UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM

FLÁVIA MORAIS GOMES PINTO

DESINFECÇÃO DAS CANETAS DE ALTA ROTAÇÃO COM
ÁLCOOL 70% P/V SEM LIMPEZA PRÉVIA:
avaliação do risco de infecção cruzada

SÃO PAULO
2013

FLÁVIA MORAIS GOMES PINTO

**DESINFECÇÃO DAS CANETAS DE ALTA ROTAÇÃO COM
ÁLCOOL 70% P/V SEM LIMPEZA PRÉVIA:
avaliação do risco de infecção cruzada**

Tese apresentada à Escola de Enfermagem
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Enfermagem na
Saúde do Adulto

Orientadora:
Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano

**SÃO PAULO
2013**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: _____

Data ____/____/____

Catálogo na Publicação (CIP)
Biblioteca “Wanda de Aguiar Horta”
Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo

Pinto, Flávia Moraes Gomes

Desinfecção das canetas de alta rotação com álcool 70% p/v sem limpeza prévia: avaliação do risco de infecção cruzada / Flávia Moraes Gomes Pinto. -- São Paulo, 2013.

114 p.

Tese (Doutorado) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Prof^{fa} Dr^a Kazuko Uchikawa Graziano

Área de concentração: Enfermagem na Saúde do Adulto

1. Esterilização de instrumentos odontológicos
2. Equipamentos odontológicos 3. Desinfecção 4. Controle de infecções 5. Enfermagem I. Título.

Nome: Flávia Moraes Gomes Pinto

Titulo: Desinfecção das canetas de alta rotação com álcool 70% p/v sem
limpeza prévia: avaliação do risco de infecção cruzada

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Enfermagem na
Saúde do Adulto – PROESA da Escola de Enfermagem da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*A meu marido **Fernando Campos Gomes Pinto**,
pelo companheirismo, suporte emocional e financeiro
para que eu pudesse chegar até aqui!*

*E a meus filhos, **Lara e Frederico**
que nasceram no decorrer desses 4 anos de
doutorado e tiveram que desenvolver paciência e
tolerância nos momentos de ausência.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **Profª Kazuko Uchikawa Graziano** pelos ensinamentos pautados em muita humildade e sabedoria.

A meus pais, **Marisa dos Santos Moraes e José de Souza Moraes**, pelo apoio emocional e estrutural nesses anos de estudo.

A meus irmãos e cunhados, **Karin e Odirley, Cristiane e Rafael**, pela força e apoio durante as narrativas de meus trabalhos.

A meus sogros, **Eli e Alzerino** e a meus cunhados **Renata e André**, pelo apoio e conselhos nos momentos de desespero e insegurança.

A meus sobrinhos, **João Victor, Odirley Júnior e Dimitry** e as sobrinhas e afilhadas **Layssa, Gabriela e Bárbara**, pela participação pontual no desenvolvimento e crescimento de vocês!

A meus amigos doutorandos e mestrandos, **Camila, Tamara, Giovana, Rafael, Alda, Juliana, Maíra, Alexandra**, pelo suporte e companheirismo, durante todos esses anos, sem exigir nada em troca. E a nossas parceiras e expertises em Controle de Infecção, **Julia Kawagoe e Maria Clara Padoveze**, pelas sugestões e contribuições em nossas pesquisas.

A toda **equipe do Laboratório da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa**, em especial, **Cely e Suzete**, pela disponibilidade e prontidão sempre que precisei durante toda a pesquisa deste estudo e de outros.

Aos odontólogos e assistentes do Centro Odontológico onde as amostras foram coletas, **em especial ao Dr. Flávio Augusto Merichello**, pela oportunidade, disponibilidade e paciência, durante a coleta das amostras e pela cooperação dos pacientes.

A Kavo® na pessoa da Sra. Fernanda, pelo empréstimo das CAR para os testes de validação e auxílio financeiro para realização dos pré-testes.

A Ângela e Yara, odontólogas especialistas em biossegurança, pelas ricas discussões no período da definição do problema da investigação desta tese.

A Sirona®, em especial, Daniel Marques e Marcos Araújo, pelo fornecimento do produto para desinfecção das linhas de água das unidades odontológicas do local da coleta das amostras.

A Rubens da Rioquímica®, pela disponibilidade em fornecer os produtos para nossas pesquisas com prontidão e agilidade.

***Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece
como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa
qualquer entendimento.***

Clarice Lispector

Pinto FMG. Desinfecção das canetas de alta rotação com álcool 70% p/v sem limpeza prévia: avaliação do risco de infecção cruzada [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2013.

RESUMO

Introdução: Na prática clínica odontológica, justificada pela praticidade, tempo curto disponível entre os atendimentos, associados à insuficiente previsão e provisão das Canetas de Alta Rotação (CAR), a descontaminação destas por meio de aplicação direta do álcool 70% p/v, sem limpeza prévia, é uma realidade. Este procedimento contraria, *a priori*, os protocolos de processamento que recomendam, no mínimo, limpeza seguida de desinfecção de alto nível para prevenção de infecção cruzada. **Objetivo:** avaliar a desinfecção das CAR com álcool 70% p/v, sem limpeza prévia com vistas ao risco de causar infecção cruzada. **Método:** caracterizou-se como uma pesquisa pragmática em um Estabelecimento Odontológico, onde rotineiramente as práticas de interesse para o estudo estavam presentes. O grupo experimental foi composto por 100 amostras de CAR utilizadas em tratamentos diversos, após a fricção do desinfetante por 90 segundos em sua superfície externa. Para avaliação dos resultados, uma gaze umedecida com soro fisiológico foi utilizada como carreador para o arraste dos possíveis micro-organismos nas superfícies desinfetadas. Metade do número das amostras (50) foi analisada pelo método de filtração por membrana (Método I - quantitativo), sendo cada gaze imersa em 300 mL de solução fisiológica. Sequencialmente, as amostras foram expostas a sonicação e agitação. Em seguida, o lavado foi filtrado em três partes iguais para diferentes análises (micro-organismos aeróbios, anaeróbios e específicos da microbiota oral humana), por meio da membrana com porosidade de 0,45 µm. As outras 50 amostras foram analisadas pelo método de imersão direta da gaze em meio de cultura *Fluid Thioglycollate Medium* (Método II – qualitativo). O tubo contendo a gaze foi agitado e incubado a 37°C por 21 dias. **Resultados:** as amostras analisadas pelo Método I apresentaram crescimento positivo em 27/50 (54%) das amostras na faixa de 10^0 a 10^2 UFC/amostra. Deste total,

foram identificados sete micro-organismos distintos, representados por 37,1% do *Staphylococcus* coagulase negativa, 28,5% dos *Bacillus* spp, 17,1% dos Bacilo Gram positivos não esporulados, 5,7% dos *Micrococcus* spp, 5,7% dos *Penicillium* spp, 2,8% *Acinetobacter baumannii* e 2,8% da *Candida* spp. No grupo analisado pelo Método II, o total de tubos com crescimento positivo foi de 12/50 (24%) amostras. Deste total, foram identificados três micro-organismos distintos, sendo 38,4% de Bacilos Gram positivos inespecíficos, seguidos dos *Staphylococcus* spp e *Peptococcus* spp com a mesma porcentagem de positividade de 30,7% cada. O grupo controle negativo, composto por amostras submetidas à limpeza e esterilização consecutiva, apresentaram resultados satisfatórios de ausência microbiana na totalidade das amostras. O crescimento médio encontrado no grupo controle positivo foi de 17,5 UFC/placa, com exceção de uma amostra que apresentou crescimento incontável. **Conclusão:** os resultados da presente investigação reprovam a prática da descontaminação das CAR com álcool 70% p/v, sem limpeza prévia, substanciada pela sobrevivência de micro-organismos que não corresponderam à ação fungicida e bactericida esperada do álcool 70% p/v na condição de desinfetante de nível intermediário. Outro aspecto que reforça a reprovação da prática analisada é a consideração de que os micro-organismos recuperados, mesmo sendo de baixo potencial patogênico, podem comportar-se como anfíbios, isto é, são capazes de agredir o hospedeiro quando as condições ambientais e imunológicas são favoráveis aos micro-organismos, causando infecção.

PALAVRAS-CHAVE: equipamentos odontológicos de alta rotação, desinfecção, álcool etílico, esterilização, controle de infecção em instalações de saúde dentária, Enfermagem, Central de Material.

Pinto FMG. Disinfection of high-speed dental equipment with 70% ethanol without previous cleaning: assessment of cross-infection risk [thesis]. São Paulo (SP), Brasil: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2013.

ABSTRACT

Introduction: In dental clinical practice, decontamination of high-speed dental equipment (HSDE) by direct use of 70% ethanol without previous cleaning, justified by practicality, the short-time available between appointments, together with inadequate predicting and provision of HSDE, is a reality. This procedure, *a priori*, contradicts the processing protocols recommended to prevent cross-infection. **Objective:** to evaluate the disinfection of HSDE with 70% ethanol without previous cleaning, with views of cross-infection risk. **Method:** the present study was characterized as a pragmatic research in a Dental Office, which practices of interest to the study were routinely performed. The experimental group consisted of 100 samples of HSDE used in different treatments after rubbing the disinfectant for 90 seconds on its outer surface. To evaluate the results, gauze moistened with saline solution was used as a carrier for obtaining microorganisms from the disinfected surfaces. Half of the samples (50) were analyzed by membrane filtration (Method I - quantitative), with the gauze being immersed in 300 mL of saline solution. Sequentially, the sample was exposed to sonication and agitation. After that, the lavage was filtered in three equal parts for different analyses, through a membrane with 0.45 µm porosity and seeded on blood agar culture medium, for recovery of aerobic and anaerobic microorganisms, as well as those specifically found in the human oral microbiota. The other 50 samples were analyzed by direct immersion of the gauze in culture medium (Method II - Qualitative): after rubbing the wet gauze on the outer surface of the HSDE, it was placed directly in Fluid Thioglycollate culture medium. The tube containing the gauze was shaken in a vortex mixer and then incubated at 37 ° C for 21 days. **Results:** samples analyzed by Method I, showed positive growth in

27/50 (54%) of the samples within the range of 10^0 to 10^2 CFU/sample. Of this total, 7 different microorganisms were identified, represented by 37.1% of coagulase-negative *Staphylococcus*, 28.5% of *Bacillus* spp, 17.1% of non-sporulating Gram-positive bacillus, 5.7% of *Micrococcus* spp, 5.7 % of *Penicillium* spp, 2.8% of *Acinetobacter baumannii* and 2.8% of *Candida* spp. In the group analyzed by Method II, the total number of tubes with positive growth was 12/50 (24%) samples. Of this total, we identified 2 different microorganisms, being 38.4% of Gram-positive bacillus nonspecific, followed by *Staphylococcus* spp and *Peptococcus* spp with the same percentage of positivity of 30.7% each. The negative control group, composed of samples subjected to cleaning and sterilization consecutive showed satisfactory results. The average growth found in the positive control group was 17.5 CFU/sample, except for one sample that showed growth uncountable. **Conclusion:** the results of the present study do not support the practice of decontamination of HSDE with 70% ethanol without previous cleaning, based on the evidence of microorganism survival that did not meet the expected bactericidal and fungicidal action of alcohol as an intermediate level disinfectant. Another aspect that reinforces the disapproval this practice, it is the consideration that the micro-organisms recovered, even being low pathogenic potential, may behave as anfibionte, which are capable of harming the host when the environmental and immune conditions are favorable to micro-organisms, causing infection.

