

## ANTISSEPSIA DE MÃOS: EXPERIMENTOS DE PRICE

### Objetivos

- Verificar a microbiota residente presente na pele.
- Observar a eficácia da lavagem das mãos e do uso de um antisséptico na redução dos microorganismos da pele.

### Introdução

As mãos constituem um dos elos mais importantes na cadeia da infecção cruzada. A quantidade de microrganismos constituintes da microflora normal da pele de um profissional da área de saúde deve ser reduzida, assim como possíveis microrganismos patogênicos presentes devem ser eliminados.

## PRIMEIRA AULA

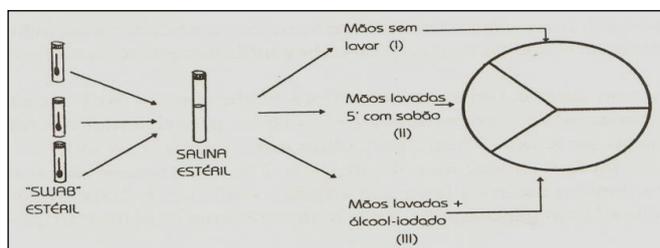
### MATERIAL NECESSÁRIO

- placa de Agar BHI;
- caneta para escrever em vidro;
- três swabs esterilizados;
- tubo contendo 2ml de solução salina estéril;
- frasco contendo sabão líquido;
- frasco contendo álcool-iodado.

### PROCEDIMENTOS

- Dividir o fundo da placa de Petri contendo ágar-BHI em três partes com caneta. Identificar a placa (escrever nome e data);
- Retirar um swab do tubo, com assepsia, umidecê-lo em salina estéril e esfregar sobre a pele da palma da mão. Em seguida semear 1/3 da placa de ágar-BHI com o swab, identificando “mãos sem lavar (I)”;
- Lavar as mãos com sabão, vigorosamente, em todas as superfícies, durante 3 minutos (deve-se utilizar escovas estéreis). A seguir pegar outro swab esterilizado, umedecer em salina esterilizada e esfregar na pele das mãos lavadas. A seguir semear o segundo 1/3 da placa. Identificar: “mãos lavadas (II)”;
- Realizar antissepsia das mãos pré-lavadas (3 minutos com sabão) com álcool iodado (durante 1 minuto, deixando secar ao ar). A seguir utilizando-se de outro swab estéril, umedecido em salina também esterilizada, esfregar na palma da mão lavada e feito antissepsia, e semear na terceira parte do meio de cultura. Identificar: mãos com antissepsia (III). Seguir o esquema da Figura 1.

Figura 1. Esquema do experimento de Price (antissepsia das mãos)



## SEGUNDA AULA

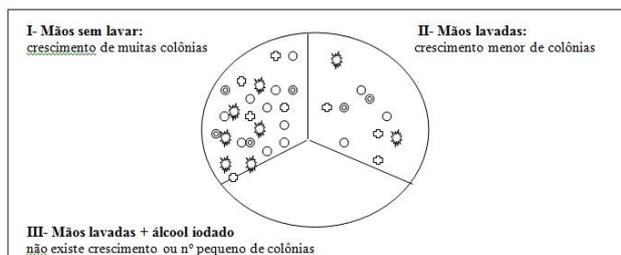
### MATERIAL NECESSÁRIO

- placa de ágar BHI semeada na aula passada;
- lâminas de microscopia;
- bateria de coloração de Gram;
- alça bacteriológica;
- microscópio;
- óleo de imersão;
- gaze e papel de filtro.

### INTERPRETAÇÃO

Observar o crescimento de colônias nas 3 partes da placa (ver Figura 2).

Figura 2. Resultados esperados do experimento de Price após a incubação



- Fazer esfregaços de 3 a 4 colônias diferentes, corar pelo Gram (identificar o tipo de colônia na lâmina) e observar em objetiva de imersão.

### Preparo do esfregaço:

- Pegar uma lâmina limpa no recipiente, secar e flambar rapidamente na chama do bico de Bunsen;
- Identificar o lado da lâmina onde será feito o esfregaço;
- Flambar a alça bacteriológica deixá-la esfriar e colocar na lâmina uma gota de solução salina fisiológica;
- Flambar a agulha bacteriológica, deixar esfriar próximo a chama, abrir a placa com a cultura teste e tocar a colônia escolhida para retirada da amostra,
- Esfregar o material com movimentos de rotação da alça bacteriológica, para se obter um esfregaço de forma oval, bem fino e uniforme;
- Deixar secar nas proximidades da chama;
- Fixar o esfregaço passando a lâmina (lado oposto ao esfregaço) 5 vezes na chama da lamparina (rapidamente).

### Método de Coloração de Gram:

- Cobrir toda a lâmina com solução cristal violeta (corante roxo), aguardar um minuto;
- Lavar rapidamente em água;
- Cobrir a lâmina com solução de Iugol (mordente) por um minuto;
- Lavar em água;
- Inclinar a lâmina e gotejar álcool absoluto (cerca de 15 segundos). Em seguida lavar a lâmina rapidamente em água corrente;
- Cobrir com fucsina e aguardar 30 segundos;
- Lavar a lâmina em água e secar (sem esfregar);
- Colocar uma gota de óleo de imersão sobre a lâmina e observar em objetiva de imersão (100x).

**RESULTADO:** bactérias Gram-positivas: **roxo**; bactérias Gram-negativas: **rosa/vermelho**

Soluções em ordem de aplicação	Reação do aspecto das bactérias Gram (+)	Reação do aspecto das bactérias Gram(-)
Cristal violeta	Coradas em violeta	Coradas em violeta
Solução de Iugol	Formação do complexo CV-I no interior da célula, que permanece violeta	Formação do complexo CV-I no interior da célula, que permanece violeta
Álcool	Desidratação da parede celular, diminuição da porosidade e da permeabilidade; o complexo CV-I não pode sair da célula, que permanece violeta	Extração dos lipídeos da parede celular, aumento da porosidade; o complexo CV-I é removido da célula
Fucsina	A célula não é afetada, permanece violeta	A célula adquire o corante, tornando-se vermelha

### CONCLUSÕES DE PRICE

Em pesquisas bacteriológicas cuidadosas Price verificou a eficiência do método de antisepsia das mãos geralmente usado pelos cirurgiões, chegando as seguintes conclusões de grande interesse prático:

- Escovar as mãos com água e sabão, reduz a flora bacteriana de 50% a cada 6 minutos. Pode-se calcular, conhecendo o número de microrganismos preexistentes nas mãos, que seria necessário escová-las durante 2-3 horas para obter uma antisepsia satisfatória.
- Álcool a 77°GL e, melhor ainda, álcool iodado a 2%, mostram-se de grande eficácia, produzindo em 1 minuto o mesmo efeito que a água e sabão em 6-10 minutos.
- Esfregando-se o álcool com pano áspero, o efeito antisséptico é melhor do que pela simples imersão.

### QUESTIONÁRIO

- Descreva o experimento de Price, explicando detalhadamente todos os passos.
- Descreva a interpretação do experimento de Price.
- Qual a sequência para correta lavagem das mãos, antes do primeiro atendimento? Explique cada passo.

### RESULTADOS OBTIDOS:

.....

.....

.....

.....

.....