

de espécies como *Klebsiella pneumoniae*, algumas indicando que mesmo procedimentos de limpeza rotineiros podem não ser suficientes para eliminar tais microrganismos.⁷

Além disso, comparações entre banheiros domésticos e públicos também revelaram diferenças significativas na carga bacteriana. Enquanto superfícies residenciais frequentemente apresentam maior diversidade de microrganismos de pele, botões de descarga e assentos de vasos sanitários públicos mostraram maior frequência de coliformes fecais, especialmente *Escherichia coli*. Mesmo após higienização, certas superfícies permaneceram contaminadas, evidenciando a resiliência dessas bactérias em ambientes úmidos e de alto contato.⁸

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de bactérias Gram-negativas em assentos sanitários de ambientes públicos e residenciais antes e após desinfecção com álcool isopropílico 70%, utilizando meios seletivos e diferenciais para isolamento microbiológico.

Métodos

Trata-se de um estudo experimental, qualitativo e comparativo realizado por meio da coleta microbiológica de amostras obtidas de assentos sanitários em ambientes públicos e residenciais.

Foram selecionados dez vasos sanitários, sendo cinco localizados em ambientes públicos, incluindo shopping, ambiente hospitalar, rodoviária, galeria e estação de trem e cinco provenientes de residências familiares com até cinco moradores.

As amostras foram coletadas com swabs estéreis secos, friccionados em toda área do assento do vaso sanitário em dois momentos distintos: (T0) antes da higienização e (T1) após 1 minuto da aplicação do lenço com o álcool isopropílico 70% Cleantouch®. Após a coleta, os swabs foram acondicionados em meio de transporte *Carry-Blair*, devidamente lacrados e identificados conforme ambiente, data e horário da coleta. Durante o transporte até o laboratório, as amostras permaneceram em bolsa térmica contendo gelo reciclável, a fim de manter condições adequadas de conservação.

Inicialmente, as amostras foram semeadas pela técnica de estria quantitativa nos meios seletivos e diferenciais Ágar MacConkey e Ágar Salmonella-Shigella (SS) com divisão nas placas para otimização do meio, sendo realizado o registro fotográfico imediatamente após a inoculação, antes do período de incubação.

Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foram realizadas análises macroscópicas das colônias, considerando presença ou ausência de crescimento microbiológico e características fenotípicas observadas.

Após o desenvolvimento das amostras em meios seletivos, foram escolhidas colônias isoladas para

inoculação em meios bioquímicos, com a finalidade de investigar suas propriedades metabólicas. Utilizaram-se os meios EPM-MILi New prov®, Citrato de Simmons New prov® e EPM com ureia New prov®, sendo incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Por se tratar de coleta microbiológica ambiental sem envolvimento direto de seres humanos, não houve necessidade de submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa.

Resultados

Após a incubação em ágar seletivos para bactérias Gram-negativas, foram avaliadas as culturas provenientes de ambientes residenciais e públicos, bem como as amostras coletadas após a desinfecção com álcool 70%.

Nas amostras provenientes de ambientes residenciais, não foi observado crescimento microbiológico nos meios de cultura utilizados, tanto nas coletas realizadas antes quanto após a desinfecção, conforme ilustrado na Figura 1.

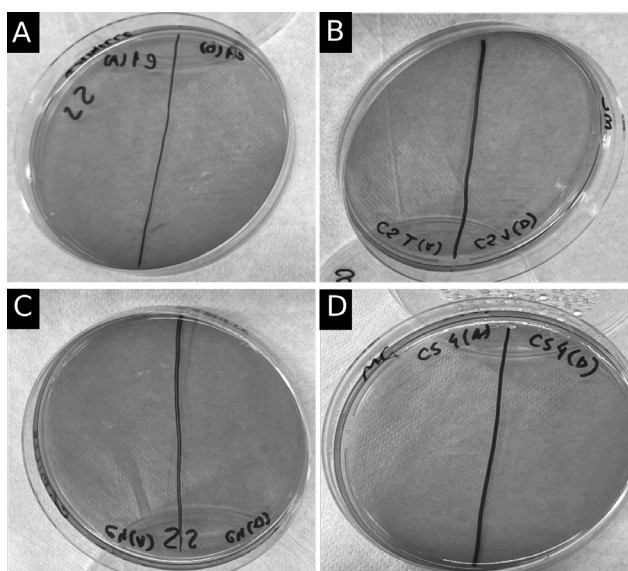


Figura 1. Imagens representativas das amostras provenientes de ambientes residenciais após incubação em Ágar Salmonella-Shigella (A e C) e Ágar MacConkey (B e D), demonstrando ausência de crescimento microbiológico.