KEY WORDS: dental high-speed equipment, disinfection, ethanol, sterilization, infection control in dental health facilities, Nursing, Material Center.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Agrupamento por cores das espécies microbianas que compõem a microbiota humana, conforme Socransky (1998). São Paulo, 2013. 42
- Figura 2** - A - Caneta de alta rotação montada usada nos procedimentos odontológicos; B - Linhas internas de ar, água e rolamentos da Canetas de alta rotação desmontada. São Paulo, 2013. 55
- Figura 3** - Procedimento de desinfecção do sistema de água que arrefece as CAR antecedendo as coletas das amostras. São Paulo, 2013. 62
- Figura 4** - Composição do sistema de filtração *Sterifil Holder*, Millipore®, utilizado no Método I. São Paulo, 2013. 65
- Figura 5** - Amostras analisadas pelo Método II - semeadura direta, incubadas em estufa microbiológica. São Paulo, 2013. 67

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Agentes etiológicos mais frequentes em infecções odontológicas de acordo com as doenças desenvolvidas. São Paulo, 2013. 43
- Quadro 2** - Distribuição da contagem microbiana (*Serratia marcescens* ATCC 14756) pela técnica da diluição seriada, segundo os métodos de extração da gaze, tendo como variável a presença ou ausência da sonicação. São Paulo, 2012. 73
- Quadro 3** - Distribuição da contagem microbiana pela técnica de diluição seriada, do arraste microbiano realizado pela gaze nas CAR, após contaminação desafio. São Paulo, 2012. 74
- Quadro 4** - Distribuição do número de gaze utilizada para o arraste microbiano *versus* tempo de contato do álcool 70% p/v na desinfecção das canetas de alta rotação. São Paulo, 2012..... 75
- Quadro 5** - Distribuição das amostras com crescimento positivo pelo análise do Método I de filtração por membranas, de acordo com o micro-organismo e número de unidades formadora de colônia/amostra. São Paulo, 2013. 77
- Quadro 6** - Distribuição das amostras com crescimento positivo analisadas pelo Método II por semeadura direta, de acordo com o micro-organismo identificado. São Paulo, 2013. 78
- Quadro 7** - Apresentação dos principais agentes etiológicos das infecções odontológicas, dos micro-organismos recuperados no grupo controle positivo e nos grupos experimental. São Paulo, 2013..... 79
- Quadro 8** - Distribuição das UFC/amostra de crescimento microbiano nas amostras do grupo controle positivo. São Paulo, 2012. 80

LISTA DE SIGLAS

ADA	<i>American Dental Association</i>
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
CAR	Caneta (s) de Alta Rotação
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention - USA</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HBC	Vírus da Hepatite C
HBC	Vírus da Hepatite B
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
MCR	Micobactéria de Crescimento Rápido
MS	Ministério da Saúde
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
QAC	Compostos de Quaternário de Amônio
RDC	Resoluções de Diretoria Colegiada
UFC	Unidade (s) Formadora (s) de Colônia (s)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Celsius
%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
rpm	Rotação por minuto
pH	Potencial hidrogeniônico
p/v	Peso por volume
v/v	Volume por volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	24
2.1 HISTÓRICO DA CLASSIFICAÇÃO PROPOSTA POR EARLE H. SPAULDING	24
2.2 A IMPORTÂNCIA DA LIMPEZA	27
2.3 NÍVEIS DE ATIVIDADE DOS DESINFETANTES	28
2.4 MECANISMOS DE AÇÃO DO ÁLCOOL	32
2.5 RESISTÊNCIA MICROBIANA AOS GERMICIDAS	35
2.6 PREVENÇÃO E CONTROLE DE INFECÇÃO NA ODONTOLOGIA.....	37
2.6.1 Processamento das canetas de alta rotação	46
3 OBJETIVO	52
4 MATERIAL E MÉTODO.....	54
4.1 TIPO DE PESQUISA	54
4.2 LOCAIS DA PESQUISA.....	54
4.3 MATERIAL.....	55
4.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO	56
4.4.1 Validações metodológicas	57
4.4.1.1 Extração microbiana da gaze	57
4.4.1.2 Arraste microbiano com a utilização de gaze.....	58
4.4.1.3 Número de esfregações por meio de gaze para o arraste microbiano por amostra <i>versus</i> o tempo de contato do álcool 70% p/v	59
4.4.1.4 Validação da desinfecção do sistema de água das unidades odontológicas	61
4.4.2 Coleta das amostras	62
4.4.2.1 Método I: análise pela filtração por membrana	64
4.4.2.2 Método II: análise pela semeadura direta	66
4.4.3 Grupo controle positivo e controle negativo.....	67
4.5 IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA.....	68
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA E TRATAMENTO DOS DADOS	71
4.7 PROCEDIMENTO ÉTICO.....	71
5 RESULTADOS.....	73
5.1 EXTRAÇÃO MICROBIANA DA GAZE	73
5.2 ARRASTE MICROBIANO PELA GAZE.....	74
5.3 NÚMERO DE GAZE PARA O ARRASTE MICROBIANO POR AMOSTRA <i>VERSUS</i> O TEMPO DE CONTATO DO ÁLCOOL 70% P/V	75
5.4 DESINFECÇÃO DO SISTEMA DE ÁGUA DAS UNIDADES ODONTOLÓGICAS	76
5.5 RESULTADO DO GRUPO EXPERIMENTAL	76
6 DISCUSSÃO	82
7 CONCLUSÃO	92
REFERÊNCIAS.....	94
APÊNDICES.....	103
ANEXOS	108

1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de infecção em decorrência de uma contaminação está presente como risco potencial durante qualquer procedimento assistencial, incluindo neste o tratamento odontológico, e diversos micro-organismos podem ser transmitidos entre pacientes e profissionais. Inegavelmente, os instrumentos odontológicos são potenciais fontes de contaminação e disseminação microbiana entre pacientes, ao albergar e carrear um universo de micro-organismos, o que justifica o gerenciamento seguro em seu processamento (Jorge, 2002; Rutala, Weber, 2008; Rutala, Weber, 2011; Alvarenga et al., 2011).

Uma lacuna identificada nos conhecimentos atuais em controle de infecção cruzada na prática odontológica relacionada a produtos refere-se à discussão de métodos e técnicas para a descontaminação das Canetas de Alta Rotação (CAR). A CAR é uma inovação tecnológica que trouxe indiscutíveis benefícios em sua aplicação, mas também desafios em sua descontaminação por ser um instrumental complexo.

Este instrumental é utilizado em diversos procedimentos odontológicos como a profilaxia dental, o preparo das cavidades para restaurações (removendo o esmalte e a dentina), nas odontosseccões e as osteotomias (cortes do dente e osso em procedimentos cirúrgicos). Pelos diferentes procedimentos e de acordo com o objetivo de seu uso, a CAR é classificada como um material crítico ou semicrítico.

Conforme a classificação dos materiais utilizados na assistência à saúde, considerando seu risco potencial de causar infecções proposta por Spaulding (1968), os materiais críticos são aqueles que entram em contato com tecidos e cavidades estéreis do corpo, devendo ser limpos e esterilizados de um uso a outro. Para

os materiais semicríticos, que entram em contato com as membranas mucosas colonizadas ou com pele não íntegra, a desinfecção de alto nível como procedimento mínimo é indicada. Os materiais não críticos que entram em contato com pele intacta, a limpeza é o procedimento mínimo, devendo ser complementada com a desinfecção de baixo nível na presença de alta carga microbiana (exemplo, comadres) de um uso a outro. Este referencial teórico que vem sendo adotado pelos Estabelecimentos de Assistência à Saúde não responde a todas as questões da ciência do processamento de materiais reutilizáveis, como por exemplo, a indicação da desinfecção de nível intermediário.

Dentro da classificação de risco em causar infecção, a recomendação oficial pelas sociedades científicas para descontaminação segura das CAR consiste na limpeza prévia com água, detergente e fricção mecânica, e posterior esterilização por autoclavação (ADA, 2006; CDC, 2008). No entanto, muitos profissionais realizam apenas a aplicação de álcool 70% p/v, sem a limpeza prévia do instrumental entre os atendimentos (Treasure et al, 1994; Pereira et al, 2008; Alvarenga et al, 2010).

As justificativas mais comuns entre os odontólogos para o descumprimento da norma de limpeza e esterilização padrão das CAR, após cada utilização em pacientes, é a praticidade da aplicação direta do álcool 70% p/v entre os atendimentos contra o tempo prolongado para reprocessá-las, seguindo Protocolo Operacional Padrão (POP). Os profissionais acrescentam também o dano causado no instrumental pela submissão a altas temperaturas durante o processo de esterilização, reduzindo assim a sua vida útil, o limite de área física para instalação de esterilizadoras, além do custo do inventário adequado de CAR, para realização do processamento padronizado entre os pacientes.

Ao utilizar o álcool 70% p/v no processo de desinfecção, é esperada a eliminação de micro-organismos presentes nas CAR,

porém com menor poder letal que a esterilização, pois não destrói todas as formas de vida microbiana, sobretudo os esporos (Favero, Bond, 2001; Rutala, Weber, 2008). No contexto da assistência à saúde, o álcool é amplamente usado como desinfetante de nível intermediário em superfícies (tanto o álcool etílico, 70% p/v, como o isopropílico, 92% p/v), pela sua atividade germicida com menor custo e pouca toxicidade, e o álcool etílico tem propriedades germicidas superiores ao isopropílico (Price, 2006). Geralmente, este germicida é considerado um antimicrobiano não específico, em razão da multiplicidade do mecanismo de efeito tóxico nas células microbianas (Rutala et al, 2008).

Na busca bibliográfica, foram encontrados poucos estudos sobre o processamento de CAR, e, destes, nenhum desenho metodológico demonstrou clareza na sua descrição. Destaca-se o de Pereira e colaboradores (2008) que, verificaram a ação bactericida e fungicida do álcool etílico 70% p/v na descontaminação da CAR, sem limpeza prévia, seguindo a rotina de uma instituição. As amostras foram coletadas esfregando *swabs* nas superfícies das CAR utilizadas no atendimento odontológico, após a aplicação do álcool 70% p/v. O crescimento microbiano em 65,7% do total das amostras de 70 unidades analisadas foi observado e, entre estes, cocos Gram positivos e leveduras. Os autores concluíram que o uso do álcool 70% p/v na descontaminação da CAR não foi eficiente para inativar os micro-organismos presentes no material.

No entanto, os autores não descrevem detalhes do método, como a validação do uso dos *swabs*, quanto ao número de vezes necessárias de fricção da superfície até o esgotamento ou arraste máximo dos micro-organismos sobreviventes, o tempo de contato do álcool 70% com as CAR utilizadas na desinfecção e o tipo/qualidade de água utilizada no sistema que arrefece as CAR. O estudo não se aprofunda na discussão dos micro-organismos recuperados frente ao referencial de ordem decrescente da atividade germicida,

proposta por Spaulding (1968), universalmente adotado como referencial teórico e também não analisou o risco clínico dos achados microbianos.

Mesmo reconhecendo os limites da ação germicida do álcool por ser um desinfetante de nível intermediário, esta prática vem se perpetuando, sem haver questionamentos maiores por quem a adota sobre a eficiência da descontaminação das CAR sem limpeza prévia. Outros fatores potencializam o aumento da carga microbiana das CAR, dificultando ainda mais a ação do álcool, como a contaminação pelo sistema de água das unidades odontológicas. Os biofilmes eventualmente presentes nas linhas de água podem contaminar o sistema de rolamento das CAR, desafiando a ação germicida do álcool 70% p/v, além do risco de inoculação direta de micro-organismos para dentro da cavidade oral do paciente durante o tratamento.

Estudos vêm demonstrando a alta concentração microbiana na água que arrefece o motor da CAR atribuída à presença de biofilme nas mangueiras e reservatórios dos equipos odontológicos (Watanabe et al., 2006; Watanabe et al, 2007; Watanabe, 2007; Watanabe et al., 2008), apresentando valores acima do recomendado pela *American Dental Association* - ADA (< 200 UFC/mL) e do permitido pela legislação brasileira (Portaria nº 2.914/2011 – Ministério da Saúde) para água potável (< 500 UFC/mL).

Para a descontaminação do sistema das linhas de água que arrefece as CAR (tubulações e reservatório), devem-se realizar *flushes* com água contendo desinfetante químico, após cada atendimento, conforme as recomendações da ADA e dos fabricantes do equipo odontológico. Além desta desinfecção, a água que abastece o reservatório deve ser a destilada ou a esterilizada. A água de torneira só está recomendada se for realizado um tratamento para manter um nível de carga microbiana aceitável ($\leq$

500 UFC/mL e livre de coliformes fecais em 100 mL, com atenção para *E.coli*) ou a instalação de filtros domésticos na saída da água que abastece o sistema das unidades odontológicas (ADA, 2012). O CDC (2003) recomenda o abastecimento do reservatório com água destilada esterilizada nos casos de procedimentos cirúrgicos que envolvam áreas estéreis da cavidade oral (exemplo nos casos de implante odontológico).

A descontaminação de materiais por meio da desinfecção com álcool 70% p/v não se restringe à área odontológica. Outras áreas e especialidades em saúde, destacando a otorrinolaringologia - com a utilização dos videorinoscópios, otoscópios, rinoscópios e laringoscópios, também praticam a descontaminação de produtos com aplicação do álcool 70% (p/v), algumas vezes, sem limpeza prévia. Os resultados obtidos com as CAR poderão ser extrapolados para outros materiais de diferentes especialidades, aumentando as bases teóricas para direcionar recomendações favoráveis ou desfavoráveis à prática investigada.

