UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE BROCAS PARA DESGASTE DE ACRÍLICO

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Aluna: Alessandra Marçal Agostinho
Orientador: Prof. Dr. Wilson Matsumoto

Ribeirão Preto
2001

Agostinho, Alessandra Marçal
Avaliação da contaminação microbiana de brocas para desgaste de acrílico. Ribeirão Preto, 2001.
74 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Reabilitação Oral.
Orientador: Matsumoto, Wilson.

1. Brocas 2. Controle de infecção cruzada.

Este trabalho foi realizado no Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP e no Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

Dedicatória

Dedico este trabalho

Aos meus pais, **Maria Helena** e **Antônio Carlos**, exemplos de amor e honestidade, a quem devo tudo o que sou.

Aos meus irmãos **Cristiana** e **Fábio**, amigos acima de tudo.

À minha sobrinha, **Luiza**, que, em tão pouco tempo, me ensinou a amar incondicionalmente.

Agradecimentos especiais

A **Deus**, que me permitiu chegar até aqui.

Ao **Prof. Dr. Wilson Matsumoto,** meu orientador, pelos muitos ensinamentos desde a graduação e pela confiança que sempre depositou em mim.

À **Profª. Dr.ª Izabel Yoko Ito**, pela acolhida sem restrições, permitindo que eu compartilhasse de seu conhecimento e amizade.

Agradecimentos

À Comissão de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

A todos os Professores do Curso de Pós-graduação da FORP-USP, que contribuíram de maneira decisiva para a minha formação docente.

Ao Prof. Dr. Sylvestre Arnaldo Grandini, membro da banca examinadora da minha Dissertação, por tudo que sempre fez por mim.

Aos Profs. Drs. Osvaldo Luiz Bezzon, Regina Maura Fernandes, Míriam A. N. Matsumoto, Helena de Freitas Oliveira Paranhos, Rossana Pereira de Almeida Antunes e Alma Blásida C. E. B. Catirse, pela presença amiga, sempre disposta a ensinar.

À Profª. Drª. Mariane Gonçalves, relatora interna do meu projeto, pelas observações valiosas e incentivo na realização do trabalho.

Ao Prof. Dr. Sérgio Aparecido Torres, pelas sugestões oferecidas.

À Profª. Dr.ª Cristina Mizusaki, pelo paciente trabalho de execução das fotografias de microscopia.

À Profª. Fabiana Cristina Pimenta, Evandro Watanabe e Maraísa Palhão Verri, pela colaboração na parte experimental do trabalho e pela agradável convivência do Laboratório, que se transformou em amizade.

À Profª. Dr.ª Rosa Vitória Palamin Azevedo, pelo carinho com que sempre me tratou e pela disponibilidade de sempre ajudar.

Aos colegas de Pós-graduação Dalton M. Rodrigues, Sérgio C. Dias, Débora G. Frizzas, Renata C. Rodrigues, Andréia C. Reis, Rodrigo L. Matos, Renata Fernandes e José Aloísio Furlan, companheiros nesta jornada.

Ao Prof. Dr. César Bataglion, Profª. Solange Ap. N. Bataglion, Profª. Márcia Cristina Alvarez e Prof. Fabrício Magalhães pela convivência divertida das quintas-feiras e pela amizade de sempre.

Às secretárias da Seção de Pós-graduação da FORP: Izabel C. Galino Sola, Regiane C. Moi Sacilotto e Márcia Ap. C. Oliveira Bianco, pela atenção com que, em todos os momentos, me atenderam e por realizarem seu trabalho com seriedade.

Aos secretários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da FORP: Regiane de Cássia T. Damasceno, Arivaldo Proença e M. Tereza de Freitas Iossi, pela disponibilidade em ajudar a qualquer hora.

Às secretárias do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da FCFRP-USP: Vania Claudia de Albuquerque Ramirez, Amélia Regina A. Aguena Albuquerque e Wânia M. Tavares da Silva, pelas risadas, brincadeiras e ajudas mil.

À Benedita de Almeida Panari e M. Aparecida Joanin, pela ajuda na execução do trabalho e pelos bate-papos.

À Sabrina Pavam e Daniela de Biagi Freitas, colegas do Laboratório de Microbiologia, pelo incentivo constante e amizade.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro que viabilizou a realização deste trabalho.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

Resumo

1. INTRODUÇÃO **1**

2. REVISÃO DA LITERATURA **4**

3. PROPOSIÇÃO **13**

4. MATERIAL E MÉTODO **15**

4.1. Coleta das brocas 16

4.2. Questionário 17

4.3. Soluções, reativos e meios de cultura 19

4.4. Processamento microbiológico 36

Verificação da contaminação microbiana 36

Isolamento dos microrganismos 36

Identificação 36

Antibiograma 37

5. RESULTADOS **41**

5.1. Questionário 42

5.2. Verificação da contaminação microbiana 43

5.3. Isolamento dos microrganismos 44

5.4. Identificação 49

5.5. Antibiograma 51

6. DISCUSSÃO **57**

7. CONCLUSÕES **65**

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **67**

Summary

RESUMO

As brocas para desgaste de acrílico são instrumentos semi-críticos, no entanto, seu potencial de infecção cruzada tem sido menosprezado. O objetivo deste trabalho foi verificar a presença de microrganismos em brocas para desgaste de acrílico, consideradas prontas para uso, pertencentes a 80 graduandos da FORP-USP. Foi aplicado questionário abordando métodos de controle de infeção adotados para este instrumental e os microrganismos isolados foram identificados e submetidos a teste de sensibilidade a 12 agentes antimicrobianos. Apesar dos alunos conhecerem os métodos preconizados para a descontaminação das brocas, verificou-se um alto índice de contaminação (36,3%), sendo que algumas brocas estavam contaminadas por mais de um microrganismo. Foram isolados cocos e bacilos gram-positivos e bacilos gram-negativos, resistentes a antibióticos comumente utilizados em Odontologia como a penicilina, clindamicina e a eritromicina.

1. INTRODUÇÃO

Antes mesmo de constatar a existência de microrganismos e comprovar seu papel na etiologia das doenças, o homem já utilizava meios de impedir sua transmissão. Ainda que empíricas, medidas como o isolamento de indivíduos doentes e objetos por eles utilizados, a incineração dos mortos, o sepultamento de dejetos e o consumo de água fervida tinham por objetivo evitar o desenvolvimento de doenças em pessoas saudáveis pelo contato direto ou indireto com o doente, ou seja, evitar a infecção cruzada (ITO et al., 1998).

Os tempos mudaram, mas o objetivo do homem de evitar a transmissão de doenças permanece e se estende por todas as profissões da área da saúde.

Em Odontologia, a infecção cruzada pode ser definida como a disseminação de microrganismos no consultório entre dentista, auxiliares e pacientes, por meio de saliva, sangue, material, instrumental, aparelhos ou equipamentos contaminados e gotículas de Flügge e aerossóis. Gotículas de Flügge são partículas maiores que 9μm e, portanto, facilmente sedimentadas, enquanto que aerossóis são partículas menores que 9μm, passíveis de permanecerem no ar flutuando por longos períodos de tempo (ITO et al., 1998).

A boca do paciente é a maior fonte de infecção na clínica, seguida pelo biofilme formado no interior das mangueiras do equipo e que contamina a água utilizada no atendimento (COTTONE et al., 1996).

O tratamento odontológico é singular em virtude da proximidade de dentista e auxiliares com sua área de trabalho, a cavidade oral. Em nenhuma outra profissão há um contato tão contínuo e direto com tecidos traumatizados, saliva e sangue (HOVIUS, 1992). Além disso, o profissional, hoje, está diante de um número cada vez maior de pacientes idosos, em função do aumento da expectativa de vida da população, decorrente do avanço da Ciência e Tecnologia; pacientes com a imunidade alterada (transplantados, doentes de AIDS, estressados); bactérias resistentes a biocidas e doenças sem cura conhecida. É, portanto, imprescindível, que o cirurgião-dentista conheça os microrganismos patogênicos, suas fontes, e meios de contágio e atue no sentido de prevenir e controlar sua disseminação, preservando não só a sua saúde, mas também a de sua equipe de trabalho, de seus pacientes e de seus familiares (POSTGATE, 1992).

As regras propostas para garantir o controle de infecção cruzada ou a biossegurança no ambiente odontológico devem ser observadas durante todas as etapas de qualquer atendimento e abrangem o processamento do instrumental, incluindo-se as brocas para desgaste de acrílico. Estas brocas, por serem freqüentemente contaminadas com saliva e, eventualmente, com sangue, não podem ter seu potencial de transmissão de doenças menosprezado.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Medidas científicas para o controle de infecção cruzada foram iniciadas em meados do século XIX por Holmes, nos EUA, que estabeleceu que os médicos envolvidos com casos de febre puerperal deveriam interromper suas atividades profissionais por no mínimo um mês, se constatassem dois casos da doença em curto período de tempo (ITO et al., 1998).

A transmissibilidade de doenças infecciosas foi comprovada pelo médico húngaro Semmelweis, em 1847, em uma maternidade de Viena. Intrigado pelo fato de que a morte de parturientes por febre puerperal atendidas por estudantes de Medicina era maior do que as de atendidas por religiosas, Semmelweis verificou que a passagem dos estudantes da sala de necropsia diretamente para a sala de parto, sem a lavagem de mãos, era responsável pelas infecções. A partir de então, a anti-sepsia de mãos e braços dos estudantes com solução de água clorada, antes de entrarem nas enfermarias e após o atendimento de cada paciente, proposta pelo médico, passou a ser realizada (SANTOS, 1997). Esta conduta, mais incisiva do que a simples lavagem de mãos com água e sabão, reduziu drasticamente a taxa de mortalidade antes observada (HARBARTH, 2000).

A possibilidade de transmissão de microrganismos potencialmente patogênicos via consultório há muito preocupa e desafia os cirurgiões-dentistas. O controle de infecção como conceito formal na Odontologia existe, segundo SAVAGE & WALSH (1997), desde o início deste século, e se traduzia pela limpeza do instrumental antes do uso e estimativa do risco de contaminação em cada situação clínica.

De acordo com o Dr. Brian Shearer (1996), a primeira recomendação de controle de infecção foi lançada, em 1952, pela American Dental Association (ADA), e descrevia métodos de eliminação de microrganismos, enfatizando a lavagem do instrumental e a esterilização pelo calor (BEDNARSH & EKLUND, 1997).

Doenças como herpes, caxumba, hepatite B e tuberculose têm sido, ao longo do tempo, descritas como passíveis de transmissão via atendimento odontológico (LOTUFO & GIORGI, 1990).

Em 1957, MURRAY & SLACK descreveram potenciais fontes e vias de contaminação no consultório odontológico como toalhas, a seringa de ar e a

manipulação de roletes de algodão. Afirmaram, ainda, que o fato da cavidade oral ser colonizada por inúmeros microrganismos não é motivo para se ignorar os princípios de assepsia e permitir a introdução de microrganismos, que podem ser resistentes a antibióticos e que podem causar seqüelas indesejáveis.

PLEASURE et al. (1959) relataram os riscos do atendimento de pacientes acometidos por tuberculose, principalmente durante a realização de trabalhos protéticos, ressaltando a necessidade da utilização de medidas para prevenir a aquisição da doença.

Em 1978, a ADA sugeriu procedimentos para a redução da contaminação e infecção cruzada no consultório odontológico, colocando a história médica do indivíduo como primeiro passo para se identificar pacientes doentes ou com risco de serem portadores de doenças infecciosas. Estas medidas eram procedimentos de isolamento.

Mas, foi com o surgimento da AIDS, o desconhecimento de sua cura e a preocupação de que pudesse ser transmitida ocupacionalmente, que o controle de infecção passou a receber especial atenção. Na metade dos anos 80, a maioria das agências reguladoras do exercício da Odontologia passou a recomendar a adoção de precauções universais, em substituição aos procedimentos de isolamento até então aplicados (HARDIE, 1996).

O termo precauções universais foi utilizado pela primeira vez em 1987 pelo CENTERS FOR DISEASE CONTROL - CDC. Precauções universais são um conjunto de medidas empregadas com o objetivo de reduzir o risco de contaminação, preservando a saúde e proporcionando segurança aos profissionais e, assim, protegendo o paciente (CDC, 1987). Estas abrangem a vacinação de profissionais; a adequada paramentação durante o atendimento clínico e manuseio de material contaminado, com o uso de luvas e máscaras descartáveis, gorro, jaleco e óculos de proteção; a utilização de barreiras em equipamentos e a desinfecção e/ou esterilização de equipamentos e instrumental (CHRISTENSEN, 1993; MOLINARI, 1994; CANADIAN DENTAL ASSOCIATION - CDA, 1995) e partem do princípio que toda saliva, sangue ou fluido corporal está potencialmente infectado (SAMARANAYAKE, 1993; WOODS, 1997).

A adoção de precauções universais é uma conduta racional e justificada uma vez que não é possível identificar pacientes doentes ou portadores de doenças pelo exame clínico, já que somente uma pequena porcentagem de indivíduos manifesta sinais e sintomas no período do tratamento odontológico (MERCHANT & MOLINARI, 1990).

No Brasil, LIMA & ITO estabeleceram, em 1993, o Sistema BEDAC ou ABCDE de controle de infecção, uma designação distinta para as precauções universais, que, da mesma forma, preconiza a anti-sepsia de pacientes e profissionais, o uso de barreiras de proteção individual e em equipamentos, a utilização de conservantes e a execução de procedimentos de desinfecção e esterilização.

O Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo, com o objetivo de determinar medidas eficazes para o controle de doenças transmissíveis em estabelecimentos de assistência odontológica, baixou, em 1995, a Portaria CVS-11, que apresentou regras e instruções sobre biossegurança a serem seguidas em todo o Estado. Mais recentemente, a Resolução SS-15 de 18-1-1999 reiterou a necessidade da utilização de equipamentos de proteção individual (E.P.I.) e correta esterilização e desinfecção de equipamentos e instrumental, com o objetivo e assegurar a bioproteção de pacientes e profissionais.

Em 1999, o CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA (CFO), órgão brasileiro que regulamenta o exercício da profissão, lançou o Manual de Biossegurança, salientando que é obrigação dos cirurgiões-dentistas manter seu ambiente de trabalho dentro das normas universais de controle de infecção cruzada.

A estimativa do risco de transmissão de doenças é difícil e depende de uma série de fatores, agravados pela possibilidade dos microrganismos tornarem-se resistentes a biocidas (HARDIE, 1996).

O risco de se contrair o HIV numa punção acidental com sangue contaminado é pequeno (cerca de 0,3 a 0,4%), assim, apesar do medo gerado pela AIDS, as precauções universais buscam evitar, também, a transmissão de uma série de outros microrganismos como o bacilo da tuberculose; os vírus da hepatite C; Epstein-Barr; herpes simples; o citomegalovírus; e o vírus da hepatite B, cujo risco de contágio num acidente pérfuro-cortante é de 20 a 25% (WOOD, 1992; NUTT et al., 1999).

A evolução das formas microbianas contribuíram de maneira decisiva para a patogenicidade das doenças infecciosas (LIMA & ITO, 1993). Bactérias resistentes a agentes antimicrobianos como *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes foram isolados de equipos odontológicos em uma Faculdade no Japão (HORIBA et al., 1995). *Enterococcus* sp vancomicina-resistentes e algumas cepas de *Mycobacterium tuberculosis* surgiram nos últimos anos e têm causado sérias infecções hospitalares (TAKAGI & OHYAMA, 2000). Neste contexto, o cirurgião-dentista deve se preocupar em proteger os pacientes com imunidade comprometida como idosos, alcoólatras, diabéticos, estressados, transplantados, doentes de câncer e AIDS, que estão presentes em número cada vez maior e que necessitam de tratamento odontológico (SHEARER, 1996).

O profissional tem o dever moral, ético e legal de minimizar os riscos de contaminação durante o atendimento e implementar recomendações atuais de biossegurança em seu consultório (TEREZHALMY & GITTO, 1998).