Em contraste com as amostras residenciais, as amostras coletadas em assentos sanitários públicos apresentaram crescimento microbiológico na maioria dos casos antes da desinfecção. Entre os locais públicos avaliados, a Galeria, a Rodoviária, o Shopping e a Estação apresentaram crescimento bacteriano antes da desinfecção, enquanto o hospital público não demonstrou crescimento microbiológico nas condições analisadas.

No Ágar MacConkey, observou-se a presença de unidades formadoras de colônias (UFC) com coloração rosada, sugestivas de fermentação de lactose, bem como colônias incolores indicativas de microrganismos não fermentadores desse componente.

Já no Ágar SS, foi observado o crescimento de colônias predominantemente incolores com o fundo amarelado, sugerindo a presença de microrganismos não fermentadores de lactose. Não foram evidenciadas formações características de produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S).

As amostras foram semeadas em placas subdivididas, possibilitando a análise simultânea sob diferentes condições experimentais, o que permitiu a comparação direta entre os períodos pré e pós-desinfecção. De modo geral, verificou-se maior desenvolvimento de colônias nas amostras coletadas antes da aplicação do álcool 70%, enquanto as amostras pós-desinfecção apresentaram redução expressiva com apenas crescimento residual em alguns locais, especialmente nas amostras provenientes da Estação e do Shopping no meio SS com 1 unidade formadora de colônia em cada. As Figuras 2 a 5 ilustram os resultados obtidos.

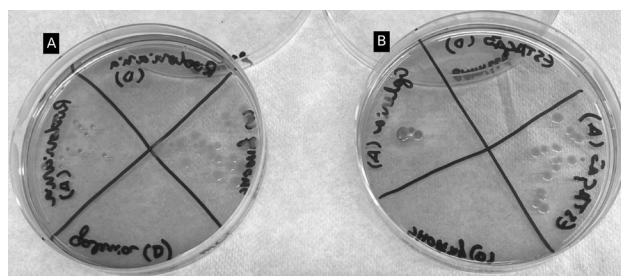


Figura 2. Resultados microbiológicos obtidos antes (A) e após (D) a desinfecção com álcool 70% no Ágar MacConkey.

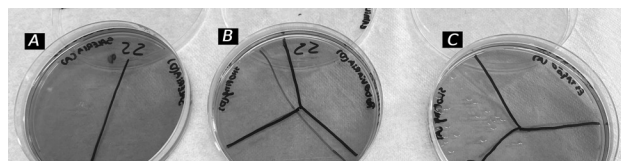


Figura 3. Resultados microbiológicos obtidos antes (A) e após (D) a desinfecção com álcool 70% no Ágar Salmonella-Shigella.

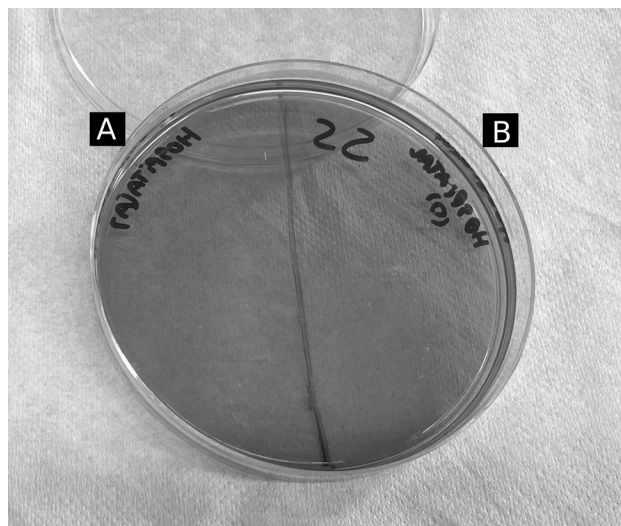


Figura 4. Resultados obtidos no Ágar Salmonella-Shigella antes e após a desinfecção com álcool 70% em amostra de ambiente hospitalar, sem crescimento microbiológico.

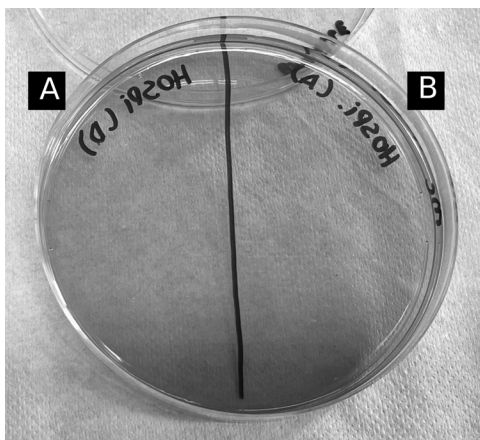


Figura 5. Resultados obtidos no MacConkey antes e após a desinfecção com álcool 70% em amostra de ambiente hospitalar, sem crescimento microbiológico.