A falta de fortes evidências na segurança do uso do álcool 70% p/v na descontaminação de materiais odontológicos, em especial, as CAR sem limpeza prévia, faz com que esta prática assistencial continue sem respaldo baseada em dados científicos. Este estudo propõe dirimir esta dúvida avaliando a prática, a fim de trazer uma resposta para uma realidade nacional que ocorre em nosso meio.

Frente ao exposto, pelo fato de não se ter evidências epidemiológicas claras de que desinfetar CAR com álcool a 70% p/v sem limpeza prévia é uma prática condenada, causando infecções cruzadas, não se elaborou, a priori, uma hipótese de pesquisa. Assim sendo, a presente investigação caracterizou-se como um estudo genuinamente exploratório. O resultado desta pesquisa irá fundamentar as fiscalizações sanitárias e revisões das legislações pertinentes, assim como as revisões de POPs nas unidades

assistenciais odontológicas.

2

Referencial Teórico

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 HISTÓRICO DA CLASSIFICAÇÃO PROPOSTA POR EARLE H. SPAULDING

Historicamente, no início dos anos 1990, a U. S. *Food and Drug Administration* (FDA) começou ativamente a regulamentar todos os germicidas químicos líquidos. Para evitar problemas potenciais na regulamentação dos mesmos produtos dentro de múltiplas classes, o FDA decidiu regulamentar os germicidas químicos líquidos separadamente dos materiais utilizados na assistência à saúde (Favero, Bond, 2001).

Na época, o FDA adaptou a terminologia e a classificação propostas pelo microbiologista Earle H. Spaulding (1968) para categorizar os materiais utilizados na assistência à saúde aplicando os quatro níveis de descontaminação propostos pelo *U.S. Centers for Disease Control and Prevention - USA* (CDC) quais sejam: esterilização, desinfecção de alto nível, desinfecção de nível intermediário e desinfecção de baixo nível.

Vale esclarecer que o CDC não é uma agência regulatória, e não realiza testes de avaliação de germicidas químicos. Mas, o Programa de Infecção Hospitalar do CDC publica diretrizes (*guidelines*), contendo considerações gerais de métodos e indicações para processamento de materiais e descontaminação de superfícies ambientes dos serviços de saúde (Favero, Bond, 2001).

O CDC foi a primeira organização de renome a endossar e adotar o sistema de classificação de materiais propostos por Spaulding (1968), baseado em seu potencial de risco em causar infecções e promulgou a adoção de seu uso em todo território nacional nos Estados Unidos da América, seguido pelo FDA, sociedades profissionais e por outros países. Para Spaulding (1968),

a indicação da desinfecção ou da esterilização para os materiais utilizados na assistência à saúde poderia ser facilmente entendida pela divisão destes em três categorias gerais baseadas no risco de infecção envolvido em seu uso: críticos, semicríticos e não críticos.

Na primeira categoria, estão os materiais classificados como CRÍTICOS, pelo risco substancial de aquisição de infecção se os mesmos estiverem contaminados com micro-organismos no momento do uso. São materiais introduzidos diretamente no corpo humano, seja dentro ou em contato com a corrente sanguínea, ou áreas normalmente estéreis do corpo. Conforme Spaulding (1968), para essa categoria, necessitam ser esterilizados pelos métodos de calor (autoclavação) ou à baixa temperatura (óxido de etileno, plasma de peróxido de hidrogênio, ortoftaldeído) entre o atendimento aos pacientes. Atualmente, são métodos aceitos como esterilização pela legislação nacional RDC 15/2012: autoclave a vapor sob pressão, óxido de etileno, gás/plasma de peróxido de hidrogênio e vapor a baixa temperatura e formaldeído; estes três últimos métodos à baixa temperatura. No Brasil, a esterilização por meio de imersão em germicidas químicos, em que se incluem o glutaraldeído e o ácido peracético, está proibida pela RDC 8/2009, pela falha de processamento utilizando os saneantes líquidos, e que foi responsável pela ocorrência de surtos de infecção causados pela micobactéria de crescimento rápido, após procedimentos cirúrgicos e diagnósticos

Os materiais classificados como SEMICRÍTICOS, como por exemplo, broncoscópios, laringoscópios, equipamentos de terapia respiratória, cistoscópios, espéculos vaginais, entre outros, incluindo as CAR, são materiais que entram em contato com as membranas mucosas colonizadas ou com a pele não íntegra. O processo mínimo para esta categoria de materiais é a desinfecção de alto nível que pode ser realizada por meio químico (ácido peracético, glutaraldeído, ortoftaldeído) ou térmico (termodesinfetadoras). A

esterilização dos materiais semicríticos é sempre desejada, quando possível, mas não é absolutamente essencial.

Na terceira categoria na ordem de risco relativo, estão os materiais NÃO CRÍTICOS, como aqueles que não entram em contato direto com o paciente ou quando o fazem, é somente com a pele íntegra. O uso desses itens carrega um baixo risco de transmissão de infecção diretamente ao paciente. Consequentemente, dependendo das particularidades do material como a natureza e o grau de contaminação durante seu uso, a limpeza pode ser suficiente para um adequado nível de segurança. Em alguns casos, a desinfecção química de nível intermediário, desinfetantes à base de álcool, cloro, fenol e quaternário de amônia ou de baixo nível podem ser apropriados e indicados.

Na época, ao categorizar os materiais, lamentavelmente, Spaulding (1968) não enfatizou a limpeza prévia, como núcleo central da eficiência do processamento, podendo ser o fator diferencial no nível de descontaminação dos materiais usados na assistência à saúde.

Mesmo ciente do risco que se corre pela simplificação da divisão dos materiais nestas categorias propostas por Spaulding (1968), este sistema é utilizado por epidemiologistas e microbiologistas, há anos até os dias atuais para discussão e planejamento de estratégias para descontaminação de produtos para saúde por ser bastante simples e lógico (Favero, Bond, 2001). Muitos países adotam essa classificação na pesquisa, na prática assistencial e na recomendação de boas práticas, incluindo os órgãos regulatórios e de controle de infecção no Brasil (ANVISA).

Corroborando o julgamento de que a classificação proposta por Spaulding (1968) para materiais utilizados na saúde é reducionista, questiona-se por exemplo, se um broncoscópio apresenta o mesmo grau de risco que um inalador, embora ambos pertençam à mesma categoria de material semicrítico. Como outro

exemplo, alguns materiais que, na classificação de Spaulding (1968), seriam rotulados como não crítico, como os extensores que conduzem oxigênio da fonte até o inalador (comumente, chamado de chicote em nosso meio), são habitualmente considerados, como um material semicrítico na prática do processamento.

2.2 A IMPORTÂNCIA DA LIMPEZA

No tocante ao processamento dos produtos utilizados na assistência à saúde, consensualmente, a limpeza prévia é uma etapa fundamental para garantia de resultados satisfatórios dos níveis de desinfecção. Nesta fase, a falha pode contribuir para a sobrevivência dos micro-organismos, sendo ainda um problema universal, caracterizado como más práticas.

O processo de limpeza consiste na remoção de sujidade visível aderida nas superfícies, nas fendas, nas serrilhas, nas articulações e nos lúmens de instrumentos, por meio de um processo manual ou mecânico utilizando detergente e água. A limpeza tem por finalidade reduzir o número de micro-organismos e remover os resíduos (químicos, proteínas, sangue, endotoxinas) e outros fragmentos orgânicos que aderem ao lúmen e na superfície externa dos artigos, tornando o produto seguro para o manuseio e preparado para desinfecção ou esterilização (Brasil, 2012; Ribeiro et al, 2011; Rutala et al, 2008; Graziano, 2003).

A ocorrência de surtos infecciosos causados por falhas na etapa da limpeza de materiais com lúmens, que abrigavam tecido humano remanescente e cerdas de escovas retidos no interior do lúmen, reforça a importância no cuidado com a limpeza para garantir o sucesso do processamento dos materiais usados na assistência à saúde (Tosh et al., 2011).

Outros relatos de surtos de infecção relacionados com falhas na etapa de limpeza dos materiais utilizados em cirurgias classificadas como limpas foram os ocorridos, especialmente, entre os anos de 2006 e 2007, praticamente, em todos os estados brasileiros, causados por micobactérias de crescimento rápido (MCR). Infecções de sítio cirúrgico causadas por uma variedade de patógenos micobacterianos, como *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* e *M. massiliense* (clone INCQS 594) estiveram associadas, em sua maioria, a procedimentos videocirúrgicos (96,5%) do tipo colecistectomia, apendicectomia, cirurgia diagnóstica, ooforoplastia, ooforectomia, miomectomia, histerectomia e cirurgias estéticas (3,5%), como lipoaspiração e implante de prótese mamária. Em todas elas, foi observado um menor rigor na aplicação dos métodos de limpeza e desinfecção/esterilização para os instrumentais empregados com essas finalidades, favorecendo, dessa forma, a sobrevivência de MCR não resistentes a germicidas utilizadas (Duarte et al., 2009; Pitombo et al., 2009).

Apesar da relevância e complexidade técnica da limpeza, muitas vezes, esta etapa é considerada atividade de menor importância, de execução simples, que exige pouco treinamento e supervisão (Psaltikidis, Ribeiro, 2011). Isso favorece a ocorrência de falhas nos processos seguintes, seja a desinfecção ou a esterilização.

2.3 NÍVEIS DE ATIVIDADE DOS DESINFETANTES

Germicida ou biocida é um termo geral que descreve um agente químico, normalmente com amplo espectro de ação na inativação de micro-organismos, podendo ser específico, de acordo com o alcance da atividade antimicrobiana do germicida, incluindo um sufixo no final da palavra “_stático”, quando o germicida inibe o

crescimento microbiano, ou “_cida” ao eliminar o micro-organismo alvo (McDonnell, Denver, 1999).

Dentre os germicidas, os antissépticos e os desinfetantes são utilizados extensivamente na assistência à saúde, sendo o primeiro indicado para aplicação em pele e mucosa, e os desinfetantes para descontaminação de materiais inanimados ou de superfícies. Em geral, os germicidas possuem um amplo espectro de ação, com múltiplos alvos de ação (parede celular bacteriana, desnaturação de proteínas, interferência no metabolismo bacteriano, desorganização dos lipídios de membrana, rompimento da membrana citoplasmática), diferentemente dos antibióticos que atuam com alvos intracelulares específicos (McDonnell, Denver, 1999).

Spaulding (1968) ao categorizar os materiais propôs também a classificação dos germicidas desinfetantes químicos em três níveis: alto, intermediário e baixo nível. Essa proposta foi baseada no fato de que os micro-organismos podem ser categorizados em vários grupos gerais, em ordem decrescente de resistência inata do micro-organismo ao espectro de ação do germicida, de acordo com o conhecimento estrutural de cada micro-organismo (Favero, Bond, 2001).

A desinfecção de alto nível deve incluir a eliminação de alguns esporos, o bacilo da tuberculose, todas as bactérias vegetativas, fungos e todos os vírus. Ela é indicada para itens semicríticos. Atualmente, os agentes químicos disponíveis em nosso meio são o glutaraldeído, o ácido peracético e o ortoftaldeído. A Resolução Estadual de São Paulo SS nº 27 de 2007, e a RDC 15/2012, proibiram o uso do glutaraldeído para a desinfecção de materiais utilizados na assistência respiratória, em razão dos resíduos tóxicos do produto que são liberados na forma de vapor ao serem usados no paciente, e também pela toxicidade ao profissional que manipula o produto, acrescida da ecotoxicidade causada no descarte.

Na desinfecção de nível intermediário, em que se inclui o álcool 70% p/v, não é esperada ação alguma sobre os esporos bacterianos, mas, ação tuberculicida, fungicida, virucida e que atue sobre todas as células vegetativas bacterianas. Cloro, fenólicos e alcoóis pertencem a esse grupo (Spaulding, 1968).

Na desinfecção de baixo nível, não há ação esperada sobre os esporos ou sobre o bacilo da tuberculose, mas é esperada a eliminação de grande parte das bactérias nas formas vegetativas e os vírus de tamanho intermediário, em que se incluem os vírus das hepatites B e C e o HIV. O hipoclorito diluído a 0,02% constitui um exemplo de desinfetante de baixo nível.