BENTLEY & SARLL (1995) detectaram por meio de um questionário uma considerável melhora, entre 1990 e 1993, das medidas de controle de infecção empregadas por dentistas da região nordeste dos EUA, principalmente com relação ao uso de luvas descartáveis e a autoclavagem da caneta de alta rotação.

Com metodologia semelhante, EPSTEIN et al., em 1995, observaram que, entre especialistas canadenses, as normas de controle de infecção preconizadas pela CDA são adotadas satisfatoriamente mas, os mecanismos, vias e riscos de transmissão de vírus patogênicos na prática odontológica não são claramente entendidos.

McCARTHY et al. (1999) verificaram que apesar da maioria dos dentistas canadenses utilizarem luvas, máscaras e óculos de proteção e receberem imunização contra Hepatite B, muitos não utilizam todos os procedimentos de controle de infecção recomendados para minimizar o risco de infecção cruzada durante o atendimento como, por exemplo, a colocação de barreiras em equipamentos.

No Brasil, o que se observa é a falta de informação de alguns profissionais e uma certa resistência quanto à adoção de medidas de bioproteção. MAGRO-FILHO et al., em 1991, verificando a aplicação de normas básicas de esterilização,

desinfecção e paramentação pelo cirurgião-dentista e auxiliar, concluíram que os profissionais não estão adotando medidas eficazes para promover sua biossegurança e de seus pacientes.

A utilização inadequada de equipamentos de proteção individual e a falta de respeito às normas técnicas para a correta esterilização e desinfecção do instrumental, também foi constatada por ALVAREZ-LEITE (1996) por meio de questionário aplicado a 120 cirurgiões-dentistas, clínicos gerais, de Belo Horizonte, Minas Gerais.

JORGE et al. (1996) realizaram uma pesquisa, em 1994, com 740 dentistas participantes de um congresso em São Paulo para verificar o percentual de imunização contra a hepatite B e a adoção de normas de biossegurança e compararam os dados obtidos com estudo semelhante realizado em 1990. Cerca de 36% relatou ter recebido a vacina contra a hepatite B contra 9% em 1990. Mas, dois terços dos profissionais relataram empregar a desinfecção de alguns instrumentos, indicando que, em certos casos, a esterilização não é o procedimento de escolha.

Pesquisas com graduandos de Odontologia sobre o conhecimento de normas de controle de infecção e a intenção de colocá-las em prática é um ponto importante, uma vez que eles serão os profissionais de amanhã.

Um estudo realizado com alunos do último ano de Odontologia, no Reino Unido, revelou uma elevada intenção em utilizar equipamentos de proteção pessoal na clínica diária, mas a disparidade em certas respostas sugeriu que alguns alunos não tinham um conhecimento claro de estratégias de controle de infecção (NUTTALL & GILBERT, 1993).

OGDEN et al. (1997) pesquisaram o conhecimento e adoção de procedimentos de biossegurança entre estudantes de odontologia em um hospital no Reino Unido comparando as respostas de um questionário proposto com as observações feitas por um pesquisador que, durante três meses, acompanhou as atividades clínicas de todas as disciplinas. Os resultados mostraram discrepâncias entre o que os graduandos disseram que fariam e o que realmente faziam na clínica para prevenir a ocorrência de infecção cruzada, além disso, menos de 5% responderam corretamente como deveria ser o descarte de material contaminado e somente 50% foram capazes de citar o protocolo recomendado para a descontaminação de instrumentos manuais. Com base

nesses dados, os autores questionaram como esses futuros profissionais poderão garantir que auxiliares, por eles treinados, empreguem corretamente as normas de controle de infecção na clínica diária.

CUNHA et al. (1997) avaliando, por um ano, o controle de infecção cruzada realizado por alunos da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Unesp pela observação de suas atitudes durante as atividades clínicas, concluíram que, apesar das orientações recebidas, os alunos não utilizam todas as barreiras de proteção preconizadas e não apresentam coerência na adoção de normas de biossegurança.

Baseados nestas realidades, alguns pesquisadores sugerem a inclusão de uma disciplina de controle de infecção no currículo de graduação, com o objetivo de abranger todas as áreas odontológicas (SAVAGE & WALSH, 1997). Apesar de não regulamentada, a necessidade da introdução desta disciplina em cursos brasileiros tem sido enfatizada. Segundo o Dr. Urubatan Vieira de Medeiros, presidente da Comissão Especial do CFO, a experiência vivenciada nos cursos de graduação têm mostrado que os egressos não dominam princípios básicos de biossegurança, sendo necessário que, nos cursos de especialização, cuja própria denominação sugere um alto nível de atuação, os profissionais sejam orientados.

Para que o protocolo de controle de infecção seja realmente efetivo, as normas adotadas devem ser de fácil compreensão e execução, entretanto, algumas especialidades, como a Prótese Dental, apresentam desafios devido à natureza do instrumental e material empregados e procedimentos executados.

As brocas, particularmente as brocas para desgaste de resina acrílica, também chamadas de fresas, podem representar um elo na cadeia de infecção no consultório odontológico. Estas brocas, acopladas a micromotor e peça reta, são utilizadas em procedimentos protéticos mais diversos, como o ajuste de próteses totais e próteses parciais removíveis e desgaste de restaurações provisórias e moldeiras. Especificamente durante a confecção de uma restauração provisória em resina acrílica, que é inserida e removida da boca do paciente, diversas vezes, para desgaste, há, claramente, a contaminação da broca com saliva e, eventualmente, com sangue, uma vez que o preparo protético pode lesar a gengiva marginal, determinando um certo nível de sangramento.

Muitos microrganismos potencialmente patogênicos podem ser isolados da saliva e sangue e podem permanecer vivos, no ambiente, por longos períodos de tempo. O *Staphylococcus aureus*, responsável por infecções hospitalares, pode sobreviver em superficies secas por cerca de cinco dias, vírus viáveis de hepatite B podem ser encontrados em superficies infectadas até sete dias após a contaminação, enquanto que o *Mycobacterium tuberculosis* pode sobreviver de seis a oito meses em superficies secas (CRAWFORD, 1985; DEAN & WOOTEN, 1996).

Como a saliva é incolor, a contaminação pode não ser detectada facilmente e assim, a broca, se não for submetida a processamento adequado, pode tornar-se uma fonte de infecção cruzada (HACKNEY JR. et al., 1998).

SPAULDING, em 1972, classificou instrumental, material e equipamentos hospitalares, de acordo com seu uso e grau de contaminação, denominando-os artigos críticos, semi-críticos e não críticos. Com base nesta classificação, adaptada para a Odontologia, em 1991, por COTTONE et al., as brocas para desgaste de acrílico são consideradas artigos semi-críticos, por entrarem em contato indireto com a saliva e deveriam, portanto, ser esterilizadas ou receber desinfecção de alto nível. A esterilização é a destruição de todas as formas de vida. É absoluta. A desinfecção de alto nível abrange a eliminação de bactérias em forma vegetativa e esporos, incluindo o bacilo da tuberculose, vírus e fungos (CDA, 1999).

STERN & WHITACRE (1981) e MOLINARI et al. (1990) indicaram meios fisicos para a esterilização das brocas utilizadas na clínica, embora RUNNELLS (1988) tenha aconselhado sua conservação em desinfetante.

De acordo com CDC (1986, 1993), a esterilização só deverá ser substituída pela desinfecção de alto nível se as brocas forem danificadas pelo calor.

A ADA (1992, 1996) em guias de controle de infecção, recomendou que as brocas para desgaste de acrílico fossem esterilizadas, mas sugeriu a consulta ao fabricante, em caso de dúvida, para a indicação da forma de esterilização e/ou produtos de desinfecção que não as danificassem, nem diminuíssem sua vida útil.

Como na grande maioria dos casos estas brocas são importadas, a consulta ao fabricante torna-se dificil e os revendedores no Brasil muitas vezes fornecem dados imprecisos ou incorretos. Assim, a broca para desgaste de acrílico considerada, pelo

dentista, pronta para uso, ou seja, que já tenha passado por um processo de controle de infecção, pode ainda estar contaminada, pois o profissional pode estar adotando medidas ineficazes ou inadequadas, pondo em risco a sua saúde, de sua equipe de trabalho e de seus pacientes.

3. PROPOSIÇÃO

Em razão do exposto, propõe-se:

- Avaliar a contaminação microbiana de brocas para desgaste de acrílico de alunos de graduação da FORP-USP (Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo), cursando a disciplina de Prótese Parcial Fixa;

- Identificar os microrganismos isolados das brocas;

- Avaliar a suscetibilidade dos microrganismos isolados a agentes antimicrobianos.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. COLETA DAS BROCAS

Foram avaliadas 80 brocas para desgaste de acrílico pertencentes a 80 alunos do 6° período da FORP-USP cursando a disciplina de Prótese Parcial Fixa, no ano de 1998.

Os alunos utilizaram suas brocas de desgaste de acrílico para a confecção de restaurações provisórias durante o atendimento a pacientes na clínica de Prótese Fixa. Ao término da sessão clínica semanal procederam à limpeza e/ou desinfeção e/ou esterilização da broca como seu costume, isto é, utilizaram o método que adotam como rotina e que julgam correto. Sete dias depois, antes do início de nova sessão clínica, os alunos responderam verbalmente ao questionário proposto e tiveram suas brocas, que consideravam prontas para uso, recolhidas para avaliação da contaminação microbiana, num total de 80 brocas sendo, aleatoriamente, 40 brocas de tungstênio, corte cruzado fino HM 79Fx – Meisinger, München, Alemanha ou similar e 40 brocas de aço, n°78, ref.050, Meisinger ou similar (figura 1).

Cada broca coletada na clínica, foi introduzida, assepticamente, com uma pinça esterilizada em um tubo de ensaio de 15x100mm com 1,0mL de solução salina fosfatada tamponada (PBS) e submetida a agitação mecânica em *mixer* (Mixtron, Toptronix, São Paulo, Brasil) por um minuto. As brocas foram removidas em condições assépticas, devolvidas a cada acadêmico e as suspensões levadas ao Laboratório de Microbiologia para processamento (figura 2).

4.2. QUESTIONÁRIO

Pergunta 1: Que orientação recebeu sobre como proceder com as brocas para desgaste de acrílico após o uso?

Pergunta 2: Que método adota (lavagem, desinfecção ou esterilização)?
Se desinfeta, qual o produto utilizado? Por quanto tempo?
Se esteriliza, que método utiliza?

Pergunta 3: Como armazena a broca após o seu processamento?

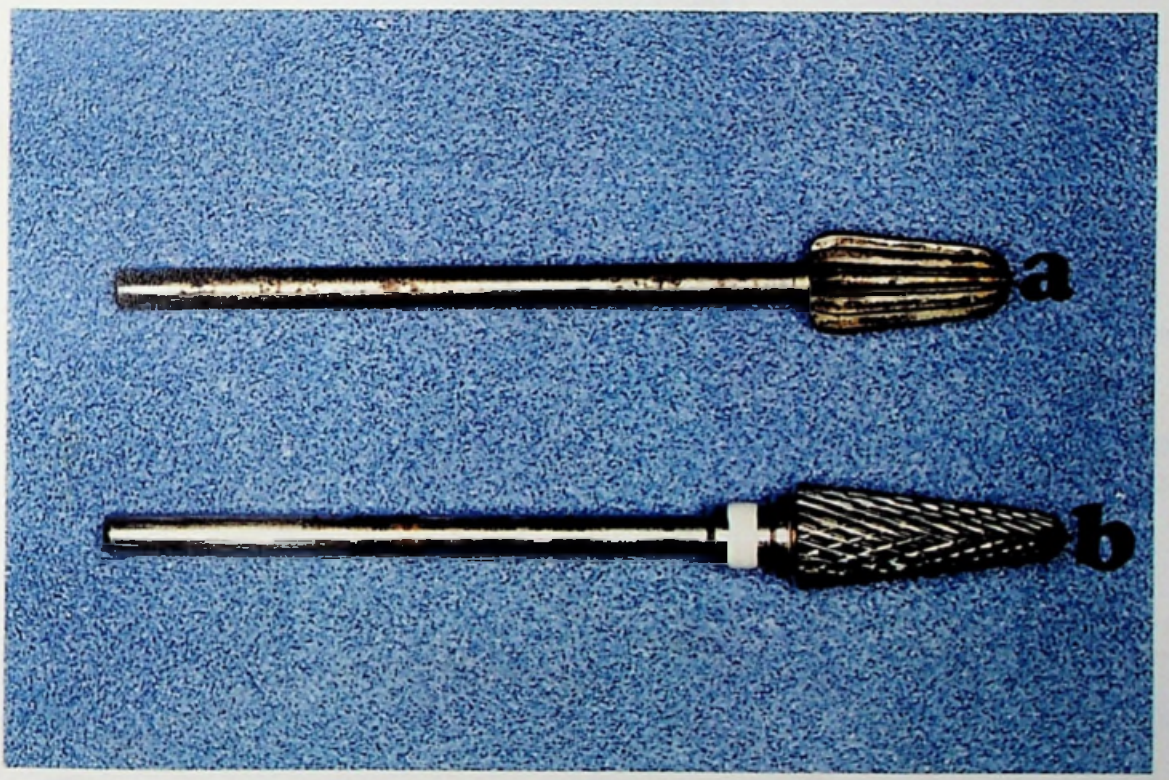
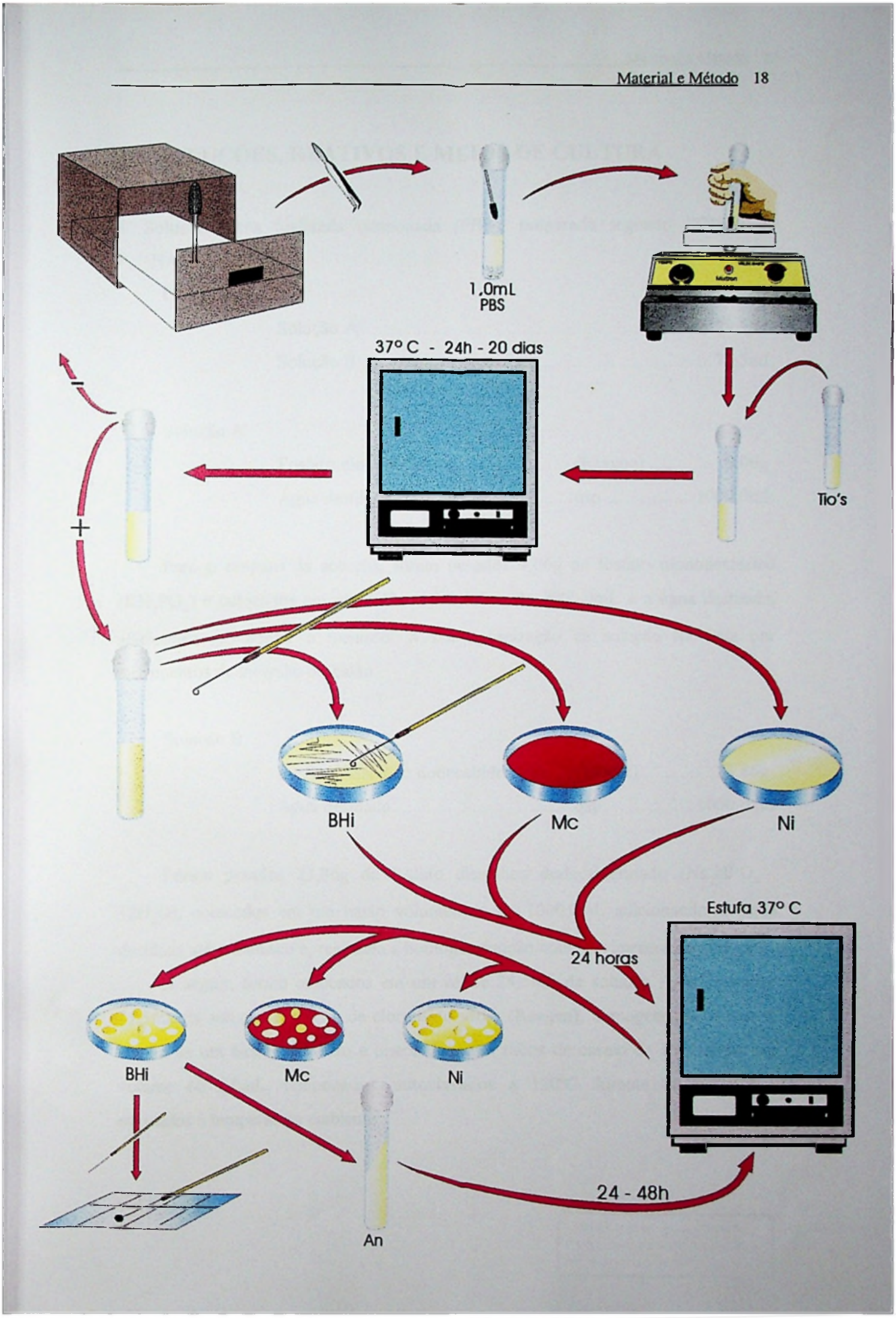


Figura 1- Brocas coletadas no estudo. a- broca de aço; b- broca de tungtênio.