A caracterização bioquímica dos isolados permitiu identificações presuntiva compatíveis com *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* e bacilos Gram-negativos não fermentadores (Tabela 1) e Figuras representativas de cada perfil de 6 a 9.

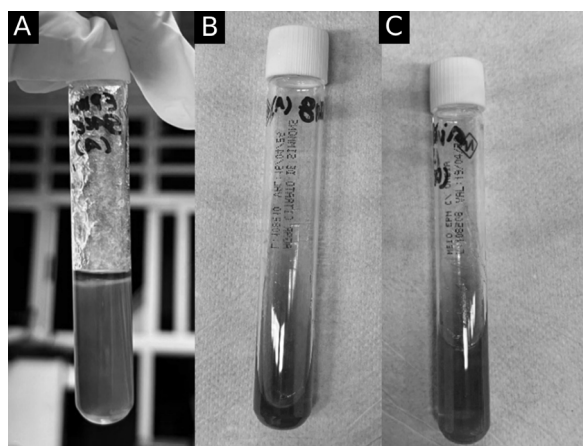


Figura 6. Perfil bioquímico representativo compatível com *Escherichia coli* obtido nos meios EPM (A), MILi (B) e Citrato de Simmons (C).

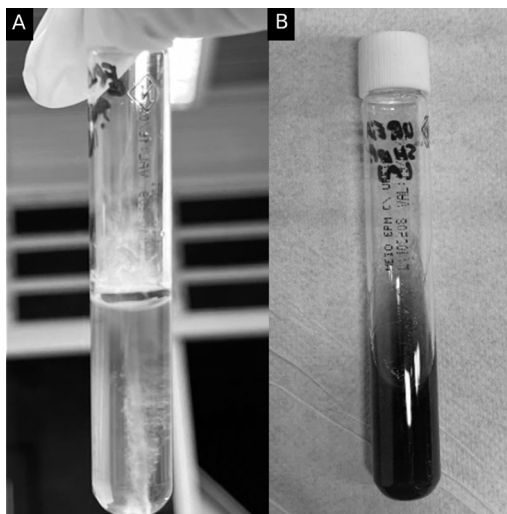


Figura 7. Perfil bioquímico representativo compatível com *Klebsiella spp.* obtido nos meios EPM (A), MILi (B) e Citrato de Simmons (C).

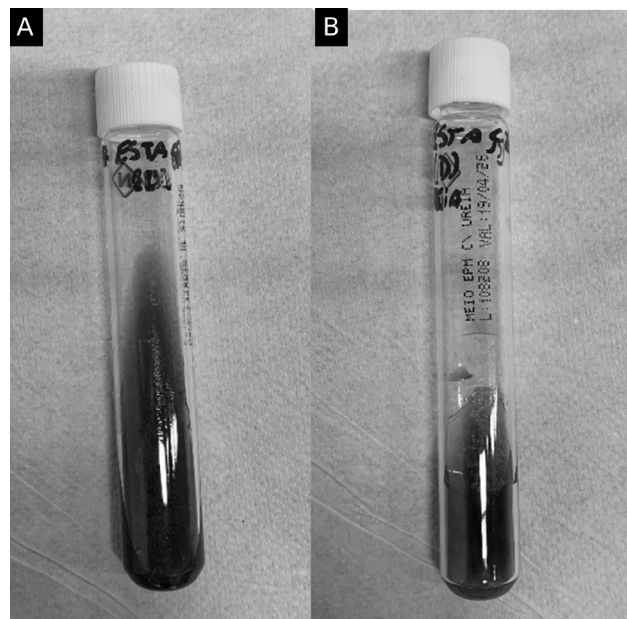


Figura 8. Perfil bioquímico representativo compatível com Bacilos não fermentadores obtido nos meios EPM (A), MILi (B) e Citrato de Simmons (C).