No que se refere à desinfecção de superfícies ambientais, a indústria de produtos para a saúde atenta às necessidades dos profissionais que nela atuam, tem lançado no mercado produtos de grande praticidade sob a forma de *sprays* ou de lenços umedecidos, à base de quaternários de amônio de quarta geração ou de outros princípios ativos desinfetantes que, aplicados diretamente sobre as superfícies contaminadas, limpam e desinfetam simultaneamente o local em poucos segundos pela técnica conhecida como *spray-wipe* (borrifar-esfregar). Mas, no dia a dia da realidade nacional dos estabelecimentos de assistência à saúde, o álcool 70% (p/v) é o produto mais disponível e utilizado, sobretudo em razão de menor custo, quando comparado a esses novos produtos.

Uma pesquisa conduzida por Graziano e colaboradores (2013) com o propósito de avaliar a eficácia desinfetante do álcool 70% (p/v) sob fricção, sem limpeza prévia, nas superfícies de trabalho, justificada por ser um procedimento habitual de desinfecção concorrente em Serviços de Saúde no Brasil, chegou a conclusões surpreendentes. A investigação, de caráter experimental laboratorial, randomizado e unicegado, elegeu como amostras superfícies esmaltadas (21 x 47,5cm) submetidas a procedimentos de descontaminação, previamente contaminadas com suspensão

desafio do micro-organismo teste *Serratia marcescens* ATCC 14756 10^6 UFC/mL acrescido de 10% de saliva humana. A coleta microbiológica das superfícies foi realizada por meio da fricção com swab e semeadura no meio *Trypticase Soy Agar* pela técnica de *pour plate*. Os resultados comprovaram uma redução microbiana média de seis logaritmos da população microbiana, igualmente nos dois grupos comparados ($p=0,440$), com e sem limpeza prévia. Diante dos resultados obtidos, houve evidência da ausência do risco do uso direto do álcool 70% p/v para a descontaminação das superfícies sem a limpeza prévia (Graziano et al., 2013).

A classificação proposta por Spaulding (1968), baseada no conhecimento sobre microbiologia de 1957 (há mais de meio século), vem sendo discutida por especialistas nos dias atuais, pautada em novas evidências científicas, especialmente, quanto à ordem decrescente da atividade dos germicidas aos micro-organismos, como por McDonnell e Burke (2011). Pesquisas e evidências clínicas relatam micobactérias que se apresentaram resistentes a desinfetantes de alto nível à base de glutaraldeído, embora com atividade esporocida comprovada. Pseudossurtos foram registrados com cepas de micobactérias, como por exemplo, *M. chelonae* var. *absessus*, *M. chelonae* var. *chelonae* e *M. gordonae*, associados com o uso de endoscópios flexíveis e lavadoras/desinfetadoras automáticas. Estudos sobre estas cepas demonstraram resistência significativa dessas micobactérias ao glutaraldeído mesmo em tempos de contato recomendados pelo fabricante para alcançar a desinfecção de alto nível ou em tempos adicionalmente prolongados (Van et al., 1993; Griffiths et al., 1997; Nomura et al., 2004; Duarte et al., 2009; McDonnell, Burke, 2011)

Além disso, vários tipos de vírus, cepas de bactérias e protozoários, como as Coccídias e Acanthamoebas têm demonstrado sobreviver aos processos tradicionais de desinfecção de alto nível, contrariando o que seria esperado com base na classificação

clássica de Spaulding (1968). Raramente, protozoários são considerados na avaliação da atividade germicida dos desinfetantes, e cepas padrões de vírus e bactérias escolhidas para avaliação do germicida nem sempre são os desafiadores e refletem a atividade germicida esperada contra os grupos de micro-organismos importantes na prática clínica. Adicionalmente, os riscos potenciais com agentes transmissíveis atípicos, como príons estão fora do sistema de classificação de Spaulding (McDonnell, Burke, 2011; Souza et al., 2012).

Os autores McDonnell e Burke (2011) sugerem que a classificação de Spaulding para os produtos utilizados na saúde permaneça a mesma, mas, que os métodos e testes dos ensaios necessários para confirmar os vários níveis de desinfecção sejam revistos, incluindo outros patógenos de expressão epidemiológica nos dias atuais e não baseados apenas em uma espécie para representar cada grupo (McDonnell, Burke, 2011).

2.4 MECANISMOS DE AÇÃO DO ÁLCOOL

O álcool exibe rápida ação antimicrobiana contra bactérias vegetativas (incluindo algumas espécies de micobactéria), vírus e fungos, e não apresenta atividade esporocida; apenas tem a capacidade de inibir a esporulação e a germinação de esporos, pela inibição da produção de metabólitos essenciais para a rápida divisão celular (McDonnell, Denver, 1999; Rutala, Weber, 2008). Em razão da volatilidade apresentada pelo álcool, questionamentos da atividade antimicrobiana são retratados e contraditórios na literatura. O fato quase sempre está atrelado às diferenças metodológicas e fatores situacionais entre os estudos (Ali et al., 2001; McDonnell, Burke, 2011).

Muitas técnicas são descritas e disponíveis para analisar os mecanismos de ação aos antissépticos e desinfetantes nos micro-

organismos. Estes mecanismos incluem a lise da membrana celular, a perda de componentes intracelulares que conduzem a perturbação da homeostasia celular, a inibição de enzimas, transporte de elétrons, fosforilação oxidativa, interação com macromoléculas e efeitos sobre os processos biossintéticos macromoleculares. As técnicas utilizadas para analisar os mecanismos de ação microbiana contra os germicidas são pelos efeitos sobre membranas-modelo e exame microscópico das células expostas aos germicidas (McDonnell, Denver, 1999).

A atividade biocida de qualquer germicida pode ser afetada por diversos fatores, sendo os principais a concentração, o tempo de contato, pH, temperatura, a presença de matéria orgânica, bem como a natureza, o número, a localização e a condição do micro-organismo (bactérias, esporos, bolores e leveduras, protozoários), a presença de biofilme ou agentes infecciosos (príons, vírus). A concentração é um fator de importância primordial (McDonnell, Denver, 1999; Russell, McDonnell, 2000; Russell et al., 2008).

Geralmente, o álcool é considerado um antimicrobiano não específico, pela multiplicidade do mecanismo de efeito tóxico sobre a célula microbiana. O modo de ação do álcool, predominante, desencadeia a coagulação ou desnaturação da proteína (McDonnell, Denver, 1999). Estudos vêm considerando outras características associadas importantes, como a ruptura da integridade do citoplasma, lise celular e interferência no metabolismo celular (Ali et al., 2001; Russell, 2003).

A coagulação da proteína ocorre dentro do limite de concentração ótimo do álcool. Na ausência da água, as proteínas não são desnaturadas rapidamente como na presença desta. Price demonstrou o desempenho antisséptico do álcool em várias publicações de 1938 a 1950. O autor demonstrou que a concentração de 60% a 70% do álcool etílico é mais efetiva contra as formas vegetativas mais comuns de espécies bacterianas,

matando-as em 5 minutos ou menos, à temperatura ambiente. Em 1911, Beyer citado por Price (2006) apontou uma importante diferença na ação germicida do álcool etílico, quando a concentração era calculada por volume e peso. O autor mostrou a grande superioridade da solução alcoólica 70% p/v, além de demonstrar que esta solução é 30 e 40 vezes, respectivamente, mais poderosa que as soluções 60% e 80% v/v. Beyer ainda demonstrou que soluções com concentrações menores que 50% p/v ou maiores que 80% p/v, praticamente, não têm ação desinfetante. Gregersen, 1915 e Christiansen, 1918 citados por Price (2006), repetiram os experimentos de Beyer com modificações e concluíram que a concentração de 70% p/v das soluções alcoólicas são as mais eficazes. Frey, 1912, citado por Price (2006), chamou a atenção para o fato da ação máxima do álcool etílico sobre a desnaturação da albumina ocorrer na concentração de 70% p/v.

Provavelmente, o álcool etílico seja o único agente químico desinfetante no qual a ação germicida é maior em sua formulação mais diluída (hidratada). O porquê exatamente da formulação a 70% p/v ser mais tóxica para as bactérias que outras concentrações de álcool etílico deve-se a importante desordem bioquímica na célula microbiana que tem uma relação com a evaporação mais lenta do álcool etílico nessa concentração de álcool hidratado. O álcool etílico, quando usado adequadamente, apresenta excelente ação germicida, especialmente, sobre as bactérias na forma vegetativa (Price, 2006).

Este também possui rápida ação bactericida eliminando, em 10 segundos, bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*) e Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhosa*). O álcool etílico na concentração de 70% p/v, com 30 segundos de contato, apresenta potente ação em experimentos contra fungos, vírus lipídicos (HIV, HBV, HVC, herpes vírus,

influenza vírus), muitos vírus não lipídicos (adenovírus, enterovírus, rinovírus, rotavírus) e algumas micobactérias, como exemplo a *M. tuberculosis* (Favero, Bond, 2001; Ali et al., 2001; Basso et al., 2004; Rutala, Weber, 2008).

A recomendação padronizada para a desinfecção de nível intermediário dos materiais e das superfícies é um tempo de exposição de 30 segundos, o que se obtém com três aplicações intercaladas pela secagem natural (Brasil, 1994). Pelas Boas Práticas de Controle de Infecção, toda aplicação de desinfetante exige limpeza prévia dos materiais ou superfícies.

2.5 RESISTÊNCIA MICROBIANA AOS GERMICIDAS

Vários termos vêm sendo utilizados para descrever a não suscetibilidade dos micro-organismos aos germicidas, tais como resistência, tolerância e insuscetibilidade (Russel, 2003; Maillard, 2007). A redução da suscetibilidade, ou o aumento da tolerância aos agentes germicidas, são os termos mais usados na literatura e estão correlacionados com o aumento excessivo da concentração dos desinfetantes no nível biocida (Rutala, Weber, 2008).

Assim como a resistência a antibióticos, a resistência a germicidas pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é uma propriedade natural e inata do micro-organismo, cromossomicamente controlada pelas células bacterianas que as permitem sobreviver à ação de um antisséptico ou desinfetante (McDonnell, Denver, 1999). Os mesmos autores afirmam que bactérias Gram negativas tendem a ser mais resistentes que os micro-organismos Gram positivos, pela presença da membrana lipoprotéica externa, que atuam como uma barreira limitante à entrada de muitos tipos de agentes antimicrobianos.

As bactérias Gram positivas são essencialmente compostas por peptidoglicanos e ácido teicoico. Nenhum desses componentes demonstra agir como barreira efetiva contra germicidas. No entanto, a plasticidade do envelope da célula dessas bactérias é um fenômeno bem conhecido que sob algumas circunstâncias, espessura e grau de reticulação do peptidoglicano ficam susceptíveis a serem modificadas e, conseqüentemente, a sensibilidade celular a antissépticos e desinfetantes pode ser alterada (McDonnell, Denver, 1999).

As micobactérias são exemplos bem conhecidos de não susceptibilidade a alguns germicidas, quando comparadas com outras espécies de bactérias, perdendo apenas para esporos bacterianos, que são considerados a forma de vida mais resistente aos germicidas desinfetantes. Esses fenômenos devem ser considerados ao definir o espectro de ação desejado para obter eficácia no processo de desinfecção (McDonnell, Denver, 1999).

A resistência adquirida é a aquisição de uma nova propriedade dos micro-organismos, por meio de mutações, mas também pela transferência de material genético na forma de plasmídeos ou transposons - sequências de DNA móveis que podem se autorreplicar em um determinado genoma (Russell, 1997). O termo resistência adquirida é usado, quando certas cepas de uma espécie microbiana diferem significativamente em sua suscetibilidade a biocidas em comparação com a média da espécie (Meyer, Cookson, 2010).

Estudos vêm sendo publicados relacionados à resistência cruzada entre biocidas e agentes antimicrobianos. A falta de clareza entre a adaptação dos micro-organismos à exposição aos biocidas, é um dos pontos discutidos na literatura. A falta de definições claras dificulta a avaliação da relevância desses fenômenos na prática.

Casos de resistência intrínseca e adquirida aos desinfetantes à base de Compostos Quaternários de Amônio (QAC) têm sido

descritos, sobretudo entre espécies de bactérias Gram negativas (McDonnell, Denver, 1999). No final da década de 1960, a adaptação e o crescimento da bactéria *P. aeruginosa* em QAC foram descritos (Adair, Geftic, Gelzer, 1969).