Figura 2- Fluxograma da coleta de brocas e processamento microbiológico.


1,0mL
PBS
37° C - 24h - 20 dias
Tio's
BHi
Mc
Ni
Estufa 37° C
24 horas
BHi
Mc
Ni
24 - 48h
An

4.3. SOLUÇÕES, REATIVOS E MEIOS DE CULTURA

1. Solução salina fosfatada tamponada (PBS), preparada segundo SOBER & HARTE (1968).

Composição:

Solução A 28,5mL

Solução B.....71,5mL

pH=7,2

Solução A

Fosfato monopotássico.....(Reagen) 9,06g

Água destilada.....qsp 1000,0mL

Para o preparo da solução, foram pesados 9,06g de fosfato monopotássico (KH_2PO_4) e colocados em um balão volumétrico de 1000,0mL e a água destilada, adicionada até atingir o menisco. A homogeneização da solução foi feita por movimentos de inversão do balão.

Solução B

Fosfato dissódico dodecahidratado .....(Merck).....23,86g

Água destilada.....qsp 1000,0mL

Foram pesados 23,86g de fosfato dissódico dodecahidratado (Na_2HPO_4 . $12H_2O$), colocados em um balão volumétrico de 1000,0mL adicionando-se água destilada até o menisco e, realizada a homogeneização com movimentos de inversão.

A seguir, foram colocados em um cálice 28,5mL da solução A, adicionados 71,5mL da solução B e 8,5g de cloreto de sódio (Reagen), homogeneizados com o auxílio de um bastão de vidro e distribuídos em tubos de ensaio de 15x100mm em volume de 1,0mL, tamponados, autoclavados a 120°C durante 20 minutos e estocados à temperatura ambiente.

2. Meio Tioglicolato (Tio's)

O tioglicolato contém os nutrientes necessários para a reativação e multiplicação de microrganismos, tanto aeróbios quanto anaeróbios em virtude da presença de cisteína e tioglicolato de sódio.

Composição:

Peptona de caseína	15,0g
Extrato de levedura	5,0g
Cisteína	0,5g
Cloreto de sódio	2,5g
Tioglicolato de sódio	0,5g
Ágar	1,0g

Em um Becker, 29,0g do meio desidratado **Thioglycollate Medium w/o dextrose or indicator** (Difco) foram suspensos em 1000,0mL de água destilada e levados ao fogo até ebulição para fusão do ágar. Cerca de 15,0mL do meio de cultura foram distribuídos em tubos de 15x125mm com rosca, e esterilizados em autoclave a 120^{0}C durante 20 minutos.

3. Ágar Infusão de Cérebro–coração (BHIa)

Meio de cultura "rico", que permite o crescimento de microrganismos, incluindo os fastidiosos.

Composição:

Infusão de cérebro	200,0g
Infusão de coração	250,0g
Proteose peptona	10,0g
Dextrose	2,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Fosfato dissódico	2,5g
Ágar	15,0g
Água destilada	1000,0mL

Foram reidratados 2,3g de **Brain Heart Infusion Agar** (Difco) em um balão com 100,0mL de água destilada e homogeneizado. A autoclavagem foi realizada a 120°C durante 20 minutos e, após o resfriamento a aproximadamente 50°C, um volume de cerca de 20,0mL foi distribuído em placas de Petri de 20x100mm esterilizadas, incubadas em posição invertida a 37°C por 24 horas para testar a esterilidade e conservadas em refrigerador.

4. Ágar MacConkey (Mc)

Meio seletivo que permite o crescimento de bactérias gram-negativas nutricionalmente não exigentes.

Composição:

Peptona	17,0g
Proteose peptona	3,0g
Lactose	10,0g
Sais biliares	1,5g
Cloreto de sódio	5,0g
Ágar	13,5g
Vermelho neutro	0,03g
Cristal violeta	0,001g
Água destilada	1000,0mL

Do produto comercial **MacConkey Agar** (Difco), 50,0g/L foram pesados e hidratados em água destilada. A autoclavagem foi realizada a 120°C durante 20 minutos e, após o resfriamento à aproximadamente 50°C, um volume de cerca de 20,0mL do meio distribuído em placas de Petri de 20x100mm, esterilizadas. Depois de solidificadas, as placas foram levadas à estufa a 37°C por 24 horas para testar a esterilidade e, então, conservadas em geladeira.

5. Ágar Naito (Ni)

Este meio, que permite o crescimento seletivo de cocos gram-positivos halofílicos, foi preparado segundo ITO et al. (1969).

Composição:

Caldo nutriente	(Difco)	8,0g
Cloreto de sódio	(Reagen)	75,0g
Ágar	(Difco)	15,0g
Água destilada		1000,0mL

pH ± 7,6

O caldo nutriente e o cloreto de sódio pesados, foram acondicionados em um cálice, adicionados de água destilada, homogeneizados e ajustado o pH. Ao ágar pesado, acondicionado em balão, foi adicionado o caldo homogeneizado e levado à autoclave a 120^{0}C durante 20 minutos para esterilização. Após resfriamento a cerca de 50^{0}C, 1,0% de emulsão de gema de ovo a 50,0% foi adicionada e homogeneizada. O meio de cultura foi distribuído, assepticamente, em placas de Petri esterilizadas, de 20x100mm, em volume de cerca de 20,0mL e após solidificação a esterilidade foi testada em estufa a 37^{0}C durante 24 horas, seguida de conservação em geladeira.

6. Emulsão de gema de ovo

Removeu-se a sujidade, a seco, de 12 ovos grandes, que foram acondicionados em um cálice com álcool e deixados em repouso por duas horas. Depois foram envoltos com algodão embebido em álcool iodado. Então, as gemas foram separadas, assepticamente, e colocadas em placas de Petri esterilizadas. Aspirou-se com pipetas de ponta romba esterilizadas, assepticamente, o máximo de gema possível (cerca de 12,0mL), que foi colocada num tubo de ensaio esterilizado de 18x180mm com 10,0mL de salina fenicada a 0,1%, homogeneizada e mantida em refrigerador a cerca de 4°C por 24 horas.

Para testar a esterilidade da emulsão o tubo foi incubado em estufa a 37^{0}C durante 24 horas e depois, uma alçada da emulsão de gema de ovo semeada em tubos com o meio Tio's e incubados em estufa a 37^{0}C durante 72 horas.

Comprovada a esterilidade, os tampões de algodão dos tubos da emulsão de gema de ovo foram trocados por rolhas de borracha esterilizadas e conservados em geladeira.

7. Ágar Simples (An)

Este meio foi utilizado na conservação das cepas para efetuar a identificação e nos testes de suscetibilidade antimicrobiana.

Composição:

Caldo nutriente.....(Difco).....8,0g
Ágar.....(Difco).....15,0g
Água destilada.....1000,0mL

O caldo nutriente (**Nutrient Broth**, Difco) e o ágar (**Bacto Agar**, Difco) acrescidos de água destilada foram fundidos, distribuídos em tubos de 15x125mm, autoclavados a 120°C por 20 minutos. A seguir foram mantidos em posição inclinada até a solidificação.

8. Caldo Mueller-Hinton (MHb)

Meio enriquecedor que foi utilizado para obtenção de inóculo para avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos.

Composição:

Infusão de carne.....300,0g
Ácido casamino.....17,5g
Amido.....1,5g

Foram reidratados 21,0g de **Mueller-Hinton Broth** (Difco) em 1000,0mL de água destilada e homogeneizados. Cerca de 5,0mL foram distribuídos em tubos de 15x125mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

9. Ágar Mueller-Hinton (MHa)

Este meio foi empregado para a realização de antibiograma.

Composição:

Infusão de carne 300,0g
Ácido casamino 17,5g
Amido 1,5g
Ágar 17,0g

Foram reidratados 38,0g de **Mueller-Hinton Agar** (Difco) em 1000,0mL de água destilada e homogeneizados, em um Erlenmeyer. A autoclavagem foi realizada a 120°C durante 20 minutos e, após o resfriamento a aproximadamente 50°C, um volume de 40,0mL foram distribuídos, com auxílio de pipeta esterilizada, em placas de Petri de 25x150mm esterilizadas.

SÉRIE DE HISS

1. Fermentação de açúcares

Composição:

Água peptonada 100,0mL
Púrpura de bromocresol (solução aquosa a 0,2%) 1,0mL
Açúcar 1,0g

Água peptonada

Peptona ..... (Difco) 10,0g
Cloreto de sódio ..... (Reagen) 5,0g
Água destilada 1000,0mL

pH= 7,4-7,6

A peptona e o cloreto de sódio foram pesados, acondicionados em um cálice e adicionados de água destilada. O pH foi ajustado e a solução distribuída em oito cálices para a preparação de oito meios de cultura com oito açúcares diferentes. A

cada cálice adicionou-se 1,0% do indicador púrpura de bromocresol e 1,0% de um açúcar (glicose, lactose, maltose, xilose, arabinose, manitol, sacarose ou trealose). Os meios foram distribuídos em tubos de ensaio de 13x100mm, em volume de cerca de 5,0mL, e nos tubos contendo glicose foram introduzidos tubos de Durhan em posição invertida. A autoclavagem foi realizada a 120°C por 20 minutos. A seguir, foram resfriados em banho de gelo para se evitar a caramelização de carboidratos, como preconizado por LORD (1960). Cada substrato foi codificado com o uso de tampão de algodão de cores diferentes.

Critério de interpretação:

Os meios semeados foram incubados em estufa a 37°C por 48h e, então, permaneceram em temperatura ambiente por até 10 dias. A fermentação de açúcares foi considerada positiva quando da alteração da coloração do meio de cor púrpura para amarela, indicando a alteração do pH, resultante da produção de ácidos. Nos tubos contendo glicose pode, ainda, ser observada a produção de gás que fica retido no tubo de Durhan.

2. Hidrólise de esculina

Composição:

Peptona	(Difco)	0,5g
Fosfato dipotássico	(Reagen)	0,1g
Citrato férrico	(Merck)	0,05g
Esculina	(Merck)	0,3g
Água destilada		100,0mL

Os componentes foram pesados, acondicionados em um cálice e adicionados de água destilada. Após a distribuição em tubos de ensaio de 13x100mm foram autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

Os tubos contendo o meio de cultura semeado foram incubados a 37°C por 24 horas. A bactéria produtora da enzima esculinase é capaz de hidrolisar a esculina a esculetina. O resultado é verificado pela mudança da cor do meio pela formação de um precipitado escuro resultante da combinação do citrato férrico com a esculetina.

3. Descarboxilação de arginina, lisina e ornitina (Falkow)

Composição:

Peptona	(Difco)	5,0g
Extrato de levedo	(Difco)	3,0g
Glicose	(Merck)	1,0g
Lisina/Arginina/Ornitina	(Merck)	0,5g
Púrpura de bromocresol (solução aquosa a 0,2%)		1,0mL
Água destilada		100,0mL

A peptona, o extrato de levedo, a glicose foram pesados, adicionados de água destilada e púrpura de bromocresol (Merck) e divididos em quatro cálices: o primeiro, com o meio base, representando o controle, o segundo acrescido de 0,5% de lisina, o terceiro, de 0,5% de arginina e o quarto, de 0,5% de ornitina. Os meios foram distribuídos em tubos de 13x100mm, em volumes de cerca de 6,0mL (camada alta), tamponados com algodão codificado e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

Os tubos semeados foram incubados a 37°C por 24 horas, quando então foram comparados um a um com os tubos contendo meio controle, que não apresenta aminoácidos em sua composição. Se o microrganismo testado produz a enzima descarboxilase, a putrefação do aminoácido presente no meio (lisina, arginina ou ornitina) determina reversão do pH do meio de cultura, que se torna púrpura, em virtude da produção de aminas, enquanto que no meio controle a fonte de energia utilizada é a glicose, resultando na coloração amarela do meio, em decorrência da produção de ácido.

4. Hidrólise de arginina

Composição:

Extrato de levedo	(Difco)	0,5g
Triptona	(Difco)	0,5g
Fosfato dipotássico	(Reagen)	0,2g
Glicose	(Merck)	0,05g
Cloridrato de arginina	(Merck)	0,3g
Água destilada		100,0mL

pH= 7,2-7,4

Os componentes foram pesados, acondicionados em um cálice e adicionados de água destilada. Após a distribuição em tubos de ensaio de 13x100mm foram autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

Aos tubos semeados e incubados por 48 horas acrescenta-se algumas gotas de reativo de Nessler (ASSUMPÇÃO & MORITA, 1968). A formação de um precipitado alaranjado indica resultado positivo.

5. Ação sobre citrato de sódio

Composição:

Cloreto de sódio	5,0g
Sulfato de magnésio	0,2g
Fosfato de amônio	1,0g
Fosfato dipotássico	1,0g
Citrato de sódio	2,0g
Azul de bromotimol	0,08g
Ágar	20,0g
Água destilada	1000,0mL

Em um Becker, 24,2g do produto desidratado **Simmons Citrate Agar** (Difco) foram suspensos em 1000,0mL de água destilada e aquecidos até a fusão do ágar. A

seguir foram distribuídos, em volume de cerca de 2,5mL, em tubos de 13x100mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos. Os tubos foram mantidos em posição inclinada até a solidificação.

Critério de interpretação:

Os tubos semeados foram incubados por 24 horas, após o que foi observada a cor do meio de cultura. A coloração verde (pH neutro) representa resultado negativo, enquanto que a coloração azul, pH alcalino, representa resultado positivo, a utilização de citrato como fonte única de carbono.

6. Ação sobre malonato de sódio

Composição:

Sulfato de amônia	2,0g
Fosfato dipotássico	0,6g
Fosfato monopotássico	0,4g
Cloreto de sódio	2,0g
Malonato de sódio	3,0g
Azul de bromotimol	0,025g
Água destilada	1000,0mL

Em um cálice, 8,0g do produto **Malonate Broth** (Difco) foram dissolvidos em 1000,0mL de água destilada e distribuídos, em volume de cerca de 5,0mL, em tubos de 13x100mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

Os tubos semeados foram incubados por 24 horas, após o que foi observada a cor do meio de cultura. A coloração verde (pH neutro) representa resultado negativo, enquanto que a coloração azul (pH alcalino), representa resultado positivo, ou seja, a utilização de malonato como fonte única de carbono.

7. Hidrólise de uréia (Christensen)

Composição:

Extrato de levedo	(Difco)	0,1g
Fosfato monopotássico	(Reagen)	0,091g
Fosfato dissódico	(Reagen)	0,095g
Uréia	(Merck)	20,0g
Fenol vermelho (solução aquosa a 2%)	(Merck)	10,0mL
Água destilada		1000,0mL

Os componentes pesados foram acrescidos de água destilada em um cálice, distribuídos, em volume de cerca de 2,5mL, em tubos de 13x100mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

Após incubação dos tubos semeados por 24 horas a 37°C, a hidrólise da uréia é evidenciada pela coloração rósea do meio (pH alcalino).