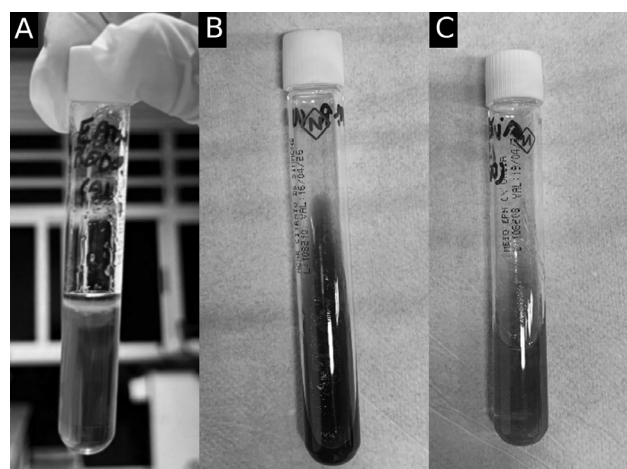


Figura 9. Perfil bioquímico representativo compatível com *Enterobacter spp.* obtido nos meios EPM (A), MILi (B) e Citrato de Simmons (C).

A presença de *Escherichia coli* foi observada principalmente em amostras provenientes da Galeria e da Estação, enquanto perfis compatíveis com *Klebsiella spp.* foram identificados no Shopping e *Enterobacter spp.* na Rodoviária. Em algumas amostras, os perfis bioquímicos divergentes sugeriram possível presença de culturas mistas.

Na análise de frequência relativa, *Escherichia coli* e os bacilos Gram-negativos não fermentadores apresentaram maior frequência entre os isolados identificados, ambos correspondendo a 28,6% das amostras caracterizadas. Já *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* e enterobactérias com perfil não definido corresponderam individualmente a 14,3% dos isolados (Tabela 2).

Tabela 1. Resumo da Caracterização Bioquímica e Identificação Presuntiva

Local	Situação	Meio	Perfil chave	Identificação Presuntiva
Galeria	Antes (colônia rosa)	Mac	Lac (+), Indol (+), Cit (-), Mot (+), Lis (+), Glicose (+)	<i>Escherichia coli</i>
Galeria	Antes (colônia incolor)	Mac	Lac (-), Cit (+), Indol (+), Mot (+), Lis (+), Glicose (+), Gás (+)	<i>Sugestivo de enterobactérias (possível cultura mista)</i>
Shopping	Antes	Mac	Lac (+ leve), Indol (+), Mot (-), Lis (+), Glicose (+), Ureia (+)	<i>Klebsiella spp.</i> (Compatível com <i>K. oxytoca</i>)
Estação	Antes	Mac	Lac (+ leve), Indol (+), Mot (+), Lis (+), Glicose (+), Gás (+) Cit (±)	<i>Escherichia coli</i>
Estação	Depois	SS	Lac (-), Glicose (-), Gás (+), Cit (+)	Bacilos Gram-negativos não fermentadores
Rodoviária	Antes	Mac	Lac (+ leve), Cit (+), Mot+, Indol -, Lis (+), Glicose (±)	<i>Enterobacter spp.</i>
Rodoviária	Antes	SS	Lac (-), Cit (-), Gás (-) H ₂ S (-) Glicose (-)	Bacilos Gram-negativos não fermentadores

Fonte: Própria do autor, 2026

Nota: Lac = lactose; Cit = citrato; Mot = motilidade; Lis = lisina. (+) positivo; (-) negativo; (±) reação parcial.

Tabela 2. Frequência relativa (%)

Microrganismos	Quantidade (n)	Frequência Relativa (%)
<i>Escherichia coli</i>	2	28,6%
Bacilo Gram-negativos não Fermentadores	2	28,6%
<i>Enterobactérias (perfil não definido)</i>	1	14,3%
<i>Klebsiella spp.</i>	1	14,3%
<i>Enterobacter sp.</i>	1	14,3%
TOTAL	7	100%

Fonte: Própria do autor, 2026

Nota: Frequência calculada em relação ao total de isolados caracterizados.

Discussão

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram diferenças entre ambientes públicos e residenciais quanto à presença de bactérias Gram-negativas em assentos sanitários. A ausência de crescimento microbiológico nas amostras provenientes de ambientes residenciais sugere menor carga microbiana nesses locais, possivelmente associada à menor circulação de indivíduos e à maior frequência de higienização. Em contrapartida, os ambientes públicos apresentaram crescimento microbiológico significativo antes da desinfecção, corroborando estudos que descrevem esses locais como importantes reservatórios de microrganismos potencialmente patogênicos.^{7,8}

A predominância de enterobactérias, com destaque para *Escherichia coli*, observada neste estudo, sugere contaminação de origem fecal, achado frequentemente associado a superfícies sanitárias de uso coletivo⁹. Além disso, a identificação presuntiva de *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* demonstra a diversidade microbiológica presente nos ambientes analisados. A presença de colônias fermentadoras de lactose em Ágar MacConkey, associada aos resultados dos testes bioquímicos, possibilitou a identificação presuntiva

dos microrganismos isolados. Perfis compatíveis com *Escherichia coli* apresentaram características como indol positivo, motilidade e fermentação da glicose, enquanto amostras compatíveis com *Klebsiella spp.* demonstraram urease positiva e ausência de motilidade. Já os isolados compatíveis com *Enterobacter spp.* apresentaram citrato positivo associado à motilidade. Esses achados demonstram a importância da utilização combinada de meios seletivos e provas bioquímicas para caracterização microbiológica⁵.