Atualmente, análises genéticas por meio da biologia molecular permitem a obtenção de informações mais precisas a respeito da resistência dessas bactérias aos germicidas (Romão et al., 2005).

Embora haja indícios concretos de resistência microbiana a germicidas, as publicações atuais sinalizam que os riscos são baixos, desde que os biocidas sejam utilizados em condições adequadas. A importância das pesquisas voltadas para o assunto é abordada como prioritária em várias publicações (Russel, 2003; Weber, Rutala, 2006; Maillard, 2007; Meyer, Cookson, 2010).

2.6 PREVENÇÃO E CONTROLE DE INFECÇÃO NA ODONTOLOGIA

Nos consultórios e clínicas odontológicas, na maioria das circunstâncias, os próprios profissionais odontólogos, estabelecem e coordenam as rotinas e procedimentos de prevenção e controle de infecção, sem haver uma vigilância sistematizada para validação dos métodos de controle anti-infecciosos (Graziano et al., 2000; Cleveland et al., 2012). O fato do isolamento do profissional na rotina do trabalho diário na área da odontologia possibilita a criação de regras próprias pautadas em raízes acadêmicas de sua formação, podendo distanciar-se, em algumas situações, da fundamentação teórico-científica atualizada e das inovações tecnológicas na área da limpeza, desinfecção, esterilização e antisepsia, tanto na ordem ocupacional como a de seus clientes, podendo gerar rituais ineficazes, onerosos e inúteis.

Um estudo americano (2012) demonstrou que odontólogos

que perceberam a importância das recomendações dos *guidelines* propostos pelo CDC foram os que mais implementaram as recomendações. Em segundo lugar, a implementação de medidas de prevenção e controle de infecção proposta pelo CDC é a mais aceita pelos profissionais com menos tempo de prática, isto é, o número de recomendações implementadas foi alto entre os odontólogos que atuam na prática odontológica há menos que 30 anos (Cleveland et al., 2012).

Algumas fontes de transmissão de doenças infecciosas odontológicas são destacadas na presença de matéria orgânica como sangue, saliva e secreções de vias áreas superiores. Os micro-organismos são transmitidos e, dependendo do mecanismo de defesa local e sistêmica do paciente ou do profissional, pode-se desenvolver, desde uma gripe, até as mais específicas, como pneumonia, tuberculose, herpes simples tipos 1 e 2, hepatites B e C (HBV e HCV, respectivamente), síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e infecções causadas por citomegalovírus, estafilococos, estreptococos e outros vírus e bactérias, sobretudo, aqueles presentes na microbiota bucal residente (Graziano et al., 2000).

Na odontologia, outro agravante como fonte de contaminação é a produção do rocio (aerossóis) pelo uso de equipamentos rotatórios e ultrassônicos, aumentando as chances de inalação dos micro-organismos em suspensão no ar, tais como: estafilococos, estreptococos, pneumococos, gonococos, bacilo da tuberculose, vírus causadores de herpes influenza (Molinari, 1996). Se a partícula dispersa no ar for da microbiota que, normalmente, habita a cavidade oral em razão de sua labilidade no meio ambiente, não há preocupações maiores, mas a tranquilidade não é a mesma ao considerar as patogênicas, como o bacilo da tuberculose eliminado por portadores bacilíferos (Graziano et al., 2000).

Outra fonte de contaminação possível são provenientes dos

materiais perfurocontantes, que representam grande potencial de risco pelas lesões percutâneas. O descarte adequado em recipientes rígidos destinados para material perfurocortante é um item de segurança necessário nos consultórios odontológicos.

As precauções-padrão (PP) são recomendadas na odontologia pelos órgãos regulatórios e de classe (CDC, OSHA, ADA, MS) e devem ser seguidas rigorosamente pelos odontólogos, reduzindo as chances de transmissão de agentes patológicos potenciais causadores de infecção entre os pacientes e de pacientes para os profissionais e vice-versa. A utilização das precauções significam que os mesmos procedimentos de prevenção e controle de infecção são usados para todos os pacientes e abrangem métodos, nos quais todos os fluídos corporais, incluindo saliva, são tratados com potencial risco em transmitir os agentes etiológicos causadores de infecções como HIV, HBV e HCV.

O uso de barreiras físicas, como as luvas, uniformes privativos ou aventais de proteção, máscaras e óculos de proteção são medidas fundamentais para a prevenção de infecção cruzada. A vacinação contra hepatite B é indicada a todos os profissionais da área da saúde, como medida preventiva de infecção (OSHA, CDC, MS).

Outro fator importante na prevenção e controle da infecção nos consultórios odontológicos refere-se ao processamento adequado dos materiais. De uma forma geral, a literatura sempre aborda aspectos do processamento de artigos e materiais para a manipulação da cavidade oral, preconizando o máximo de rigor, caindo muitas vezes em rituais exagerados e difíceis de serem operacionalizados na prática, o que não se aplica no caso das CAR. A recomendação para o processamento das CAR é a esterilização entre os atendimentos, sem a distinção do procedimento na qual o instrumental foi utilizado (ADA, 2006).

Fundamentalmente, dois aspectos merecem considerações

ao analisar as práticas de proteção anti-infecciosa relacionadas aos materiais odontológicos: a magnitude da invasão dos procedimentos e a densidade da microbiota local presente. Os procedimentos odontológicos podem ser classificados, de acordo com o nível de risco de infecção em: não invasivos, invasivos-mini-invasivos e amplamente invasivos (Jorge Filho, 1996; Graziano et al., 2000).

Os exames radiológicos extrabuciais são exemplos de procedimentos não invasivos e requerem apenas a limpeza dos artigos, como requisito de segurança mínima no controle da infecção. Os procedimentos invasivos-mini-invasivos são aqueles nos quais o instrumental é levado à intimidade de um órgão, passando por “condutos naturais”, sem cortes ou perfurações, como exemplo, as radiografias contrastadas e sialografias. Para esta categoria de procedimentos, a desinfecção de alto nível dos instrumentos está indicada, quando a esterilização não for possível (Graziano et al., 2000).

Os procedimentos odontológicos altamente invasivos (tratamento de fraturas ósseas, implantes, cirurgias de cistos e tumores) são aqueles nos quais há a invasão de tecidos estéreis, sem colonizações locais, que devem manter o máximo rigor nas técnicas assépticas, estando indicada a limpeza e a esterilização dos materiais utilizados no procedimento. Os procedimentos, no qual a invasão se faz baseada em pequenas incisões, por exemplo, biópsias, punções, drenagens de abscessos, tratamentos endodônticos e preparos cavitários, podem ser classificados também como procedimentos mini-invasivos, sendo indicada a desinfecção de alto nível, quando a esterilização não for possível (Graziano et al., 2000).

Ao analisar as práticas no controle de infecção na odontologia, fatores como a abundante colonização da cavidade oral e as particularidades inerentes ao mecanismo de defesa bioquímico e imunológico local devem ser consideradas. Ressalta-se que, a

microbiota humana pode ser residente (colonizadora) ou transitória (contaminante). A microbiota residente é definida pela colonização das camadas mais profundas da epiderme e são mais resistentes à remoção pelas técnicas de higienização e antissepsia. A cavidade oral humana é composta, sobretudo, pelas bactérias *S. viridans*, *S. mitis*, *S. mutans* e *Streptococcus* spp (flora oral potencial). Já a microbiota transitória é quando há colonização de camadas mais superficiais e, geralmente, estas são removidas pela higiene com água e produtos tensoativos, ou inativados pelo uso de antissépticos. Os micro-organismos da microbiota transitória, são, geralmente, adquiridos pelos paciente, durante o cuidado da assistência à saúde e, estão relacionados sobretudo, aos agentes etiológicos causadores de infecções relacionados à assistência, como os, *Staphylococcus aureus*, Enterococos, bactérias Gram negativas, fungos e vírus.

As espécies predominantes detectadas em amostras periodontais representam oito diferentes filos bacterianos, sendo estes, as Firmicutes (por exemplo, *Streptococcus*), Fusobactérias, Actinobacteria (por exemplo, *Actinomyces*), *Synergistes* (por exemplo, espécies sobretudo incultiváveis), os espiroquetas (por exemplo, *Treponema*), bactérias Proteos (por exemplo, *A. actinomycetemcomitans*, *Neisseria* e *Eikenella*), TM7 (nenhum membro deste filo foi cultivado), e as Bacteroides (por exemplo, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *Prevotella* spp). Outros filos, tais como OP11, têm sido descritos, mas, não contêm espécies que têm sido frequentemente detectadas (Aas et al., 2005; Socransky, haffajee, 2005).

Há predomínio do gênero *Streptococcus* spp, com especificidade de colonização, como por exemplo, *Streptococcus salivaris* na língua, *Streptococcus mutans* no dente, bactérias anaeróbias, cocos Gram positivos e espiroquetas no sulco gengival. Em virtude das condições favoráveis da cavidade oral, todas os

micro-organismos potencialmente formadores de esporos (gênero *Bacillus* e eventualmente *Clostridium*) estão na forma vegetativa (Graziano et al., 2000).

Socransky (1998) agrupou as espécies que compõem a microbiota oral humana, de acordo com cinco complexos microbianos identificados por cores azul, roxo, amarelo, verde, laranja e vermelho, conforme ilustrado na Figura 1. Socransky e Haffajee (2005) descrevem que a colonização inicial envolve membros dos complexos amarelo, verde e roxo, juntamente com espécies *Actinomyces*. Isso leva à sucessão autógena em que os membros dos complexos laranja e vermelho tornam-se mais dominantes. Segundo os autores, a presença de níveis aumentados dos dois últimos complexos, indica a hipótese de provocar uma mudança no *habitat*, com manifestações clínicas, como por exemplo, a gengivite. Os autores afirmam que, as infecções odontológicas instalam-se quando se estabelecem complexas interações ecológicas entre os complexos.

Figura 1 - Agrupamento por cores das espécies microbianas que compõem a microbiota humana, conforme Socransky (1998). São Paulo, 2013.

Fonte: Socransky (1998).

A infecção na cavidade oral por micro-organismos exógenos é rara e pouco investigada, embora possa teoricamente ocorrer com diversos micro-organismos veiculados por alimentos, pela água, pelos frequentes traumas provocados pela mastigação ou higiene bucal, e mesmo por instrumentos odontológicos (Graziano et al., 2000). Estudos têm evidenciado que não há ocorrência de casos documentados da transmissão do HIV ou do vírus da hepatite C de paciente para paciente em decorrência de procedimentos odontológicos. Os declínios na infecção por HBV e as raras ocorrências de transmissões de patógenos por contato com sangue em ambientes odontológicos, provavelmente, reflitam o aumento do nível de imunidade pela vacinação contra HBV e o aumento do uso das precauções universais padrão (Cleveland et al., 2012).

Os dados do Quadro 1 apresentam os agentes etiológicos mais frequentes em infecções odontológicas de acordo com as doenças desenvolvidas.

Quadro 1 - Agentes etiológicos mais frequentes em infecções odontológicas, de acordo com as doenças desenvolvidas. São Paulo, 2013.

INFECÇÕES ODONTOLÓGICAS	AGENTE ETIOLÓGICO	AUTORES
Cariogênica	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Gao et al., 2012 Davis et al., 2012 Smiech-Słomkowska et al., 2007 Pan et al., 2007
Periodontais	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Davis et al., 2012 Kim et al., 2011 Türkkahraman et al., 2005 Aas et al., 2005
Implantes dentários	<i>Streptococcus mitis</i> <i>Neisseria cinerea</i>	Piñeiro et al., 2010
Abscesso periapical	<i>Peptostreptococcus</i> spp <i>Prevotella</i> spp <i>Porphyromonas</i>	Brook et al., 1991 Tortamano et al., 2007
Endodônticas Quelites angulares Parotites Osteíte	<i>Staphylococcus aureus</i>	Smith et al., 2001
Canal radicular	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Fabricius et al., 1982

<i>Prevotella intermédia</i>	Yoshida et al., 1987
<i>Peptostreptococcus micros</i>	Sundqvist, 1992
<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	
<i>Prevotella melaninogenica</i>	
<i>Eubacterium lentum</i>	
<i>Veillonella parvula</i>	
<i>Streptococcus sanguis</i>	
<i>Prevotella buccae</i>	
<i>Propionibacterium acnes</i>	

Fonte: autores citados no quadro.