8. Desaminação de fenilalanina

Composição:

Extrato de levedo	(Difco)	3,0g
DL fenilalanina	(Merck)	2,0g
Fosfato dissódico	(Reagen)	1,0g
Cloreto de sódio	(Reagen)	5,0g
Ágar	(Difco)	12,0g
Água destilada		1000,0mL

Os componentes pesados acrescidos de água destilada foram aquecidos até a fusão do ágar, distribuídos, em volume de cerca de 2,5mL, em tubos de 13x100mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos. Os tubos foram mantidos em posição inclinada até a solidificação.

Critério de interpretação:

Aos tubos semeados e incubados por 48 horas acrescenta-se algumas gotas de solução a 10,0% de cloreto férrico (Merck). A coloração verde da superfície indica resultado positivo, devido à formação de ácido fenilpirúvico.

9. Crescimento em meio halofílico (NaCl)

Composição:

Caldo nutriente.....(Difco).....100,0mL

Cloreto de sódio..... .....(Reagen)... 2/5/7/10,0mL

Ao caldo nutriente foi adicionado cloreto de sódio nas concentração de 2, 5, 7 e 10,0% e distribuiu-se cerca de 4,0mL em tubos de 15x125mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20minutos.

Critério de interpretação:

Os tubos semeados foram incubados a 37°C e observada a turvação do meio, que indica o crescimento microbiano, diariamente, até completar 20 dias.

10. Prova de VM e VP (Clark & Lubs)

Composição:

Peptona.....(Difco).....0,5g

Glicose.....(Merck).....0,5g

Fosfato dipotássico.....(Reagen).....0,5g

Água destilada.....100,0mL

Os componentes do meio pesados foram hidratados em um cálice e cerca de 8,0mL do meio distribuídos em tubos de 18x180mm, tamponados e autoclavados a 115°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

VM-Prova de vermelho de metila: Aos tubos semeados e incubados por sete dias em estufa a 37°C, adiciona-se algumas gotas de vermelho de metila. O resultado é considerado positivo quando o meio apresentar coloração vermelha (pH ácido).

VP-Prova de Voges-Proskauer: O substrato deste meio de cultura é glicose, que na glicólise é decomposta a ácido pirúvico e este condensado a acetoína em pH ácido. Assim, acrescenta-se cerca de 1,0mL de KOH a 16,0% (Reagen) e solução alcoólica a 5,0% de α-naftol (Merck) a 1,0mL de cultura de sete dias de incubação a 37°C e agita-se por cinco minutos. A coloração rosa, então observada representa resultado positivo, ou seja, a presença de acetoína ou acetilmetilcarbinol.

11. Ação sobre nitrato

Composição:

Peptona	(Difco)	10,0g
Cloreto de sódio	(Reagen)	5,0g
Nitrato de potássio	(Reagen)	1,0g
Água destilada		1000,0mL

pH= 7,4-7,6

Os componentes do meio pesados foram dissolvidos em um cálice e cerca de 5,0mL do meio distribuídos em tubos de 15x125mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Critério de interpretação:

O nitrato presente no meio de cultura pode ser degradado até nitrito pela ação da enzima nitratase e este, pela enzima nitritase, até nitrogênio. Para se verificar a presença de nitrito adiciona-se dois reagentes aos tubos semeados e incubados por sete dias: Ilosway 1 (ou A), cerca de 1,0mL e Ilosway 2 (ou B), uma gota. Se desenvolver coloração vermelho-tijolo, o resultado é nitrito positivo. Entretanto, se o resultado for nitrito negativo, pode ser decorrente da não degradação do nitrato ou da degradação do nitrito até a liberação de gás nitrogênio. Assim, acrescenta-se a este

tubo, cerca de 1,0mg de pó de óxido de zinco (Reagen), que na presença de nitrato produz coloração vermelha, que indica realmente resultado negativo (integridade do substrato). Se entretanto, não desenvolver coloração vermelha o resultado é positivo, pois houve a produção de nitrogênio, que se "perdeu".

12. Produção de H_2S e Indol

Meio de cultura: Água peptonada

A água peptonada foi distribuída, em volumes de cerca de 5,0mL, em tubos de 15x125mm, tamponados e autoclavados a 120°C por 20 minutos. Depois de semeados, foram inseridas duas tiras de papel de filtro, presas ao tampão, uma impregnada com reativo de Silberstein (solução alcoólica p-dimetilaminobenzaldeído-Merck), para verificação da produção de indol e a outra com solução saturada de acetato de chumbo (Reagen), para verificar a produção de H_2S.

Critério de interpretação:

Após incubação por 48 horas a 37°C, a alteração da coloração dos papéis reativos indica a produção das substâncias procuradas. O papel reativo de Silberstein de coloração amarela, torna-se róseo e o acetato de chumbo de incolor torna-se negro.

13. Hidrólise de triptofano

Composição:

Triptona	(Difco)	10,0g
Cloreto de sódio	(Reagen)	5,0g
Fosfato dissódico (12 H_2O)	(Merck)	2,0g
L-triptofano	(Merck)	1,0g
Ágar	(Difco)	15,0g
Água destilada		1000,0mL

pH=7,4

A triptona, o cloreto de sódio e o fosfato dissódico dodecahidratado foram dissolvidos em água destilada. Acertou-se o pH e o meio acrescido de ágar foi aquecido até a fusão. Após a adição do triptofano, cerca de 5,0mL do meio foram distribuídos em tubos de ensaio de 16x160mm, autoclavados a 120°C por 20 minutos e mantidos em posição inclinada até a solidificação.

Critério de interpretação:

Os tubos semeados e incubados por 48 horas foram analisados para verificação de alteração de cor do meio, que de amarelo claro torna-se marrom (sépia).

14. Descarboxilação de tirosina

Composição:

Triptona	(Difco)	10,0g
Cloreto de sódio	(Reagen)	5,0g
Fosfato dissódico (12 H_2O)	(Merck)	2,0g
Tirosina	(Merck)	1,0g
Ágar	(Difco)	15,0g
Água destilada		1000,0mL

pH=7,4

A triptona, o cloreto de sódio e o fosfato dissódico foram dissolvidos em água destilada. Acertou-se o pH, acrescentou-se o ágar e o meio foi aquecido até a fusão do ágar. Após a adição da tirosina, cerca de 5,0mL do meio foram distribuídos em tubos de ensaio de 16x160mm, autoclavados a 120°C por 20 minutos e mantidos em posição inclinada até a solidificação.

Critério de interpretação:

Os tubos semeados e incubados por 48 horas foram analisados para verificação de alteração de cor do meio, que de amarelo claro torna-se marrom (sépia).

15. Produção de lecitinase

Meio de cultura: Ni

Critério de interpretação:

As placas de Ni semeadas em spot e incubadas em estufa a 37°C por 48 horas, foram observadas contra um fundo escuro para verificar a formação de um halo de precipitação ao redor da semeadura, o que indica a produção da enzima lecitinase, que degrada a lecitina presente no meio de cultura.

16. Hidrólise de gelatina (LORD, 1960)

Composição:

Caldo nutriente	(Difco)	100,0mL
Gelatina	(Merck)	1,0g
Ágar	(Difco)	1,5g

Os componentes foram hidratados em um balão e autoclavados a 120°C por 20 minutos. Após o resfriamento a aproximadamente 50°C, um volume de cerca de 20,0mL foram distribuídos em placas de Petri de 20x100mm esterilizadas.

Critério de interpretação:

As placas de Petri semeadas em spot e incubadas em estufa a 37°C por 48 horas, foram inundadas com reativo de Frazier & Smith (LORD, 1960), para verificar a formação de halo claro ao redor da semeadura, o que indica a produção da enzima gelatinase.

17. Hidrólise de amido (Ágar batata)

Composição:

Infusão de batata holandesa	(Carrefour)	1000,0mL
Glicose	(Reagen)	10,0g
Ágar	(Difco)	15,0g

Durante uma hora, 200,0g de batatas holandesas descascadas foram cozidas em 500,0mL de água. Foi realizada a filtragem com gaze e completado o volume de água até de 1000,0mL. O ágar foi acrescentado e fundido. Adicionou-se a glicose e o meio

foi autoclavado a 120°C durante 20 minutos. Após o resfriamento a aproximadamente 50°C, um volume de cerca de 20,0mL foram distribuídos em placas de Petri de 20x100mm esterilizadas.

Critério de interpretação:

As placas de Petri semeadas em spot e incubadas em estufa a 37°C por 48 horas, foram inundadas com lugol para verificar a formação de um halo claro ao redor da semeadura, o que indica a degradação do amido pela enzima amilase.

4.4. PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO

Verificação da contaminação microbiana

Foram adicionados cerca de 8,0mL de meio Tioglicolato, meio de cultura enriquecidor, a cada tubo de ensaio e incubados em estufa a 35^{0}C durante 20 dias. Nesse prazo de tempo, os tubos foram examinados diariamente e quando se observava a turvação do meio de cultura, anotava-se o resultado positivo e procedia-se ao isolamento dos microrganismos. Os tubos que, após 20 dias não apresentaram turvação, ou seja, não apresentaram crescimento bacteriano tiveram o resultado anotado como negativo e foram descartados (figura 2).

Isolamento dos microrganismos

O isolamento dos microrganismos de cada tubo positivo foi realizado pela semeadura em: Ágar Infusão de Cérebro-coração (BHIa), Ágar MacConckey (Mc) e Ágar Naito (Ni). Com alça de platina, as suspensões foram semeadas pela técnica do esgotamento em placas dos meio de cultura e incubadas em estufa a 37^{0}C por 24 a 48 horas (figura 2).

As colônias bacterianas isoladas, foram submetidas à identificação morfotintorial, pelo método de Gram e repicadas em Ágar Simples (An), em duplicata e mantidas à temperatura ambiente (figura 2).

Identificação

A identificação de gênero e espécie foi efetuada com base em SNEATH (1996) e em observações efetuadas por MURRAY et al. (1995), em sistema mutirão, ou seja, na mesma ocasião.

As cepas conservadas foram reativadas e semeadas em série de Hiss (figura 3), em resumo, foram submetidas a testes fisiológicos e bioquímicos arrolados a seguir:

- Fermentação de: glicose, arabinose, xilose, manitol, lactose, sacarose, maltose e trealose.
- Hidrólise de: gelatina, amido, esculina, uréia e triptofano.
- Descarboxilação de: arginina, lisina, ornitina e tirosina.

- Hidrólise de arginina.
- Desaminação de fenilalanina.
- Ação sobre: citrato, malonato e nitrato.
- Crescimento em NaCl a 2; 5; 7; 10,0%.
- Prova de VM (vermelho de metila) e VP (Voges Proskauer).
- Pesquisa de enzima: lecitinase.
- Produção de H_2S e indol.

Antibiograma

Foi avaliada a suscetibilidade das cepas isoladas a 12 antimicrobianos selecionados: ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, sulfametrim, eritromicina, gentamicina, oxacilina, penicilina, rifampicina, teicoplanina, tetraciclina e vancomicina (tabela 1), pelo método de Kirby-Bauer (ROCHA et al., 1972).

Tabela 1- Antibióticos testados no antibiograma.

Antibiótico	Sigla	Concentração
Ciprofloxacina	CIP	5μg
Clindamicina	CLI	2μg
Cloranfenicol	CLO	30μg
Eritromicina	EI	15μg
Gentamicina	GEN	10μg
Oxacilina	OX	1μg
Penicilina	PN	10U
Rifampicina	RFM	5μg
Sulfametrim	SMT	25μg
Teicoplanina	TEC	30μg
Tetraciclina	TET	30μg
Vancomicina	VC	30μg

As cepas reativadas, foram semeadas em caldo Mueller-Hinton (MHb) e incubadas a 35^{0}C em estufa. Após 24 horas de incubação foi preparada a suspensão de cada microrganismo em PBS até a obtenção da turbidez de metade da escala 1 de McFarland.

Placas de Petri de 25x150mm contendo Ágar Mueller-Hinton (MHa) foram semeadas por inundação e o excesso removido com papel de filtro. Após a secagem,

discos contendo os antibióticos (Cecon, São Paulo, Brasil) foram aplicados em pontos eqüidistantes com o auxílio de uma pinça clínica e leve pressão (figura 4). As placas foram incubadas a 35^{0}C por 18 a 24 horas e, então, realizada a medida do diâmetro da zona de inibição, em milímetros, formada ao redor de cada disco. As medidas foram interpretadas de acordo com o NATIONAL COMMITEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS), 1999.

Figura 3- Fluxograma da Identificação dos microrganismos.