A detecção de bacilos Gram-negativos não fermentadores em algumas amostras evidencia a diversidade bacteriana presente nos sanitários analisados. Além disso, em determinadas amostras, os perfis bioquímicos divergentes sugeriram possível presença de culturas mistas, condição frequentemente observada em amostras ambientais.

Em relação à desinfecção com álcool isopropílico 70%, observou-se redução significativa do crescimento microbiano após a higienização, demonstrando a eficácia do procedimento na diminuição da carga bacteriana presente nas superfícies analisadas⁵. Entretanto, a persistência de crescimento residual em algumas amostras indica que a desinfecção pode não

promover eliminação completa dos microrganismos em todas as situações, possivelmente devido à presença de matéria orgânica, tempo insuficiente de contato ou recontaminação da superfície^{7,8}.

De forma geral, os achados deste estudo reforçam a importância da higienização adequada de superfícies sanitárias em ambientes públicos, bem como do monitoramento microbiológico como ferramenta auxiliar na prevenção da disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos.

Conclusão

Os resultados deste estudo evidenciaram a presença de bactérias Gram-negativas em superfícies de assentos sanitários da maioria dos ambientes públicos analisados, com predominância de enterobactérias, especialmente *Escherichia coli*, sugerindo contaminação de origem fecal. Entretanto, não foi observado crescimento microbiológico nas amostras provenientes de ambientes residenciais, indicando menor carga microbiana nesses locais.

Além disso, a desinfecção com álcool 70% demonstrou eficácia na redução da carga microbiana, evidenciada pela diminuição do crescimento bacteriano após a higienização, embora não tenha promovido eliminação completa dos microrganismos em todas as superfícies analisadas.

Ademais, o estudo possibilitou a análise da variação entre os locais de coleta, com maior diversidade microbiológica em ambientes com maior circulação de pessoas.

Em complemento, os testes bioquímicos possibilitaram a caracterização presuntiva dos isolados, evidenciando diversidade metabólica e, em alguns casos, indicando a presença de culturas mistas, o que reforça a necessidade de análises complementares para identificação mais precisa.

Dessa forma, os achados ressaltam a importância da higienização adequada em ambientes públicos e do monitoramento microbiológico como ferramentas fundamentais na prevenção da disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos.

Referências

1. Hou K, Wu ZX, Chen XY, Wang JQ, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7:135.
2. Bello MGD, Knight R, Gilbert JA, Blaser MJ. Preserving microbial diversity. *Science*. 2018;362(6410):33-4. doi: 10.1126/science.aau8816.
3. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(1):20-32. doi: 10.1038/nrmicro3552
4. Britton RA, Young VB. Role of the Intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1547-53. doi: 10.1053/j.gastro.2014.01.059
5. Tortora GJ, Funke BR, Case CL, Bair WB III, Weber D. *Microbiologia*. 14ª ed. Porto Alegre: ArtMed; 2025.
6. Pan American Health Organization. OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente [Internet]. Washington (DC): PAHO; 2017 [acesso 10 set 2025]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>
7. Ibrahim K, Tahsin M, Rahman A, Rahman SM, Rahman MM. Surveillance of bacterial load and multidrug-resistant bacteria on surfaces of public restrooms. *Int J Environ Res Public Health*. 2024;21(5):574. doi: 10.3390/ijerph21050574
8. Gerba CP, Boone SA, McKinney J, Ijaz MK. Bacterial contamination of public and household restrooms, and implications for the potential risk of norovirus transmission. *Hygiene [Internet]*. 2025 [acesso 10 set 2025];5(3):27. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/hygiene5030027>
9. World Health Organization. *E. coli* [Internet]. 2018 [acesso 10 set 2025]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Autor correspondente:

Camille Vitória Pinheiro dos Santos
Rua Santa Josefina Bakhita, 130
Osasco - SP, CEP 06160-209
Brasil

E-mail: vitoriacamille2510@gmail.com

Recebido em: 06 de março de 2026
Aceito em: 26 de março de 2026