Reconhecidamente, a cavidade oral possui abundante microbiota local. Classificar as doenças desenvolvidas e apresentadas no Quadro 1, como de origem endógena ou exógena não é uma tarefa fácil, para não dizer impossível. O reconhecimento de que um micro-organismo pertence à microbiota local implica a demonstração da presença sistemática deste em grande parte da população humana sem causar manifestações clínicas que caracterizem as reações do hospedeiro.

Por outro lado, mesmo micro-organismos considerados da microbiota oral com características de baixa virulência podem ser responsáveis por infecções sistêmicas graves em condições de imunocomprometimento dos pacientes. A *American Academy of Orthopaedic Surgeons* (AAOS) em parceria com *American Dental Association* (ADA) publicaram, em 2012, uma importante revisão sistemática sobre a prevenção de infecção de implantes ortopédicos em pacientes submetidos a procedimentos odontológicos. Neste documento, foram considerados como micro-organismos da microbiota oral para análise dos agentes etiológicos das infecções odontológicas de várias naturezas, o que segue: *S. viridans*, *S. mitis*, *S. mutans* e *Streptococcus*, este último com ressalvas como potencial microbiota oral. Já outras publicações, como as de Aas e colaboradores (2005) e Paster e colaboradores (2006), afirmam que mais de 700 espécies microbianas podem ser encontradas na cavidade oral como colonizantes, das quais 400 destas pertencem

ao periodonto, e as demais ocupam outros microambientes, como língua, mucosas lisas e superfície dental. Este assunto será retomado na discussão dos achados da presente investigação.

Os mecanismos de defesa local da cavidade oral, como a descamação epitelial acelerada, a movimentação frequente dos lábios, bochechas e língua, o fluxo constante da saliva, contendo lisozima que provoca lise da parede celular de bactérias Gram positivas, lactoferrina (depleção de ferro), lactoperoxidase (enzima bacteriostática), glicoproteínas (agregação bacteriana) e IgA (antiaderência bacteriana) contribuem para que as ocorrências de infecção na área odontológica sejam raras. No sulco gengival, há a presença das imunoglobulinas G e M, ao lado de células e fatores séricos com propriedades antibacterianas. Esses fatores são somados à capacidade da microbiota residente em competir com as bactérias exógenas eventuais que possam ser introduzidas na cavidade oral quanto à ocupação dos receptores químicos específicos existentes nas superfícies das células epiteliais e da mucosa por meio da adesina (Miller, 1992 citado por Graziano et al., 2000).

A *American Dental Association* (ADA, 2006) recomenda que instrumentais cirúrgicos e outros materiais que penetram, normalmente, em tecido mole ou osso (por exemplo, o fórceps de extração, lâminas de bisturi, talhadeiras ósseas, cinzéis periodontais e brocas cirúrgicas) devem ser esterilizados a cada uso ou descartados. Instrumentos que não penetram nesses locais, como por exemplo, condensadores de amálgama e seringas de ar/água, mas, que entram em contato com os tecidos orais, são classificados como semicríticos, podendo ser tratados com uma desinfecção de alto nível, mas recomenda-se a esterilização destes se forem resistentes ao calor.

Ressalta-se que o sucesso da descontaminação depende fundamentalmente da limpeza prévia que pode ser manual ou

automatizada ou ambas, consecutivamente, conforme a complexidade do material.

2.6.1 Processamento das canetas de alta rotação

A CAR é um instrumental complexo, que possui em uma de suas extremidades, um sistema de engate com dois ou quatro encaixes (dependendo do modelo e da marca) para entrada do sistema de ar e água proveniente do equipo odontológico. Na outra extremidade, o instrumento apresenta um orifício para o encaixe das brocas de trabalho, com ou sem botão extrator de brocas. No interior do local para o encaixe das brocas, existe um sistema de rolamento/rotação da CAR que comanda a função de corte por rotação.

Para as CAR, a esterilização pelo método de vapor úmido sob pressão (autoclavação) está indicada, após o uso em cada paciente, pela possibilidade de contaminação interna do instrumental com material do paciente (ADA, 2006). O FDA (1992) reforça que não sejam utilizadas CAR que não forem resistentes à esterilização pelo método de calor.

No contexto nacional, a utilização do álcool 70% p/v na descontaminação das CAR, sem limpeza prévia, é uma prática realizada em muitos consultórios odontológicos. Esse comportamento é justificado pelo custo na aquisição do equipamento para esterilização e pelo baixo inventário da CAR nos consultórios (Pereira et al, 2008).

Poucos estudos avaliando o processamento das CAR são encontrados na literatura. Em 2011, Tura e colaboradores analisaram microbiologicamente a contaminação interna de 35 canetas de alta rotação, antes e após o uso em procedimentos clínicos de rotina. Para a análise da contaminação interna, a CAR foi

acionada por 15 segundos a uma distância de 20 cm de uma placa de Petri, contendo *Brain Heart Infusion Ágar* (BHI), meio sólido não seletivo. Os autores encontraram 16 tipos de bactérias, que foram: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas Stutzeri*, *P. Alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. oryziabitan*, *P. aeruginosa*, *P. Putida*, *Chromobacterium violaceum*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Escherichia coli*, *Burkholderia pseudomallei*, *Klebsiella Ozaenae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pasteurella* ssp, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Assim, Tura e colaboradores (2011) concluíram que encontraram bactérias com elevado grau de patogenicidade para o organismo humano, dentre elas, *Pseudomonas* ssp, *Acinetobacter*, *S. maltophilia*, *C. violaceum*, *Moraxella*, *E. coli*, *K. ozaenae* e *P. shigelloides*, embora os autores não tenham controlado o sistema de água que arrefece as CAR, das quais micro-organismos provenientes do sistema de água da unidade odontológica podem estar juntamente identificados com os micro-organismos da provenientes da CAR.

Em 2011, Alvarenga e colaboradores avaliaram a efetividade do processamento de CAR em autoclave gravitacional, seguindo o protocolo recomendado pelo CDC (2003). Foram coletadas 60 amostras de seis CAR, utilizadas em 60 diferentes pacientes, após a aplicação do protocolo de descontaminação, que incluiu a esterilização a 127°C por 30 minutos. Após, as CAR foram desmontadas com auxílio de chaves especiais fornecidas pelos fabricantes da CAR e swabs esterilizados e ligeiramente umedecidas com solução salina foram friccionados na parte interna da “cabeça” da CAR e no espaço da turbina. Os swabs foram semeados em caldo tioglicolato de sódio e incubados em estufa a 37°C por 24h a 48h. Os resultados apresentaram ausência de crescimento microbiano nas 60 amostras analisadas. Os autores concluíram que a esterilização das CAR entre pacientes representa

segurança no atendimento e deve ser incorporada à prática clínica.

Outro estudo sobre o assunto foi realizado por Pereira e colaboradores (2008). Os objetivos do estudo foram identificar a rotina de descontaminação das CAR nas Unidades Básicas de Saúde no Município de Goiânia e verificar os efeitos bactericidas e fungicidas do álcool etílico 70% p/v na descontaminação de CAR, conforme a rotina adotada para seu processamento nas Unidades Básicas investigadas. Foram coletadas 70 amostras de 19 CAR, utilizando *swabs* nas superfícies externas, após o atendimento odontológico seguido da aplicação do álcool 70% p/v. Quanto à rotina de processamento das CAR, os autores identificaram a ausência de limpeza e esterilização do dispositivo entre os atendimentos em 100% das observações, e apenas 26,3% processavam as CAR uma vez ao dia em autoclave a vapor sob pressão (final dos atendimentos). O uso direto do álcool 70% foi observado com diferentes tempos e modos de aplicações nas observações realizadas. Na avaliação das ações bactericidas e fungicidas do álcool etílico 70% p/v na descontaminação da CAR, observou-se o crescimento microbiano em 65,7% do total da amostra. Dentre os principais micro-organismos encontrados, estavam os cocos Gram positivos (41,5% - *Staphylococcus coagulase negativa*, *Streptococcus viridans* e *Streptococcus mutans*), leveduras (11,4%), cocos Gram positivos associados a leveduras (12,8%). Dentre as leveduras encontradas, foram identificadas a *Candida albicans* (12,9%), *Candida krusei* (8,5%) e *Candida guilliermondi* (2,8%). Os autores concluíram que o uso do álcool etílico 70% p/v na forma como foi realizada a descontaminação da CAR não foi eficaz para inativar os micro-organismos presentes no material. A pesquisa não analisou o significado clínico dos achados, que é indispensável para avaliar o risco dos contaminantes recuperados dos materiais.

Em 2003, Bittencourt e colaboradores realizaram um estudo

explanatório para avaliar a contaminação das CAR, após a contaminação intencional. A amostra foi composta por cinco CAR contaminadas com *Bacillus stearothermophilus* na forma vegetativa, pois se constatou a não aderência da bactéria na forma esporulada. A suspensão contendo 10 mL do *Bacillus stearothermophilus* na concentração de 10^6 UFC, foi despejada em uma cuba de plástico e a CAR foi acionada dentro do líquido por 30 segundos, sem a broca, seguidos de mais 30 segundos com a broca encaixada na CAR. Após, foi realizada a limpeza externa das CAR com detergente enzimático e friccionado o álcool 70% p/v. As amostras foram embaladas e esterilizadas em autoclave a vapor sob pressão. Subsequentemente, as CAR foram desmontadas com chaves específicas e as turbinas semeadas em meio de cultura *tryptic soy broth* (TSB). O TSB também foi injetado e coletado nas linhas internas de ar/água das CAR. Os autores comprovaram a contaminação em 80% das CAR analisadas quanto à esterilização das turbinas, e em 40% das amostras houve a contaminação nas linhas internas, mais precisamente nas linhas de passagem da água. Os autores concluem que a esterilização das CAR, com o compartimento que aloja as turbinas fechado, não é efetivo na presença de contaminante.

Em 2010, Alvarenga e colaboradores realizaram um trabalho de revisão da bibliografia analisando os métodos de descontaminação utilizados nas CAR. Os autores concluíram que as CAR são artigos considerados críticos ou semicríticos, dependendo do uso e requerem esterilização entre usuários, como método de escolha. A falta de detalhamento e da análise da força dos achados dos trabalhos considerados fragilizou os resultados, permanecendo sem resposta conclusiva quanto às práticas seguras de desinfecção das CAR na rotina da odontologia. Os estudos analisados que constataram a presença de micro-organismos após descontaminação com álcool não avaliaram o risco clínico dessa constatação com vistas a sua potencialidade em causar infecção

cruzada.

Isto posto, a presente investigação propôs dirimir uma dúvida de uma prática clínica, que é uma realidade nacional de descontaminação das CAR com álcool 70% sem limpeza prévia, por meio de método rigorosamente construído incluindo a análise do significado clínico dos micro-organismos sobreviventes. A relevância do estudo pode ser justificada pelo subsídio que sustentará as tomadas de decisões por parte dos Serviços Odontológicos na elaboração dos POPs, e também os serviços de fiscalização sanitária, assim como os órgãos responsáveis pela regulação sanitária do Brasil.

3

Objetivo

3 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a desinfecção das CAR com álcool 70% p/v, sem limpeza prévia com vistas ao risco de causar infecção cruzada.

4

Material e Método

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 TIPO DE PESQUISA

Para avaliar a eficiência da descontaminação das CAR com álcool 70% p/v sem limpeza prévia, foi realizada uma pesquisa pragmática em um Estabelecimento Odontológico onde rotineiramente as práticas de interesse para o estudo estavam presentes.

4.2 LOCAIS DA PESQUISA

O estudo foi desenvolvido nos seguintes locais:

- Estabelecimento Odontológico onde foram coletadas as amostras para o desenvolvimento do estudo. A clínica, localizada na zona sul, São Paulo – capital, possui dez salas de atendimento, cada uma equipada com cadeiras e equipos odontológicos da marca Sirona®. Os procedimentos realizados são variados, incluindo endodontia, ortodontia, periodontia, implantologia e higienização dentária com um movimento médio de 100 atendimentos/dia;
- Laboratório de Ensaios Microbiológicos (LEM) do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, onde foi realizada a extração microbiana das amostras, semeadura e incubação das mesmas; e
- Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo da Faculdade de Ciências Médicas, onde foram realizadas as identificações dos micro-organismos.