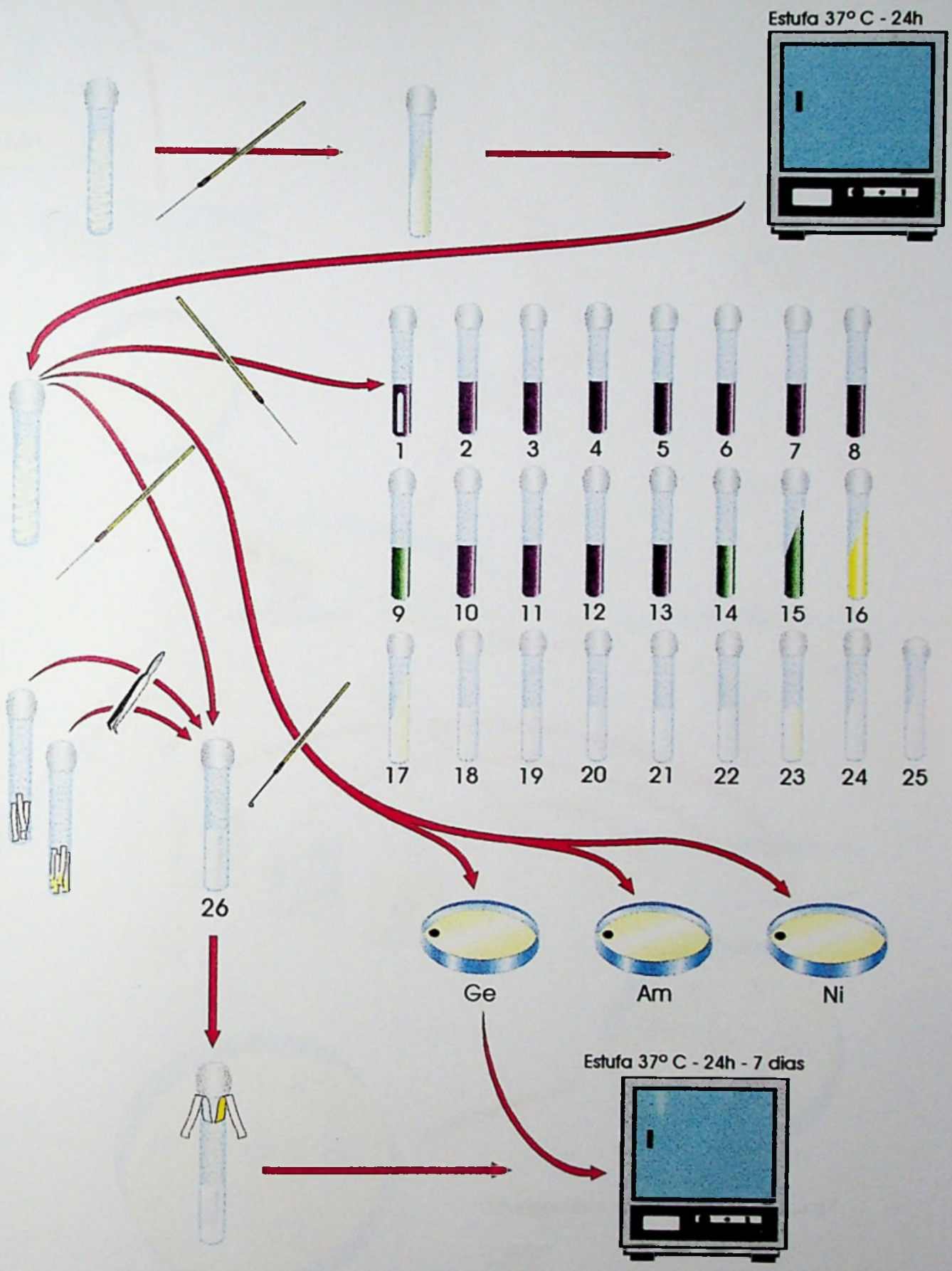
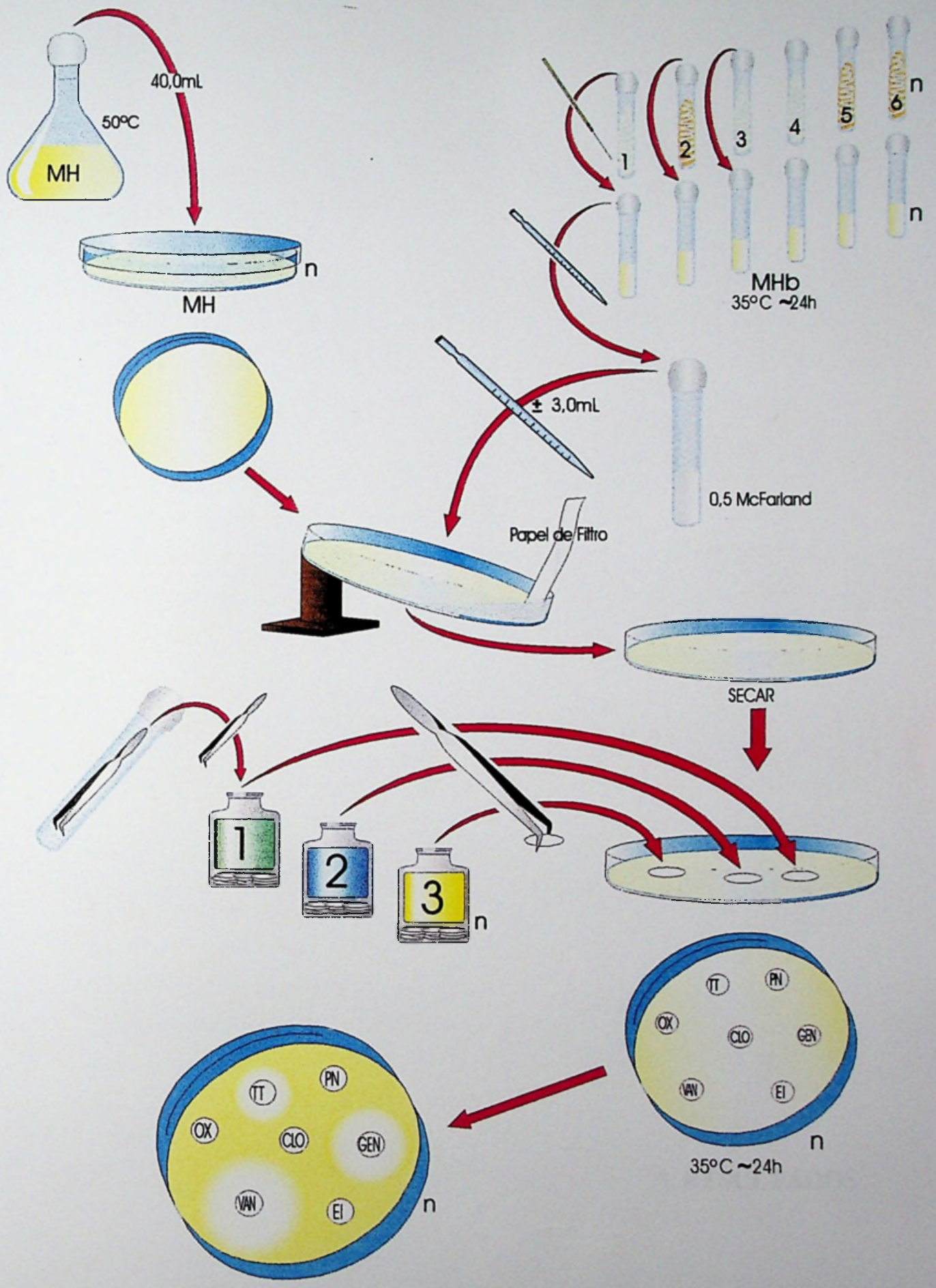

Estufa 37° C - 24h
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
Ge
Am
Ni
Estufa 37° C - 24h - 7 dias

Figura 4- Fluxograma do antibiograma.


40,0mL
50ºC
MH
MH
n
1
2
3
4
5
6
n
n
MHb
35ºC ~24h
± 3,0mL
0,5 McFarland
Papel de Filtro
SECAR
1
2
3
n
TT
PN
OX
CLO
GEN
VAN
EI
n
35ºC ~24h
TT
PN
OX
CLO
GEN
VAN
EI
n

5. RESULTADOS

5.1. QUESTIONÁRIO

Pergunta 1: Que orientação recebeu sobre como proceder com as brocas para desgaste de acrílico após o uso?

Os alunos foram unânimes em afirmar que receberam informações a respeito do processamento de material e instrumental contaminados, conforme a classificação de SPAULDING (1972), adaptada por COTTONE et al. (1991), em críticos, semi-críticos e não críticos e que as brocas para desgaste de acrílico deveriam ser, preferencialmente, esterilizadas em estufa (forno de Pasteur) ou submetidas a desinfecção de alto nível após o uso.

Pergunta 2: Que método adota?

Os resultados estão apresentados na tabela 2. A lavagem da broca para desgaste de acrílico com água e sabão foi o método adotado pela maioria dos alunos, seguido pela imersão em glutaraldeído a 2,0% por 10 horas após a lavagem. Somente 42 estudantes (52,5%) dizem adotar um dos métodos recomendados para artigos semi-críticos.

Tabela 2- Método empregado por 80 alunos do 6° período da FORP-USP para a descontaminação de brocas para desgaste de acrílico.

Tratamento	N°	%
Lavagem com água e sabão	35	43,8
Imersão em glutaraldeído a 2,0%-10 horas*	25	31,3
Estufa (Forno de Pasteur)*	15	18,7
Fricção com álcool a 70,0%*	3	3,7
Estufa ou imersão em glutaraldeído a 2,0%-10 h.*	2	2,5

*após lavagem com água e sabão.

Pergunta 3: Como armazena a broca após o seu processamento?

Os 80 alunos armazenam suas brocas para desgaste de acrílico, após o processamento, em broqueiros de modelos disponíveis no mercado. Trinta e sete alunos (46,2%) utilizam-se de broqueiros onde as brocas são encaixadas pela haste e ficam na posição vertical, sem contato da parte ativa com as superfícies do broqueiro. Quarenta e três alunos (53,8%) guardam suas brocas em broqueiros semelhantes a caixas de pesca, onde as brocas ficam na posição horizontal, com a parte ativa em contato com o broqueiro.

5.2. VERIFICAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA

Das 80 brocas para desgaste de acrílico analisadas 29 apresentavam contaminação microbiana, o que corresponde a 36,3%. Destas, 13 eram brocas de tungstênio e 16 eram brocas de aço (tabela 3). A correlação entre o método de descontaminação empregado pelos alunos e as brocas contaminadas está apresentada na tabela 4. A tabela 5 apresenta a correlação entre a forma de armazenamento das brocas e o nível de contaminação detectado.

Tabela 3- Distribuição de brocas para desgaste de acrílico contaminadas.

	Positivas		Negativas	
Tipo	Nº	%	Nº	%
Tungstênio	13	16,3	27	33,7
Aço	16	20,0	24	30,0
Total	29	36,3	51	63,7

Tabela 4- Correlação entre o método de descontaminação empregado e o número de brocas contaminadas.

	Positivas		Negativas		Total
Método	Nº	%	Nº	%	Nº
Lavagem	17	21,3	18	22,5	35
Glutaraldeído	7	8,8	18	22,5	25
Estufa	5	6,2	10	12,5	15
Álc. a 70,0%	0	0	3	3,7	3
Estufa/glutar.	0	0	2	2,5	2
Total	29	36,3	51	63,7	80

Tabela 5- Correlação entre a forma de armazenamento e o nível de contaminação encontrado.

	Positivas		Negativas		Total
Broqueiro	Nº	%	Nº	%	Nº
"Tipo pesca"	29	36,3	14	17,5	43
"Vertical"	0	0	37	46,2	37
Total	29	36,3	51	63,7	80

5.3. ISOLAMENTO DOS MICRORGANISMOS

Foram preparados esfregaços das colônias bacterianas isoladas e corados pelo método de Gram, tendo sido identificados três morfotipos: bacilos gram-negativos, bacilos gram-positivos e cocos gram-positivos (tabela 6).

Das 29 brocas contaminadas foram isoladas 45 cepas (figuras 5, 6 e 7), ou seja, havia brocas contaminadas por mais de um microrganismo (tabela 6).

Figura 5- Visão panorâmica da colônia do caso 6, identificada como *Staphylococcus hyicus* e do caso 27, *Flavobacterium lutescens*.

BIBLIOTECA CENTRAL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DE RIBEIRÃO PRETO - USP

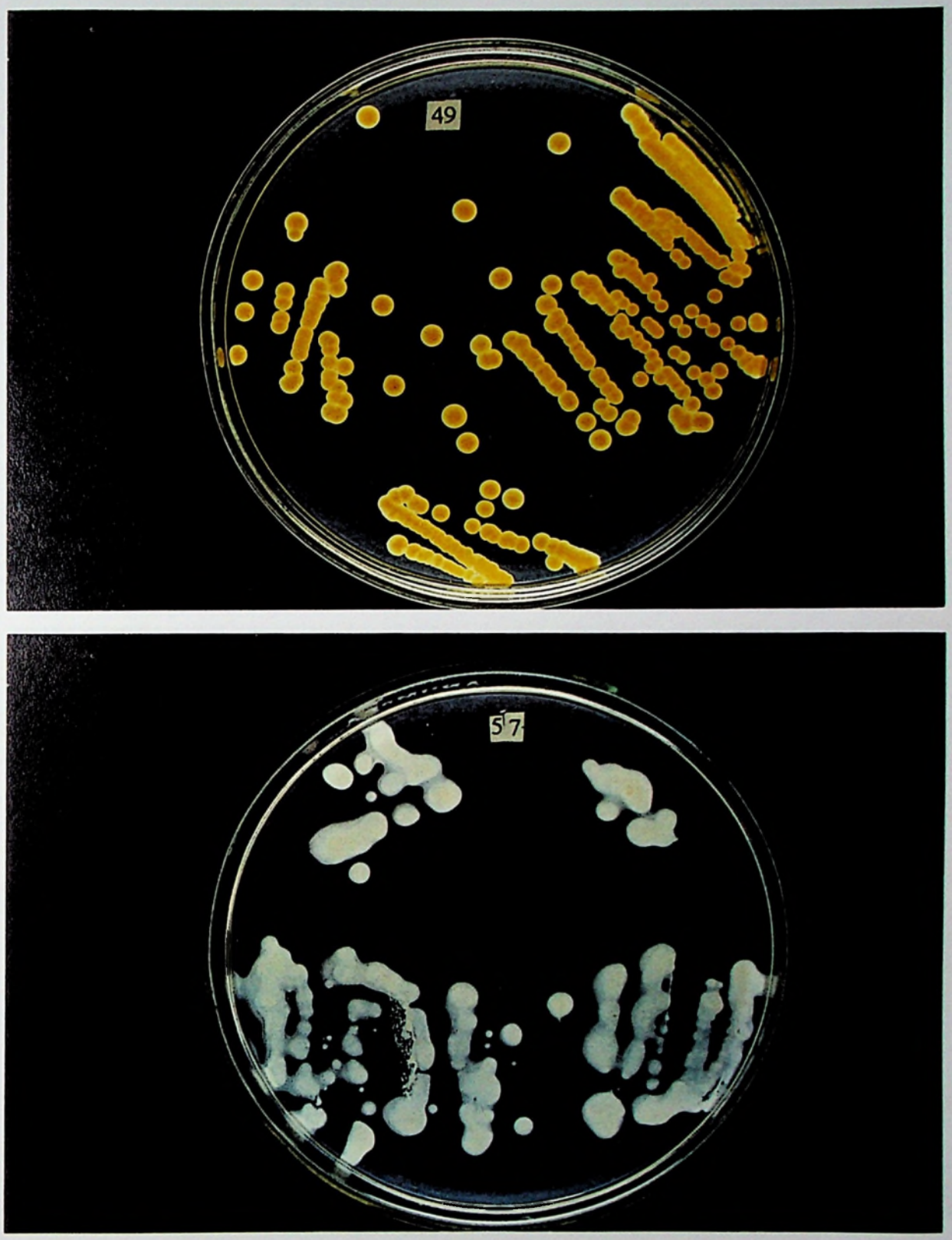


Figura 6- Visão panorâmica da colônia do caso 49, identificada como *Micrococcus nishinomiyaensis* e do caso 57, *Bacillus circulans*.

Figura 7- Visão panorâmica da colônia do caso 79, identificada como *Bacillus cereus* e do caso 82, *Staphylococcus xylosus*.

Tabela 6- Relação das brocas contaminadas e morfotipos das cepas isoladas.

Broca	Cepas	Morfotipos
6	6p	CGP
	6g	CGP
	6i	CGP
15	15	BGP
19	19	CGP
22	22	CGP
23	23	CGP
25	25bca	CGP
	25am	CGP
26	26g	CGP
	26p	CGP
27	27BHI	BGN
	27Mc	BGN
28	28	CGP
31	31	BGN
39	39g	CGP
	39p	CGP
	39CG+1	CGP
	39CG+2	CGP
43	43g	BGP
	43p	BGP
49	49	CGP
50	50	CGP
56	56g	CGP
	56p	CGP
57	57	BGP
58	58-1	BGP
	58-2	BGP
59	59-1	CGP
	59-2	CGP
61	61	BGP
62	62	BGP
63	63	BGP
64	64	CGP
65	65g	CGP
	65p	CGP
66	66	CGP
73	73	CGP
78	78bca	CGP
	78transp	CGP
79	79bca	BGP
	79rug	BGP
82	82	CGP
83	83bca	CGP
	83transp	CGP
Total 29	45	

CGP- cocos gram-positivos, BGP- bacilos gram-positivos, BGN- bacilos gram-negativos.

5.4. IDENTIFICAÇÃO

Através da série de Hiss foram identificadas as 45 cepas, sendo que, algumas das cepas isoladas de mesma broca, que se julgava serem diferentes, pertenciam à mesma espécie. Assim, o total real de cepas isoladas das 29 brocas contaminadas foi de 37. Seis brocas estavam contaminadas por duas espécies de microrganismos (casos 6, 25, 26, 43, 78 e 79) e a broca de número 39, por três espécies diferentes (tabelas 7 e 8).

Tabela 7– Distribuição de espécies bacterianas isoladas de 29 brocas de desgaste de acrílico.

Cepa	Microrganismo
6p	*Staphylococccus hyicus*
6g/6i	*Staphylococcus carnosus*
15	*Bacillus subtilis*
19	*Staphylococcus capitis*
22	*Staphylococcus capitis*
23	*Micrococcus sedentarius*
25 branca	*Staphylococcus intermedius*
25 amarela	*Staphylococcus epidermidis*
26 p	*Staphylococcus intermedius*
26g	*Staphylococcus saprophyticus*
27 BHI/Mc	*Flavobacterium lutescens*
28	*Staphylococcus capitis*
31	*Pseudomonas stutzeri*
39p	*Staphylococcus epidermidis*
39g	*Staphylococcus carnosus*
39CG+1/2	*Staphylococcus xylosus*
43p	*Bacillus circulans*
43g	*Bacillus sphaericus*
49	*Micrococcus nishinomiyaensis*
50	*Staphylococcus hyicus*
56g/p	*Staphylococcus capitis*
57	*Bacillus circulans*
58-1/-2	*Bacillus cereus*
59-1/-2	*Staphylococcus epidermidis*
61	*Rhodococcus equi*
62	*Bacillus cereus*
63	*Bacillus cereus*
64	*Staphylococcus capitis*
65g/p	*Staphylococcus capitis*
66	*Staphylococcus hyicus*
73	*Staphylococcus hyicus*
78bca	*Staphylococcus carnosus*
78 transp	*Staphylococcus hyicus*
79 bca	*Bacillus cereus*
79 rug	*Bacillus megatherium*
82	*Staphylococcus xylosus*
83bca/transp	*Staphylococcus hyicus*

Tabela 8– Prevalência de espécies de microrganismos isolados de 29 brocas.

Microrganismo	Número de cepas
Staphylococccus hyicus	6
Staphylococcus carnosus	3
Staphylococcus capitis	6
Staphylococcus intermedius	2
Staphylococcus epidermidis	3
Staphylococcus saprophyticus	1
Staphylococcus xylosus	2
Micrococcus sedentarius	1
Micrococcus nishinomiyaensis	1
Bacillus cereus	4
Bacillus circulans	2
Bacillus sphaericus	1
Bacillus megatherium	1
Bacillus subtilis	1
Rhodococcus equi	1
Flavobacterium lutescens	1
Pseudomonas stutzeri	1

5.5. ANTIBIOGRAMA

O resultado do antibiograma está apresentado na tabela 9 e nas figura 8, 9, 10 e 11. Foram detectadas cepas resistentes a antibióticos como penicilina e vancomicina. Observando-se a tabela 9, nota-se que algumas cepas eram resistentes a quase todos os antimicrobianos (casos 27, 31 e 39). Os casos 22 e 62 eram resistentes a oito agentes, considerando-se os moderadamente resistentes (M) como resistentes (R). No entanto, seis cepas isoladas dos casos 6, 26 (p e g), 49, 65 e 73 eram sensíveis a todos os antimicrobianos.

O antibiótico peptídico teicoplanina foi o agente mais eficaz, com apenas uma cepa (caso 22 – *Staphylococcus capitis*) apresentando resultado moderadamente resistente (M).

Tabela 9– Perfil de resistência das 37 cepas isoladas a 12 agentes antimicrobianos.

	CIP	CLI	CLO	EI	GEN	OX	PN	RFM	SMT	TEC	TET	VC
6p (*S. hyicus*)	M	S	M	S	S	S	R	S	R	S	S	S
6g/6i (*S. carnosus*)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
15 (*B. subtilis*)	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19 (*S. capitis*)	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
22 (*S. capitis*	R	S	R	R	M	S	R	S	R	M	M	S
23 (*M. sedentarius*)	S	R	S	R	S	M	S	S	S	S	S	S
25bca (*S. intermedius*)	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
25am (*S. epidermidis*)	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
26p (*S. intermedius*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
26g (*S. saprophyticus*)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
27BHI/Mc (*F. lutescens*)	S	R	R	R	R	R	R	M	R	S	R	R
28 (*S. capitis*)	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S
31 (*P. stutzeri*)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
39p (*S. epidermidis*)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
39g (*S. carnosus*)	S	S	S	S	S	S	M	S	S	S	S	S
39CG+1/2 (*S. xylosus*)	R	M	M	R	R	M	R	M	M	S	M	S
43p (*B.circulans*)	S	R	M	R	S	M	M	S	S	S	S	S
43g (*B. sphaericus*)	S	R	M	R	S	S	M	S	S	S	S	S
49 (*M.nishinomiyaensis*)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
50 (*S. hyicus*)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	M	S
56g/p (*S. capitis*)	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
57 (*B.circulans*)	S	R	S	S	S	R	M	S	R	S	S	R
58-1/-2 (*B. cereus*)	M	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S
59-1/-2 (*S. epidermidis*)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
61 (*R. equi*)	S	R	S	S	S	R	M	S	S	S	S	S
62 (*B. cereus*)	M	M	S	S	S	R	R	M	R	S	M	S
63 (*B. cereus*)	S	S	S	S	S	S	M	S	S	S	S	S
64 (*S. capitis*)	S	R	S	S	S	R	M	S	S	S	S	S
65g/p (*S. capitis*)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
66 (*S. hyicus*)	S	S	S	S	S	S	R	S	M	S	S	S
73 (*S. hyicus*)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
78bca (*S. carnosus*)	S	S	S	S	S	S	M	S	S	S	S	S
78transp (*S. hyicus*)	S	S	M	S	S	S	R	S	S	S	S	S
79bca (*B. cereus*)	S	M	S	S	S	R	R	M	R	S	S	S
79rug (*B. megatherium*)	M	R	S	S	S	S	M	S	S	S	M	S
82 (*S. xylosus*)	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
83bca/transp (*S. hyicus*)	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S

R-resistente, M-moderadamente resistente, S-sensível, CIP-ciprofloxacina, CLI-clindamicina, CLO-cloranfenicol, EI-eritromicina, GEN-gentamicina, OX-oxacilina, PN-penicilina, RFM-rifampicina, SMT-sulfametrim, TEC-teicoplanina, TET-tetraciclina, VC-vancomicina.

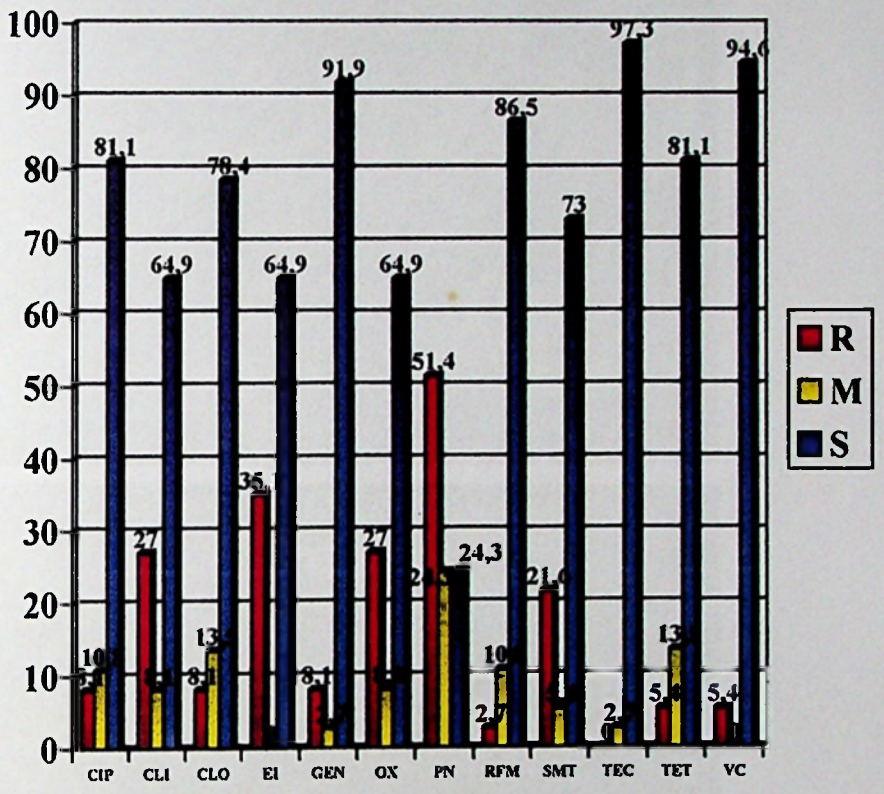


Figura 8- Representação gráfica da suscetibilidade das cepas isoladas de brocas para desgaste de acrílico a 12 agentes antimicrobianos, em porcentagem.

R-resistente, M-moderadamente resistente, S-sensível, CIP-ciprofloxacina, CLI-clindamicina, CLO-cloranfenicol, EI-eritromicina, GEN-gentamicina, OX-oxacilina, PN-penicilina, RFM-rifampicina, SMT-sulfametrim, TEC-teicoplanina, TET-tetraciclina, VC-vancomicina.

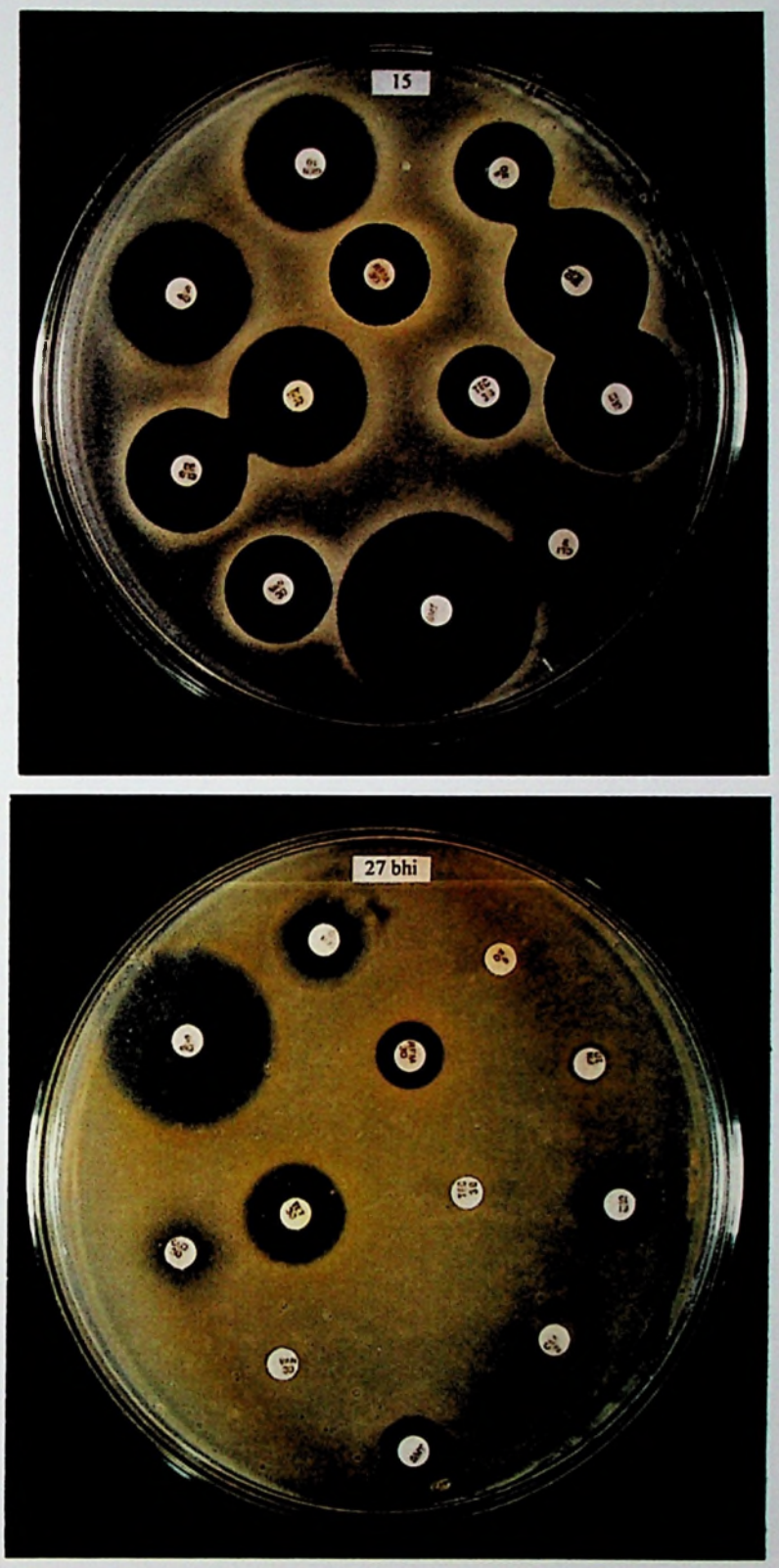


Figura 9- Visão panorâmica dos testes de suscetibilidade antimicrobiana das cepas 15, *Bacillus subtilis* e 27, *Flavobacterium lutescens*.

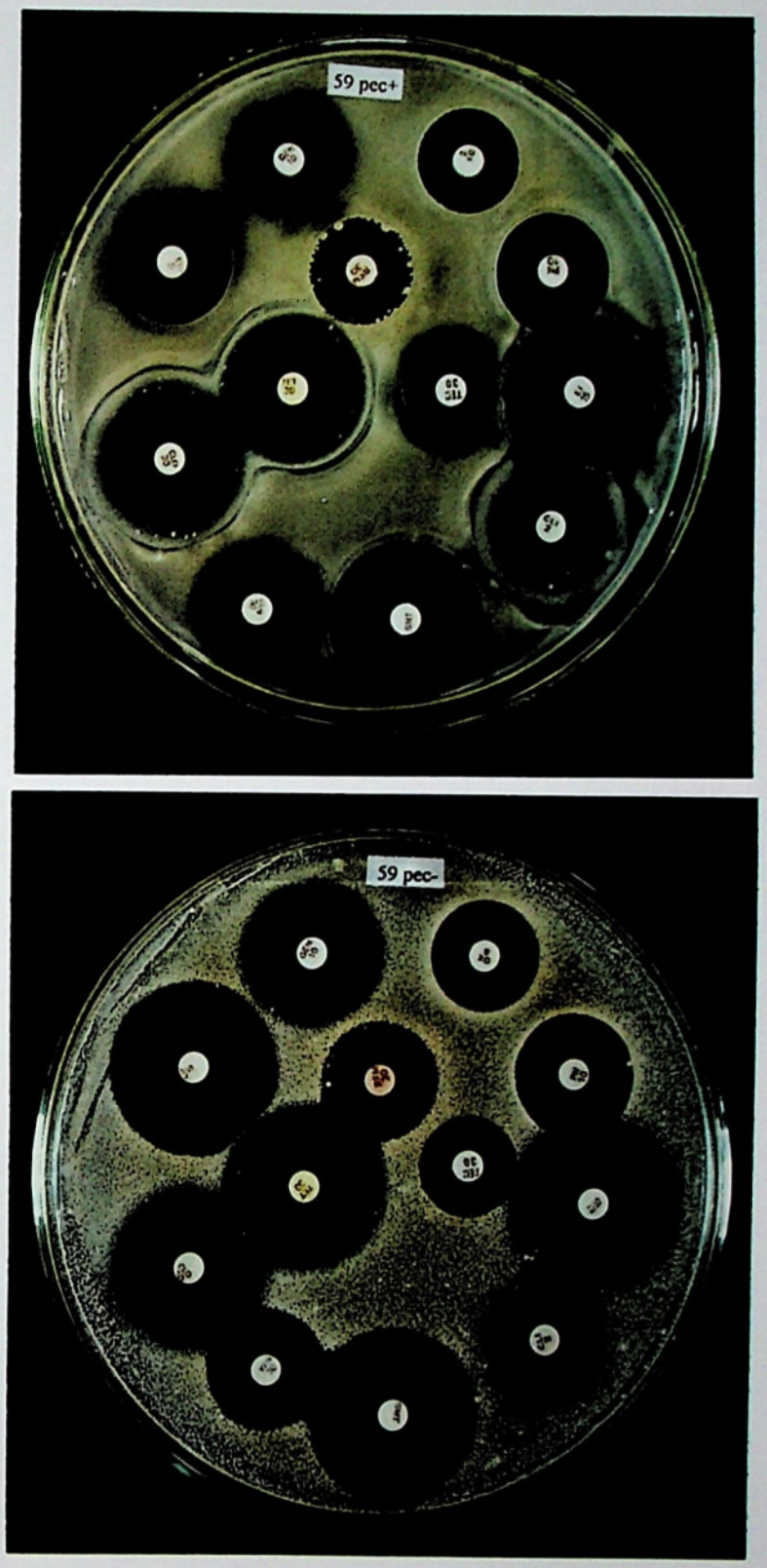


Figura 10- Visão panorâmica dos testes de suscetibilidade antimicrobiana da cepa 59, *Staphylococcus epidermidis*.