4.3 MATERIAL

As canetas de alta rotação (Figura 2) utilizadas na prática odontológica constituíram o objeto da investigação. Este equipamento entra em contato direto com a cavidade oral do paciente durante os procedimentos odontológicos, sendo contaminada por resíduos/partículas orgânicas em sua superfície e em seu interior. Alguns modelos dos equipos nos quais as CAR são conectadas possuem o sistema de válvula antirrefluxo, que tem o objetivo de impedir o retorno de secreções do paciente para a linha de água que arrefece o motor da CAR, prevenindo a contaminação das mesmas e da parte do interior das turbinas.

No presente estudo, todas as CAR das amostras do grupo experimental possuíam o sistema antirrefluxo, contribuindo na prevenção da contaminação do interior das CAR e, eventualmente, das linhas de água, ao desacionar o sistema pneumático durante seu uso.

Figura 2 - A - Caneta de alta rotação montada usada nos procedimentos odontológicos; B - Linhas internas de ar, água e rolamentos da Canetas de alta rotação desmontada. São Paulo, 2013.

Fonte: própria do autor.

Para avaliar a eficácia da descontaminação do álcool 70% p/v nas CAR, sem limpeza prévia, foram constituídos os seguintes grupos de estudo:

- **Grupo experimental:** composto por 100 amostras de CAR, desinfetadas com álcool 70% p/v por 90 segundos, por meio de fricção contínua, SEM limpeza prévia;
- **Grupo controle negativo (GCN):** formado por dez amostras de CAR submetidas a limpeza clássica e esterilização por meio de autoclavação; e
- **Grupo controle positivo (GCP):** formado por dez amostras sem nenhum tratamento de limpeza e/ou desinfecção. Este grupo representou a carga basal das amostras (*baseline*).

4.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Para avaliar a eficácia desinfetante do álcool 70% p/v nas CAR, sem limpeza prévia, validações metodológicas foram realizadas antes da coleta das amostras.

Para analisar a carga microbiana presente na superfície externa das CAR foram necessárias a escolha e a validação de um carreador, pelo impedimento da imersão da CAR diretamente em meio de cultura ou em líquido para extração de lavado. Optou-se, então, pelo uso da gaze como carreador, pela maior superfície de contato, quando comparada aos *swabs* de algodão.

Após esta escolha, foram realizadas validações da capacidade de extração dos micro-organismos da gaze, do número de gazes necessárias para esgotamento do arraste dos micro-organismos da superfície externa da CAR, do tempo de aplicação do álcool 70% e do impacto da sonicação antecedendo a agitação na extração do micro-organismos do carreador gaze.

Adicionalmente, foi realizada a validação da desinfecção do sistema de água que arrefece as CAR, a fim de garantir o controle de possível variável de confusão. Caso houvesse recuperação de um micro-organismo, este poderia ser interpretado como presente no sistema de rolamento carreado pela água e não em razão da ineficácia do álcool 70% p/v na desinfecção da superfície. Com a desinfecção prévia das linhas de água, e também do sistema de rolamento, pôde-se considerar que todo micro-organismo recuperado foi decorrente da ineficácia da ação do álcool 70% p/v por 90 segundos de contato.

Estes procedimentos de validações constituíram a primeira etapa dos experimentos detalhados a seguir.

4.4.1 Validações metodológicas

4.4.1.1 Extração microbiana da gaze

Em cabine de proteção biológica (modelo VLFS 12, VECO[®], com filtro HEPA) seis **gazes** de algodão hidrófila esterilizadas (7,5 cm x 7,5 cm, 8 camadas – Cremer[®]), foram contaminadas com 1 mL da suspensão de *Serratia marcescens* (ATCC 14756), aproximadamente, na densidade 10^6 UFC/mL, com auxílio de pipetadora automática, permanecendo em contato com o contaminante por 15 minutos, para a penetração da suspensão nas tramas da gaze. Este micro-organismo foi escolhido em razão de suas características morfotintoriais (crescimento em colônias avermelhadas), facilitando a identificação e a contagem das colônias ao recuperá-las.

A *Serratia marcescens* apresenta importância, como agente etiológico de infecção nosocomial; sua escolha foi baseada na facilidade de sua identificação nos casos de crescimentos positivos, caracterizados por colônias de coloração avermelhada, sendo

possível identificá-las independente das provas bioquímicas. Outro fator que influenciou na escolha do micro-organismo-teste estava relacionado à biossegurança durante os trabalhos laboratoriais, uma vez que sua patogenicidade só se manifesta em imunocomprometidos. É também um micro-organismo recomendado pelo FDA (1997), para teste da eficácia de antissépticos e micro-organismo de escolha em outros trabalhos, envolvendo testes de esterilidade (Bishop, Still, 1963; Moriya, Graziano, 2010; Bruna, 2010; Pinto et al., 2010).

Após a contaminação das gazes, cada uma foi colocada em frasco de vidro graduado com tampa de rosca, contendo 300 mL de solução fisiológica (SF) 0,9%. As amostras foram divididas em dois grupos, sendo as três amostras do primeiro grupo submetidas a três sessões intermitentes de 5 segundos cada de ultrassom (Lavadora Ultrassônica, modelo USC-2800, Enge Solutions®) e, adicionalmente, a 10 minutos de agitação orbital (equipamento de agitação com movimento orbital - Kline, modelo 255 - B, Fanem®) a 160 rotações por minuto (rpm). O outro grupo foi submetido apenas a 10 minutos de agitação. Todas as amostras foram submetidas à diluição seriada e as colônias foram contadas, após 24h e 48h mantidas à temperatura de 37°C.

Estes testes tiveram a intencionalidade de não apenas validar a capacidade de extração dos micro-organismos das tramas das gazes, mas também de avaliar o impacto diferenciado da sonicação prévia à agitação na recuperação das *Serratia marcescens* presentes nas gazes.

4.4.1.2 Arraste microbiano com a utilização de gaze

Amostras em triplicata da CAR, modelo 605C da marca Kavo®, foram contaminadas com 1 mL de suspensão contendo, aproximadamente, 10^6 UFC/mL de *Serratia marcescens* (ATCC

14756). Com as mãos enluvasadas, o líquido contaminante foi friccionado e distribuído por toda extensão externa da CAR (corpo e cabeçote), até o ressecamento natural do contaminante.

Em seguida, uma gaze esterilizada embebida com 5 mL de SF 0,9% foi friccionada por toda extensão da CAR por 30 segundos. A gaze foi colocada em um frasco de vidro graduado com tampa de rosca, contendo 100 mL de SF 0,9%, e o conjunto foi sonificado (três sessões de 5 segundos cada) e agitado por 10 minutos em agitador orbital. Após, 2 mL do lavado foram retirados dos frascos, com auxílio de pipetadora automática, sendo 1 mL colocado em placa de Petri e o outro em tubo de ensaio, contendo 9 mL de SF 0,9% para diluição seriada. Todo o procedimento foi realizado utilizando a técnica asséptica no interior da cabine de proteção biológica.

Ao término da diluição seriada das amostras, as placas de Petri contendo as alíquotas do lavado foram semeadas pela técnica de *pour plate*, envasando 15 a 20 mL de meio de contagem (*Plate Count Agar* – PCA) e incubadas em estufa a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com leitura em 24h e 48h de incubação.

4.4.1.3 Número de esfregações por meio de gaze para o arraste microbiano por amostra versus o tempo de contato do álcool 70% p/v

Para avaliar o número de vezes de fricções necessárias por meio de gases para garantir o arraste máximo de micro-organismos da superfície externa da CAR após a sua desinfecção, nove amostras de CAR foram contaminadas, conforme descrito no item 4.4.1.2.

Após o tempo de contato de 30 minutos da CAR com o micro-organismo-teste, foi realizada a desinfecção com álcool 70% p/v. Neste momento, foi feita a validação do tempo de contato do álcool 70% para desinfecção das CAR sem limpeza prévia. As nove

amostras foram divididas em três grupos com três amostras cada, e cada triplicata foi desinfetada com uma folha de papel absorvente (Klimberly-Clark Professional - Kleenex[®]) contendo 5 mL de álcool (Rialcool 70[®] - Rioquímica Indústria Farmacêutica nº de registro na ANVISA 3.1329.0010.001-0 destinado para desinfecção de artigos) a 70% p/v nos diferentes tempos de contato, 30, 60 e 90 segundos.

Após a desinfecção com o álcool 70% nos diferentes tempos, cada CAR foi friccionada externamente com três gazes, consecutivamente, embebidas em 5 mL de SF 0,9%, e estas colocadas individualmente em frasco de vidro de tampa rosqueável contendo 100 mL de SF 0,9%. O frasco foi sonificado por três sessões de 5 segundos cada em equipamento ultrassônico e, sequencialmente, agitados por 10 minutos em agitador orbital.

Um mL do lavado foi colocado em placa de Petri para contagem e outra alíquota de 1 mL foi colocada em tubo de ensaio contendo 9 mL de SF 0,9% para realizar a diluição seriada. Ao término da diluição seriada das amostras, as placas de Petri contendo as alíquotas do lavado foram semeadas pela técnica de *Pour Plate*, envasando 15 a 20 mL de meio de contagem (*Plate Count Agar* – PCA). As placas semeadas foram incubadas em estufa a 37 °C ± 2°C, com leitura em 24h e 48h de incubação.

Após a análise dos resultados dos testes de validação, apresentados no capítulo resultados, definiu-se coletar os dados da pesquisa por meio de fricção da superfície externa das CAR com apenas uma gaze por amostra, totalizando 100 amostras para o grupo experimental.

O tamanho amostral de 100 unidades garantiu um intervalo de confiança de 95% com precisão absoluta de 9,8% para mais ou para menos, no pior caso, que se dá ao estimar a incidência de contaminação de 50%. Os cálculos foram realizados utilizando o pacote *samplingbook* do software R.

4.4.1.4 Validação da desinfecção do sistema de água das unidades odontológicas

Com a finalidade de controlar possíveis variáveis externas que poderiam interferir na interpretação dos resultados da pesquisa, foi feita a validação da desinfecção do sistema de água que arrefece as CAR das unidades odontológicas. O procedimento da desinfecção foi aplicado antes de cada coleta das amostras, com a intenção de impedir a contaminação da gaze carreadora de micro-organismos com micro-organismos provenientes do sistema de água. Com este cuidado, pôde-se considerar que todo micro-organismo recuperado das amostras foi decorrente da ineficácia da ação desinfetante do álcool 70% p/v por 90 segundos de contato (definido, conforme os resultados da validação descritas no item 4.4.1.3), em CAR sem limpeza prévia.

Para validar esse procedimento, foi realizada a desinfecção do sistema de água (reservatório e mangueira que conecta a CAR) de seis unidades odontológicas que fizeram parte da pesquisa. O reservatório de água dessas unidades foi substituído por outro contendo desinfetante à base de peróxido de hidrogênio - *DENTOSEPT P SOLUTION* da Sirona®, diluído na proporção de 1:100 mL, resultando na concentração de 0,014% (Schel et al., 2006). Com a CAR engatada na mangueira do equipo, o pedal da linha de água que arrefece a CAR permaneceu acionado por dois minutos, com fluxo contínuo do desinfetante no canal da mangueira, conforme a Figura 3 (Schel et al., 2006).

Após o tempo de contato do desinfetante com a linha de água, o reservatório original foi abastecido com água destilada esterilizada e acoplado no equipo. O pedal foi acionado por mais 2 minutos para remoção do resíduo do desinfetante.

Figura 3 - Procedimento de desinfecção do sistema de água que arrefece as CAR antecedendo as coletas das amostras. São Paulo, 2013.

Fonte: própria do autor

Ao término da desinfecção da linha de água, com a CAR engatada na mangueira, foram coletados 10 mL da água do sistema das seis unidades odontológicas, em tubo de ensaio com tampa rosqueável previamente esterilizado. As amostras foram encaminhadas para análise microbiológica das bactérias heterotróficas, *Enterococcus* fecais e totais (Portaria de nº 2.914 do Ministério da Saúde).

4.4.2 Coleta das amostras

As 100 amostras das CAR do grupo experimental foram coletadas depois do uso em pacientes e, imediatamente, submetidas à desinfecção com álcool 70% p/v por meio de fricção contínua por

90 segundos, sem limpeza prévia. Reforça-se que a coleta foi precedida pela desinfecção química do sistema de água, antecedendo o atendimento do paciente. Logo após o término do atendimento, o pedal que arrefece a CAR foi acionado em direção à cuspideira por 30 segundos pela pesquisadora, para promover passagem forçada da água nos canais internos da CAR, de acordo com a recomendação da ADA (2012).