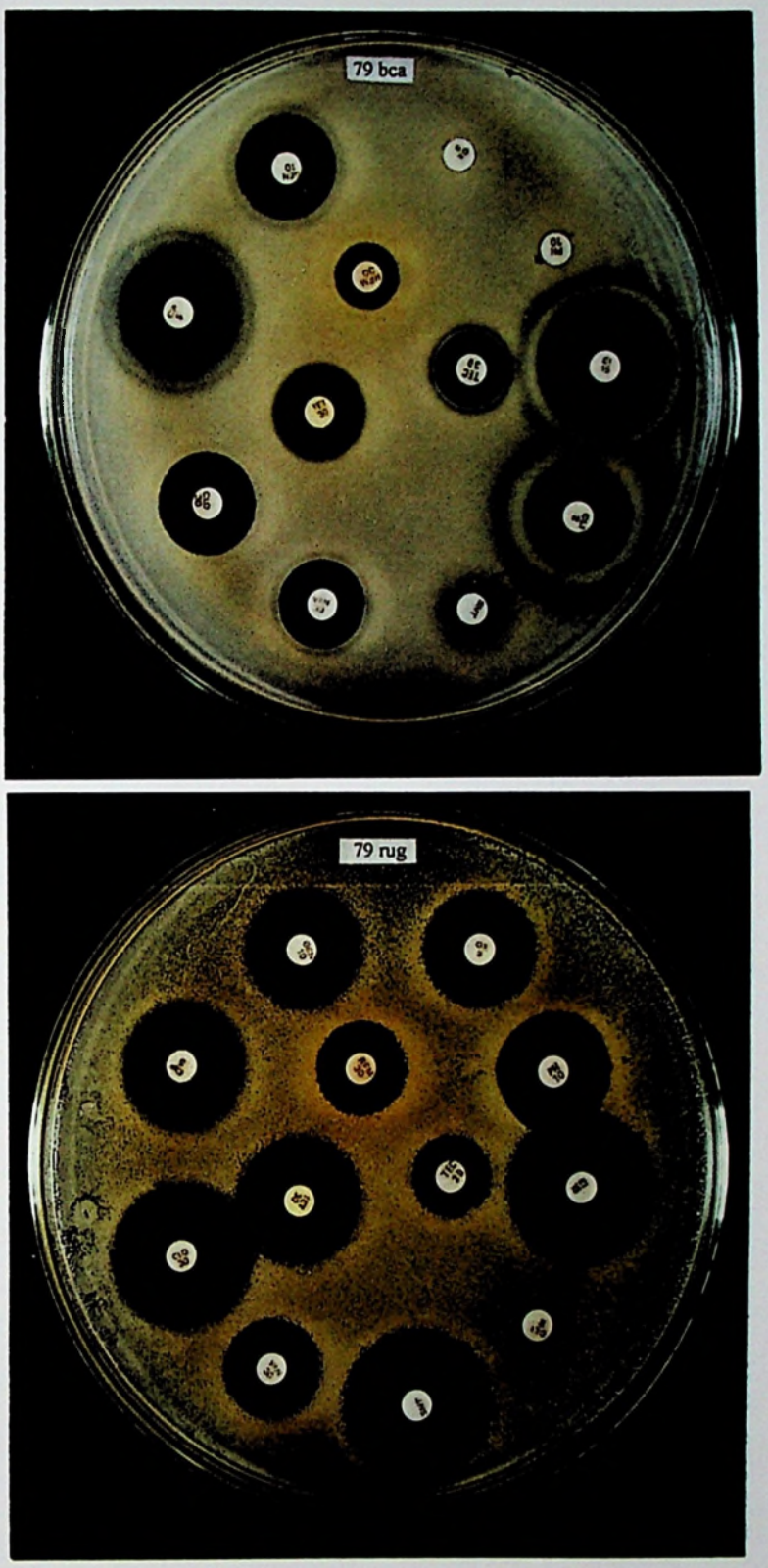


Figura 11- Visão panorâmica dos testes de suscetibilidade antimicrobiana das cepas 79 branca, *Bacillus cereus* e 79 rugosa, *Bacillus megatherium*..

6. DISCUSSÃO

A seleção de brocas para desgaste de acrílico foi resultante de uma série de fatores como: a inexistência de trabalhos que as avaliem do ponto de vista microbiológico; o fato de serem indispensáveis na realização de trabalhos protéticos, quer sejam próteses fixas, removíveis ou totais, sendo, portanto, de uso rotineiro para um grande número de profissionais; a ocorrência de injúrias com a broca, como por exemplo, a lesão acidental do dedo indicador quando a broca se enrosca na luva, durante procedimentos de desgaste e a observação clínica de que os alunos demonstravam pouca atenção ou preocupação com relação ao controle de infecção com este tipo de instrumental.

As brocas apresentaram um alto nível de contaminação para artigos semi-críticos considerados prontos para uso. Qualquer risco de infecção cruzada durante um tratamento de saúde, como o tratamento odontológico, é inaceitável, não importa o quão remoto ele possa ser.

Os resultados mostraram uma incoerência entre a conduta que os alunos sabem ser a indicada para a descontaminação de brocas para desgaste de acrílico, a que dizem realmente adotar e o nível de contaminação encontrado.

Esta turma foi selecionada porque representa um grupo homogêneo, com a mesma formação acadêmica e que tem recebido, durante o curso de Odontologia, orientações quanto à necessidade de prevenção da contaminação cruzada.

Embora 100% dos estudantes conheça os procedimentos a serem empregados com as fresas: esterilização ou desinfecção de alto nível, somente 52,5% diz aplicá-los, enquanto que, 43,8% dos alunos utiliza métodos como a simples lavagem ou a lavagem seguida de fricção com álcool a 70% (3,7%), medidas não recomendadas para o processamento de instrumental semi-crítico, refletindo falta de preocupação com o risco de infecção cruzada com as brocas. Os fatores responsáveis por este comportamento, podem ser o fato da fresa não ser introduzida na cavidade oral do paciente e da contaminação por saliva, como descrito por HACKNEY JR. et al. (1998), não ser visível, apesar de terem sido encontradas na clínica, quando da coleta, brocas claramente impregnadas por *debris*.

O risco de transmissão de doenças por meio deste instrumental não pode ser menosprezado levando-se em consideração o número de brocas contaminadas

detectadas, 29 das 80 avaliadas (36,3%) e a possibilidade de ocorrência de injúrias, comuns entre os alunos, principalmente, durante o início das atividades clínicas (MOLINARI, 1999) e situações como a instalação de próteses totais imediatas, nas quais os desgastes realizados podem promover a transferência de microrganismos para a prótese que entrará em contato direto com a ferida cirúrgica, podendo contaminá-la (CONNOR, 1991).

Correlacionando-se os dados obtidos no questionário aplicado aos alunos com os resultados microbiológicos (tabela 4), observou-se que, curiosamente, 12 brocas de graduandos que afirmavam realizar a esterilização em estufa ou por imersão em glutaraldeído apresentaram-se contaminadas. Sendo a esterilização a destruição de todas as formas de vida, ou seja, um procedimento absoluto (CDA, 1999), este resultado não deveria acontecer.

A explicação para este resultado pode ser decorrente de: os alunos relatarem procedimentos que na verdade não utilizam; a manipulação ou o armazenamento inadequado após o processamento; ou falhas no processamento.

Como verificado por NUTTAL & GILBERT (1993), o comportamento declarado nem sempre reflete o comportamento adotado pelos alunos. Este dado foi descrito por OGDEN et al., em 1997, que constataram que os procedimentos de controle de infecção relatados por estudantes de Odontologia em um hospital no Reino Unido, não condiziam com as observações de um pesquisador que, por três meses, acompanhou todas as atividades clínicas. Portanto, além da implementação de questionários para avaliar a aplicação de normas de biossegurança por alunos, deveria ser realizado concomitantemente um estudo observacional, como sugerido por NUTTAL & GILBERT (1993).

O local onde as brocas são mantidas é um ponto relevante no controle de infecção, uma vez que, o armazenamento inadequado pode levar, facilmente, à contaminação. Como todos os alunos que participaram do estudo armazenavam suas brocas em broqueiros termossensíveis e secos, quer sejam os modelos caixa de pesca ou os que mantinham as brocas em posição vertical, as fresas foram, necessariamente, transferidas após a desinfecção ou esterilização para os broqueiros. Este procedimento, de acordo com MILLER (1992) determina uma vida útil zero do

processo de esterilização ou desinfecção, uma vez que pode ocorrer a imediata contaminação por sangue ou saliva através de mãos, superfícies ou aerossóis, se a manipulação não é realizada de maneira asséptica. Coincidentemente ou não, todas as 29 brocas contaminadas eram mantidas em broqueiros do tipo caixa de pesca, nos quais a parte ativa da broca fica em contato com a superfície do broqueiro (tabela 5). Mas, não se pode afirmar ser esta uma das fontes de contaminação, uma vez que não foi realizada a avaliação microbiológica destes estojos.

A justificativa de brocas que, teoricamente, passaram por ciclos de esterilização encontrarem-se contaminadas pode, também, ser falha no procedimento. O sucesso da esterilização depende da correta e criteriosa escolha, aplicação e observação das características peculiares de cada método e dos fatores interferentes. Um erro implica em não alcançar o objetivo do processo, o que significa risco para o profissional, equipe e pacientes.

A esterilização química é realizada por meio da completa imersão dos instrumentos contaminados, mas para que seja efetiva exige a observação de certos critérios como: o tempo de contato do agente com o instrumental, a observação da data de validade e o registro da vida útil da substância, o enxágüe para a remoção do produto e a secagem (MILLER, 1996). Um tempo de imersão de 10 horas em solução de glutaraldeído a 2,0% é necessário para a esterilização do instrumental.

Existem três tipos de soluções de glutaraldeído: as ácidas, as alcalinas e as neutras. As duas últimas utilizam um ativador que é adicionado à solução, que passa a ter uma vida útil (*shelf-life*) de 14 ou 28 dias. Já os glutaraldeídos não ativados precisam ter respeitada a data de validade impressa na embalagem. Por ser uma substância tóxica, o instrumental após a descontaminação deve ser enxaguado e para que nesta fase não ocorra contaminação é necessário que, em condições assépticas, seja utilizada água esterilizada e da mesma forma na secagem deve ser utilizado campo esterilizado (WOOD, 1992; NAYLOR, 1992), o que não está disponível nas clínicas da FORP-USP. Os alunos enxáguam as fresas com água de torneira e a secagem é feita com toalhas de mão não esterilizadas, tornando o processo falho.

A esterilização pelo calor seco (forno de Pasteur) é o método mais barato e também o preferido por cirurgiões-dentistas porque preserva o fio de instrumentos de

corte. Embora as brocas possam ser autoclavadas, o vapor promove o escurecimento, a corrosão e, conseqüentemente, sua perda de corte (SCHUTT & STARSIAK, 1990).

Para a esterilização pelo calor seco, método de escolha para brocas de acordo com a ADA (1996), é necessário o respeito à capacidade da estufa, a distribuição adequada de material em seu interior, permitindo que o calor flua, a realização do ciclo de maneira correta (60 minutos a 170°C ou 120 minutos a 160°C) e um monitoramento periódico de sua eficácia por meio de indicadores químicos e biológicos (ADA, 1991). No caso dos graduandos da FORP, a esterilização em estufa é realizada na Central de Esterilização por técnicos treinados, onde há o monitoramento constante dos equipamentos.

A desinfecção de alto nível com glutaraldeído a 2,0% por 10 minutos, embora reconhecida pelos alunos como um método adequado, não foi citada como de escolha por nenhum deles.

A fricção das brocas com álcool a 70,0% de acordo com a técnica de MURAI et al. (1985), apesar de não recomendada para instrumental semi-crítico, era aplicada por três alunos e não foi observada contaminação nas brocas pertencentes a eles. MURAI et al., em 1985, empregaram a fricção com álcool etílico a 70,0% para a descontaminação de sondas periodontais utilizadas no exame de pacientes com bolsas com cerca de 5mm de profundidade. Verificaram que após três fricções as sondas encontravam-se livres de bactérias. O álcool a 70,0%, conhecidamente, possuidor de atividade antimicrobiana, parece ser potencializado pela fricção, que age removendo os microrganismos da superfície friccionada.

A simples lavagem com água e sabão, utilizada por 35 alunos (43,8%), não é um procedimento isolado recomendado para artigos semi-críticos. A lavagem com água e sabão deve preceder e ser utilizada conjuntamente com a desinfecção de alto nível ou esterilização. Do total de brocas contaminadas, 17 eram submetidas somente à lavagem (58,6%). Diversos estudos têm demonstrado a inefetividade dos detergentes contra muitos dos microrganismos que podem ser transmitidos durante o atendimento odontológico (COTTONE et al. 1996).

No que tange à identificação das espécies microbianas, das 29 brocas contaminadas, sete apresentavam-se contaminadas por mais de um microrganismo (tabela 6), tendo sido isoladas um total de 37 cepas de microrganismos como *Staphylococcus* sp, *Micrococcus* sp, *Rhodococcus* sp, *Baccillus* sp e bacilos gram-negativos como *Flavobacterium* sp e *Pseudomonas* sp (tabela 7), muitos deles resistentes a antibióticos de escolha em Odontologia, como a penicilina, o que é um dado preocupante.

A era do uso clínico de antibióticos tem pouco mais de meio século e não é excepcional encontrar indivíduos acometidos por infecções para as quais existam poucas e, por vezes, nenhuma alternativa terapêutica (RODRIGUES et al., 1997).

Pacientes idosos, que são geralmente os que mais necessitam de tratamento protético, assim como pacientes debilitados e imunocomprometidos como transplantados, estressados, doentes de AIDS, diabéticos, estariam em situação de risco, se contaminados por esses microrganismos.

Os *Staphylococcus* sp são cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, agrupados em massas irregulares ou em cachos de uva e são por excelência germes de supuração. As infecções por estafilococos podem ser agravadas por condições debilitantes locais e doenças como o diabetes, o câncer e a cirrose hepática (BIER, 1985).

Estafilococos coagulase-negativa (ECN): *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. intermedius*, *S. hyicus* e *S. capitis* eram considerados avirulentos e não patogênicos, mas nas últimas décadas passaram a ser reconhecidos como agentes de infecções como bacteriemias e osteomielites (RUNNELLS, 1988). O *S. saprophyticus* tem predileção pelo trato urinário, enquanto que, o *S. epidermidis* tem sido isolado de infecções crônicas de pele, infecções cirúrgicas e casos de endocardite bacteriana subaguda. Muitos são resistentes a penicilina, gentamicina, eritromicina e cloranfenicol (BOYD, 1995). Os *S. epidermidis* isolados nesse estudo mostraram-se resistentes a penicilina e eritromicina. Os ECN são os principais causadores de bacteriemias, nos EUA e estas têm maior risco de levar o paciente a óbito (RODRIGUES et al., 1997).

Os *Micrococcus* sp, identificados em duas brocas, são microrganismos do meio ambiente e compõem a microbiota transiente da pele e mucosas e em situações raras podem causar endocardite bacteriana (BOYD, 1995).

Os *Rhodococcus* sp têm sido identificados em surtos de infecção hospitalar (RODRIGUES et al., 1997).

Bacilos gram-positivos esporulados como *o Bacillus cereus, B. subtilis, B. megatherium, B. circulans, B. sphaericus* são saprófitas mas podem determinar doenças em pacientes debilitados ou idosos. A infecção por *Bacillus cereus* é a maior causa de problemas oculares decorrentes de traumas sem a penetração de instrumentos cirúrgicos. Ele infecta o humor vítreo e pode causar lesões na retina com perda de visão (BOYD, 1995).

Os bacilos gram-negativos não-fermentadores como a *Pseudomonas stutzeri* e o *Flavobacterium lutescens* tiveram sua importância aumentada nos últimos anos por terem sido identificados como agentes etiológicos de infecções hospitalares, principalmente, em pacientes que apresentam doenças debilitantes, idosos e crianças (RODRIGUES et al., 1997). As pseudomonas são consideradas bactérias globais e apresentam grande potencial metabólico e patogênico devido a múltiplos fatores que promovem a adesão a células do hospedeiro, destroem tecidos, provocam inflamações e impedem mecanismos de defesa (GOLDBERG, 2000; LYCZAK et al., 2000). São resistentes a muitos antibióticos comumente utilizados incluindo as penicilinas e cefalosporinas de 1ª e 2ª gerações, tetraciclinas e cloranfenicol. O padrão de resistências varia de cepa para cepa e pode mudar ano após ano, assim, a correta seleção de uma droga antimicrobiana deve estar baseada em testes de sensibilidade (SCHAECHTER et al., 1993). A *Pseudomonas stutzeri* presente em uma broca foi o microrganismo isolado mais resistente, sendo sensível apenas à teicoplanina e à vancomicina.

Os resultados apresentados neste estudo, apesar de serem relacionados a brocas para desgaste de acrílico, podem ser extrapolados para outros instrumentos de uso odontológico e refletem, de maneira geral, a conduta de alunos frente o controle de infecção cruzada.

A alteração deste panorama pode ser conseguida com uma palavra: educação.

Apesar de serem discutidos aspectos da biossegurança em diversas disciplinas do curso de graduação, a criação de uma disciplina específica de controle de infecção é uma proposta coerente e que deveria ser estendida a cursos de educação continuada (aperfeiçoamento, especialização, pós-graduação) para promover a atualização e reciclagem de profissionais.

7. CONCLUSÕES

Com base na metodologia empregada pode-se concluir que:

1- Os alunos do 6° período da FORP-USP cursando a disciplina de Prótese Parcial Fixa, no ano de 1998, conheciam as recomendações para o controle de infecção cruzada para as brocas para desgaste de acrílico.

2- Somente 52,5% dos graduandos aplicavam essas recomendações.

3- Das brocas consideradas prontas para uso, recolhidas, 36,25% apresentavam-se contaminadas.

4- Os gêneros dos microrganismos encontrados foram *Staphylococcus* sp, *Micrococcus* sp, *Baccillus* sp, *Rhodococcus* sp, *Flavobacterium* sp e *Pseudomonas* sp.

5- Foram detectados microrganismos resistentes a antibióticos como penicilina, clindamicina e eritromicina, muito utilizados em Odontologia e bactérias resistentes à vancomicina.

6- O antibiótico peptídico teicoplanina, recém-lançado no mercado, foi o agente antimicrobiano mais eficaz.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-ALVAREZ-LEITE, M.E. **Caracterização da conduta de cirurgiões-dentistas de Belo Horizonte frente aos procedimentos de controle de infecção cruzada:** uma perspectiva epidemiológica. Belo Horizonte, 1996. 254p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

2-AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council on Dental Materials, and Devices. Council on Dental Therapeutics. Infection control in the dental office. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.97, n.4, p.673-677, Apr. 1978.

3-AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council on Dental Materials, Instruments and Equipment. Sterilization required for infection control. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.122, n.12, p.80, Dec. 1991.

4-AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council on Dental Materials, Instruments and Equipment. Council on Dental Therapeutics. Council on Dental Research. Council on Dental Practice. Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.123, n.8, p.1-8, Aug. 1992. Suppl.

5-AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council on Scientific Affairs. Council on Dental Practice. Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.127, n.5, p.672-680, May. 1996.

6-ASSUMPÇÃO, R.M.V.; MORITA, T. **Manual de soluções, reagentes e solventes:** padronização, preparação, purificação. São Paulo, Edgard Blucher, 1968.

7-BEDNARSH, H.S.; EKLUND, K.J. Universal precautions reconsidered. **Dent. Assist.**, v.66, n.2, p.13-35, Mar-Apr. 1997.

8-BENTLEY, E.M.; SARLL, D.W. Improvements in cross-infection control in general dental practice. **Br. Dent. J.**, v.179, n.1, p.19-21, Jul. 1995.

9-BIER, O. **Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à higiene**. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.

10-BOYD, R.F. **Basic medical microbiology**. 5.ed. Boston, Little, Brown and Company, 1995. 642p.

11-CANADIAN DENTAL ASSOCIATION. Recommendations for infection control procedures. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.61, n.6, p.509, Jun. 1995.

12-CANADIAN DENTAL ASSOCIATION. Recommendations for implementation of infection control procedures. 1999. 12p. Via e-mail.

13-CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Recommended infection control practices for dentistry. **MMWR**, v.35, n.15, p.237-242, 1986.

14-CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. **MMWR**, v.36, n.2S, p.3S-18S, Aug. 1987. Suppl.

15-CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommended infection control practices for dentistry. **MMWR**, v. 42, n.RR-8, p.1-12, Jun. 1993.

16-CHRISTENSEN, R.P. Mantaining infection control during restorative procedures. **Dent. Clin. North. Am.**, v.37, n.3, p.301-327, Jul. 1993.

17-CONNOR, C. Cross-contamination control in prosthodontic practice. **Int. J. Prosth.**, v.4, n.4, p.337-344, Jul. 1991.

18-CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. (Brasil). **Biossegurança**. Rio de Janeiro, 1999. 30p.

19-COTTONE, J.A.; TEREZHALMY, G.T.; MOLINARI, J.A. **Practical infection control in dentistry**. Philadelphia, Lea & Febiger, 1991. 286p.

20-COTTONE, J.A; TEREZHALMY, G.T.; MOLINARI, J.A. **Practical infection control in dentistry**. 2.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1996. 437p.

21-CRAWFORD, J.J. State-of-the-art: practical infection control in dentistry. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.110, n.4, p.629-633, Apr. 1985.

22-CUNHA, V.J.; ROCHA, S.C.; ONOFRE, M.A.; CAMPOS, A.A.; SPOSTO, M.R. Avaliação do controle da infecção cruzada nas clínicas de graduação do curso de Odontologia. **Rev. Odontol. UNESP**, v.26, n.2, p.307-316, jul-dez. 1997.

23-DEAN, M.C.; WOOTEN, R.K. Special infection control considerations: restorative dentistry, periodontics, pediatric dentistry, prosthodontics, endodontics, orthodontics and oral and maxillofacial surgery. In: COTTONE, J. A.; TEREZHALMY, G. T.; MOLINARI, J. A. **Practical infection control in dentistry.** 2.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1996. Cap.17, p.255-280.

24-EPSTEIN, J.B.; MATHIAS, R.G.; BRIDGER, D.V. Survey of knowledge of infectious disease and infection control practices of dental specialists. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.61, n.1, p.35-44, Jan. 1995.

25-GOLDBERG, J.B. *Pseudomonas*: global bacteria. **Trends Microbiol.**, v.8, n.2, p.55-57, Feb. 2000.

26-HACKNEY JR., R.W.; CRAWFORD, J.J.; TULIS, J.J. Using a biological indicator to detect potential sources of cross-contamination in the dental operatory. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.129, n.11, p.1567-1577, Nov. 1998.

27-HARBARTH, S. Handwashing: the Semmelweis lesson misunderstood? **Clin. Infect. Dis.**, v.30, n.6, p.990-991, Jun. 2000.

28-HARDIE, J. Rationalizing infection control in the dental office. **Quintessence Int.**, v.27, n.5, p.301-307, May. 1996.

29-HORIBA, N.; YOSHIDA, T.; SUZUKI, K.; MAEKAWA, Y.; ITO, M.; MATSUMOTO, T.; NAKAMURA, H. Isolation of methicillin-resistant staphylococci in the dental operatory. **J. Endod.**, v.21, n.1, p.21-25, Jan. 1995.

30-HOVIUS, M. Disinfection and sterilization: the duties and responsibilities of dentists and dental hygienists. **Int. Dent. J.**, v.42, n.4, p.241-244, Aug. 1992.

31-ITO, I.Y.; COSTA, A.; BARACCHINI, O. Emprego da gema de ovo no isolamento de *Staphylococcus*. **An. Microbiol.**, v.16, p. 189-192, 1969.

32-ITO, I.Y.; SOUZA-GUGELMIN, M.C.M.; LIMA, S.N.M. Biossegurança: controle de infecção. In: LEONARDO, M.R. & LEAL, J.M. **Endodontia:** tratamento de canais radiculares. 3.ed. São Paulo, Panamericana, 1998. Cap.12, p.261-297.

33-JORGE, J.; JORGE, R.; ALMEIDA, O.P.; SCULLY, C. Knowledge of and attitudes about blood-borne viruses and infection control in brazilian dental practice. **Oral Dis.**, v.2, n.1, p.41-44, Mar. 1996.

34-LIMA, S.N.M.; ITO, I.Y. Infecções odontogênicas: controle de infecções no consultório odontológico. Sistema BEDA de controle - parte I. **Rev. Paul. Odontol.**, v.15, n.5, p.46-47, set-out. 1993.

35-LYCZAK, J.B.; CANNON, C.L.; PIER, G.B. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. **Microb. Infect.**, v.2, p.1051-1060, 2000.

36-LORD, T.H. **Determinative bacteriology:** laboratory manual. Mineapolis, Burgess, 1960. 84p.

37-LOTUFO, R.M.; GIORGI, S.M. Infecção cruzada: existe no seu consultório? **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v.45, n.2, p:105-107, mar-abr. 1990.

38-MAGRO-FILHO, O.; MELO, M.S.; MARTIN, S.C. Métodos de esterilização, desinfeção e paramentação utilizados pelo cirurgião-dentista e auxiliar no consultório odontológico. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v.45, n.5, p.589-592, set-out. 1991.

39-McCARTHY, G.M.; KOVAL, J.J.; JOHN, M.A.; MacDONALD. J.K. Infection control practices across Canada: do dentists follow the recommendations? **J. Can. Dent. Assoc.**, v.65, n.9, p.506-511, Oct. 1999.

40-MERCHANT, V.A.; MOLINARI, J. A. Continuing progress in infection control in US Dental Schools. **J. Dent. Educ.**, v.54, n.8, p.521-526, Aug. 1990.

41-MILLER, C.H. Sterilization and disinfection: what every dentist needs to know. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.123, n.3, p.46-54, Mar. 1992.

42-MILLER, C.H. Infection control. **Dent. Clin. North. Am.**, v.40, n.2, p.437-456, Apr. 1996.

43-MOLINARI, J.A. Practical infection control for the 1990s: applying science to government regulations. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.125, n.9, p.1189-1197, Sep. 1994.

44-MOLINARI, J.A. Dental infection control at the year 2000: accomplishment recognized. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.130, n.9, p.1291-1298, Sep. 1999.

45-MOLINARI, J.A., MERCHANT, V.A.; GLEASON, M.J. Controversies in infection control. **Dent. Clin. North. Am.**, v.34, n.1, p.55-69, Jan. 1990.

46-MURAI, S.; ITO, K.; GOKE, E.; TSUJI, Y.; SANO, M.; YOSHINUMA, N. The cleaning effects of disinfectant on microorganisms adhering to a probe after examination of periodontal pockets. **J. Nihon Univ. School Dent.**, v.27, n.4, p. 247-251, Dec. 1985.

47-MURRAY, P.R., BARON, P.R.; PFALLER, E.J.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of clinical microbiology**. 6.ed. Washington, ASM Press, 1995.

48-MURRAY, J.P.; SLACK, G. L. Some sources of bacterial contamination in every day dental practice. **Br. Dent. J.**, v.102, n.5, p.172-174, Sep. 1957.

49-NATIONAL COMMITEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **Ninth Information Supplement NCCLS**, v.19, n.1, p.1-104, 1999. Document M100-S9.

50-NAYLOR, W.P. Infection control in fixed prosthodontics. **Dent. Clin. North. Am.**, v.36, n.3, p.809-831, Jul. 1992.

51-NUTT, S.; ELLIS, E.; BURRY, A. The truth about HIV/AIDS and infection control practices in dentistry. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.65, n.6, p.334-336, Jun. 1999.

52-NUTTALL, N.M.; GILBERT, A.D. Final year dental student's views on cross-infection precautions. **J. Dent.**, v.21, n.2, p.105-110, Apr. 1993.

53-OGDEN, G.R., BAHRAMI, M.; SIVARAJASINGAM, V.; PHILLIPS, G.. Dental students' knowledge and compliance in cross infection control procedures at a UK dental hospital. **Oral Dis.**, v.3, n.1, p.25-30, Mar. 1997.

54-PLEASURE, M.A; DUERR, E.L. GOLDMAN, M. Eliminating a health hazard in prosthodontic treatment of patients with pulmonary tuberculosis. **J. Prosthet. Dent.**, v.9, n.5, p.818-824, Sep-Oct. 1959.

55-POSTGATE, J. **Microbes and man**. 3.ed. New York, Cambridge University Press, 1992. 297p.

56-ROCHA, H.; ZULIANI, M.E.; TRABULSI, L.R. Antibiograma. **Rev. Microbiol.**, v.3, n.1, p.51-60, jan-mar. 1972.

57-RODRIGUES, E.A.; MENDONÇA, J.S.; AMARANTE, J.M.B.; ALVES FILHO, M.B.; GRINBAUM, R.S.; RICHTMANN, R. **Infecções hospitalares:** prevenção e controle. São Paulo, Sarvier, 1997. 669p.

58-RUNNELLS, R.R. An overview of infection control in dental practice. **J. Prosthet. Dent.**, v.59, n.5, p.625-629, May. 1988.

59-SAMARANAYAKE, L. Rules of infection control. **Int. Dent. J.**, v.43, n.6, p.578-584, Dec. 1993.

60-SANTOS, N.Q. **Infecção hospitalar:** uma reflexão histórico-crítica. Florianópolis, Editora da UFSC, 1997. 144p.

61-SÃO PAULO (Estado). Portaria CVS-11 de 4 de julho de 1995. Dispõe sobre regras e instruções sobre biossegurança no Estado de São Paulo. **Diário Oficial de Estado**, São Paulo, 5 jul. 1995. Seção I, v.105, n.126, p.11-12.

62-SÃO PAULO (Estado). Resolução SS-15 de 18 de janeiro de 1999. Aprova norma técnica que estabelece condições para a instalação e funcionamento de estabelecimentos de assistência odontológica e dá providências correlatas. **Diário Oficial de Estado**, São Paulo, 20 jan. 1999. Seção I, v.109, n.13, p.21.

63-SAVAGE, N.W.; WALSH, L.J. Integrating infection control into the dental curriculum. **Aust. Dent. J.**, v.42, n.6, p.395-398, Dec. 1997.

64-SCHAECHTER, M; MEDOFF, G; EISENSTEIN, B.I. **Mechanisms of microbial disease**. 2.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1993. 973p.

65-SCHUTT, R.W.; STARSIAK, W.J. Glass bead sterilisation of surgical dental burs. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v.19, n.4, p.250-251, Aug. 1990.

66-SHEARER, B.G. Biofilm and the dental office. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.127, n.2, p.181-189, Feb. 1996.

67-SNEATH, P.H.A. Endospore-forming Gram-positive rods and cocci. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E.; HOLT, J.G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1996. Cap. 13, p.1104-1141.

68-SOBER, H.A.; HARTE, R.A. **Handbook of biochemistry:** selected data for molecular biology. Cleveland, Chemical Ruber, 1968.

69-SPAULDING, E.H. Chemical disinfection and antisepsis in the hospital. **J. Hosp. Res.**, v.9, p.5-31, 1972.

70-STERN, M.A.; WHITACRE, R.J. Avoiding cross-contamination in prosthodontics. **J. Prosthet. Dent.**, v.46, n.2, p.120-122, Aug. 1981.

71-TAKAGI, Y.; OHYAMA, T. Infection control in the dental clinic for outpatients. **Dent. Japn.**, v.36, p.189-193, Mar. 2000.

72-TEREZHALMY, G.T.; GITTO, C.A. Today's minimal requirements for a practical dental office infection control and exposure control program. **Dent. Clin. North. Am.**, v.42, n.4, p.629-643, Oct. 1998.

73-WOOD, P.R. **Cross infection control in dentistry:** a practical illustrated guide. St Louis, Mosby, 1992. 207p.

74-WOODS, R. Universal precautions and pathways of infection. **J. Dent. Assoc. S. Afr.**, v.52, n.3, p.194-196, Mar. 1997.

SUMMARY

Acrylic resin burs are semi-critical instruments and have been overlooked in infection control. The purpose of this study was to verify the presence of microrganisms in acrylic resin burs, that were ready to be used, from 80 graduation students at FORP-USP. A survey on methods of infection control applied to acrylic resin burs was conducted and the isolates were identified and tested against 12 antimicrobial agents. Although the students know how to proceed with the burs, there was a high contamination percentage (36,3%) and some burs were contaminated with more than one species. There were isolated gram-positive cocci and bacilli and gram-negative bacilli resistants to antibiotics commonly used in Dentistry like penicillin, clindamicin and eritromicin.