Imediatamente após os 30 segundos de acionamento do *flush* de água, as superfícies das CAR foram desinfetadas, conforme definida na validação descrita no item 4.4.1.3, utilizando uma folha de papel absorvente (Klimberly-Clark Professional - Kleenex®), embebida em 10 mL de álcool 70% p/v (Rialcool 70® - Rioquímica Indústria Farmacêutica nº de registro na ANVISA 3.1329.0010.001-0 destinado para desinfecção de artigos). A fricção do papel toalha embebido com o álcool 70% p/v foi padronizada com movimentos circulares, iniciando na parte proximal do engate da mangueira, porém, não acessando a parte do mesmo, até extremidade distal próxima ao rolamento da CAR. O papel toalha embebido com álcool 70% foi vigorosamente friccionado próximo do rolamento, com percepção visível da presença do germicida em contato com a ponta da CAR.

Após o tempo de contato do álcool 70% e a evaporação visível do mesmo na superfície da CAR, uma gaze esterilizada embebida em 5 mL de SF 0,9% foi friccionada em toda a extensão da CAR por 30 segundos, também com movimentos padronizados, de acordo com o realizado na desinfecção com o álcool 70% p/v. Todas as coletas foram feitas pela pesquisadora, reduzindo a variabilidade na técnica das coletas, e esta utilizou paramentação completa consistindo em avental, luvas esterilizadas, gorro e máscara durante as coletas.

Dois diferentes métodos de extração microbiana analisaram as gazes, Método I – quantitativo e Método II - qualitativo. As

análises pelo Método I, foram processadas através do lavado da amostra por membrana de filtração, estabelecida pela *United States Pharmacopeia* (USP, 2007), que permitiu a contagem das unidades formadoras de colônia, quantificando o número de bactérias após a desinfecção das CAR. As desvantagens deste método são as inevitáveis perdas microbianas, durante a extração microbiana do carreador (gaze).

No Método II, a gaze foi imersa diretamente em meio de cultura enriquecido, garantindo sua melhor condição de contato com o meio de cultura. Mas, nesse método, perde-se a possibilidade de quantificação dos micro-organismos, eventualmente, sobreviventes, em razão da rápida multiplicação destes em meio enriquecido nas primeiras 48 horas de desenvolvimento.

Para melhor contornar a investigação da eficácia da técnica de desinfecção testada, optou-se por adotar os dois métodos, a fim de enriquecer a exploração do fenômeno para responder os objetivos da pesquisa.

4.4.2.1 Método I: análise pela filtração por membrana

As primeiras 50 amostras foram submetidas à extração microbiana pelo método indireto por filtração através de membrana. Após a fricção da gaze com SF 0,9% na CAR para o arraste da possível carga microbiana viável, depois da desinfecção com álcool 70% p/v, esta foi colocada no interior do frasco de vidro com tampa rosqueável, contendo 300 mL de SF 0,9%. Para promover o desprendimento da carga microbiana da gaze, o frasco foi submetido à sonicação e agitação consecutiva de acordo com o descrito no item 4.4.1.1. Esta técnica foi usada baseada em estudos semelhantes de extração da carga microbiana de materiais utilizados na assistência à saúde (Ribeiro, 2006; Pinto et al., 2010).

O lavado resultante da extração da carga microbiana das

CAR foi filtrado, utilizando o método de filtração por membrana, conforme o estabelecido pela *United States Pharmacopea* (USP, 2007). O sistema de filtração autoclavável usado foi o *Sterifil*® (47 mm *Sterifil Holder*, Millipore), composto de um funil com tampa, base de filtro com suporte e tampa de silicone que foi conectado a um frasco Kitassato ligado a uma bomba de vácuo (Figura 4).

O volume do frasco de vidro foi dividido em três partes iguais de 100 mL cada, sendo filtrada cada parte em uma membrana. Cada membrana foi semeada em placa de Petri contendo meio de cultura Agar sangue, para propiciar o crescimento não seletivo das bactérias aeróbias; a outra placa continha Agar Anaerinsol para o crescimento de bactérias anaeróbias e a terceira membrana em meio *Mitis salivar*, recomendado para o isolamento de culturas mistas de *Streptococci*, especialmente, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* e *Enterococcus faecalis*, grupo microbiano que compõe a microbiota oral.

Figura 4 - Composição do sistema de filtração *Sterifil Holder*, Millipore®, utilizado no Método I. São Paulo, 2013.

Fonte: própria do autor.

As placas de Agar sangue e *Mitis salivaris* contendo as membranas foram incubadas em estufa a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, e as placas de Anaerinsol foram colocadas em jarras de anaerobiose e incubadas em estufa na mesma temperatura dos outros meios por 21 dias.

Na presença de crescimento microbiano, as amostras foram acondicionadas em caixas térmicas hermeticamente fechadas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo para quantificação e identificação de gênero e espécie de micro-organismos.

4.4.2.2 Método II: análise pela sementeira direta

As outras 50 amostras do grupo experimental foram analisadas pelo método de sementeira direta imergindo a gaze em meio de cultura enriquecida de tioglicolato de sódio fluído, promotora de crescimento de bactérias aeróbias, anaeróbias, facultativas e fungos. Após a fricção da gaze embebida com SF 0,9% na CAR, esta foi colocada no interior do tubo de ensaio medindo 24 x 200 mm com tampa rosqueável, contendo 40 mL de meio de cultura *Fluid Thioglycollate Medium* da Difco[®], com o auxílio de uma pinça, ambos previamente esterilizados. O tubo foi encaminhado para o LEM, onde foi agitado por 30 segundos em agitador tipo Vortex e incubado em estufa bacteriológica a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com leitura diária por 21 dias (Figura 5).

Figura 5 - Amostras analisadas pelo Método II - semeadura direta, incubadas em estufa microbiológica. São Paulo, 2013.

Fonte: própria do autor

Na presença de turvação do meio de cultura, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo para identificação do gênero e espécie dos micro-organismos.

4.4.3 Grupo controle positivo e controle negativo

Os grupos controle positivo e controle negativo foram compostos por dez amostras cada, coletadas aleatoriamente durante a coleta das amostras dos grupos experimentais. As CAR de ambos os grupos foram utilizadas em atendimentos odontológicos da rotina clínica do local da coleta dos dados, seguindo o padrão de coleta das amostras do grupo experimental.

As amostras que constituíram o grupo controle negativo foram coletadas após a limpeza padrão, consistindo em pré-limpeza manual com água e tensoativo, seguida pela imersão em detergente enzimático por tempo determinado pelo fabricante, fricção com escovas de limpeza, enxágue abundante em água potável e pistola de água sob pressão. As CAR foram secas com o auxílio de compressa de algodão e jatos de ar comprimido em seus canais internos. Estas foram embaladas em papel grau cirúrgico/filme e esterilizadas a vapor por meio do ciclo de autoclavagem a 134°C por 3,5 minutos. O procedimento para recuperação da carga microbiana seguiu o Método I, conforme descrito no item 4.4.3.1.

As amostras do grupo controle positivo foram coletadas após o atendimento do paciente pelo odontólogo sem nenhum tratamento prévio. Depois do uso da CAR, a mesma técnica de arraste utilizada no grupo experimental foi adotada. As amostras foram analisadas quantitativamente, conforme descrito no item 4.4.3.1.

As amostras de ambos os grupos foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo para quantificação e/ou identificação do gênero e espécie dos micro-organismos, quando presentes no meio de cultura.

4.5 IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA

No Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, sob a assessoria de especialistas em microbiologia clínica, foram realizadas as análises das amostras com crescimento positivo do grupo experimental, de ambos os métodos de análise da gaze (I e II), do controle positivo e das amostras de água.

Inicialmente, os crescimentos bacterianos foram identificados quanto à sua propriedade morfotintorial por meio da coloração de Gram e, então, repicados em Agar sangue e em Agar Anaerinsol para a confirmação de crescimento anaeróbio estrito.

Para a identificação de bactérias aeróbias, as placas com crescimento bacteriano positivo tiveram suas unidades formadoras de colônias quantificadas para cada tipo morfológico diferente, quando aplicável, conforme a descrição a seguir.

Para os cocos Gram positivos, inicialmente, foi realizada a prova da catalase, que diferencia as famílias dos *Staphylococcus* spp (catalase positiva e degrada a água oxigenada em água e gás carbônico) e *Streptococcus* spp (catalase negativa).

Os *Staphylococcus* spp foram diferenciados entre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativa, utilizando-se a prova da coagulase, realizada com o *Staph Test* (Probac do Brasil®) - teste em lâmina com hemácias sensibilizadas. Os *S. aureus* são coagulase positiva, portanto, têm a capacidade de transformar fibrinogênio em fibrina.

Os *Streptococcus* spp foram identificados, de acordo com sua hemólise em Agar sangue (alfa, beta ou gama hemólise), quanto ao crescimento em presença de bile e hidrólise da esculina (prova da bile esculina); crescimento em NaCl 6,5% (prova do NaCl 6,5%) e sensibilidade à optoquina (alfa hemólise) ou bacitracina e *CAMP Test* (beta hemólise). Os gama hemolíticos foram identificados com as provas de bile esculina e NaCl 6,5% (*Kit Enterococos*, Probac do Brasil®), e os resultados positivos para ambas foram identificados como *Enterococcus* spp. De acordo com os resultados de susceptibilidade encontrados para os glicopeptídeos, os isolados resistentes tiveram sua espécie identificada pelo *Kit* para Identificação de *Enterococcus* spp (Probac do Brasil®), que consiste em provas de fermentação de manitol, arabinose, sorbitol, motilidade e descarboxilação de arginina.

O grupo dos bacilos Gram positivos foram identificados pela coloração de Gram para diferenciação de esporulado e não esporulado, exceto quando seu crescimento em Agar sangue foi sugestivo de *Bacillus subtilis* (bacilo Gram positivo, esporulado, com colônias rugosas, irregulares e, na maioria das vezes, hemolíticas).

Os bacilos Gram negativos foram identificados pela série bioquímica composta pelas provas Tríplice de açúcar e ferro (TSI), motilidade, citrato, fenilalanina e indol. Para as enterobactérias (*Enterobacter* sp, *Citrobacter*, *Klebsiella*), bacilos fermentadores de glicose, estas provas foram suficientes para a identificação da maioria das espécies. Para os bacilos Gram negativos não fermentadores de glicose (*P.aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*), em que não ocorre a fermentação TSI, a confirmação das espécies deu-se por meio de provas bioquímicas específicas para esse grupo de micro-organismos. O *Kit* utilizado para a identificação foi o sistema bioquímico comercial *KIT* Não Fermentadores (NF) II (Probac do Brasil®) que possui as provas: oxidase, crescimento em MacConkey, liquefação da gelatina, O/F de glicose, fermentação da maltose e lactose, descarboxilação de lisina e arginina e controle da prova de descarboxilação.

Para a pesquisa de bactérias anaeróbias, as placas com crescimento bacteriano tiveram suas unidades formadoras de colônias quantificadas para cada tipo morfológico diferente.

Para análise das amostras de água foram realizados os testes para identificação das bactérias heterotróficas e *Enterococcus fecalis* e totais. Foi utilizado o Kit R₂A para identificação das bactérias heterotróficas e testes específicos para a análise de *E.fecalis* e totais, conforme a rotina das análises clínicas do laboratório.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA E TRATAMENTO DOS DADOS

Os achados foram sintetizados com auxílio de quadros. Os dados foram organizados com base no crescimento microbiano encontrado nos diferentes grupos investigados.

Para as análises do grupo experimental, foi adotado o nível de significância de 5% e os resultados foram obtidos com auxílio do *software* estatístico R 2.15.3 (R Core Team, 2012).

4.7 PROCEDIMENTO ÉTICO

O projeto foi encaminhado à coordenação do Núcleo Técnico de Odontologia do local do estudo para avaliação e autorização da coleta de dados. Não houve indicação para submissão da proposta ao Comitê de Ética em Pesquisa por não envolver diretamente seres humanos na pesquisa. Esta limitou-se a investigar os instrumentos utilizados no tratamento odontológico dos pacientes, sem a identificação dos mesmos.

5

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 EXTRAÇÃO MICROBIANA DA GAZE

Os resultados da validação da extração da carga microbiana da gaze frente aos métodos de desprendimento testados (sonicação e agitação ou apenas agitação) estão apresentados nos dados do Quadro 2.

Quadro 2 - Distribuição da contagem microbiana (*Serratia marcescens* ATCC 14756) pela técnica da diluição seriada, conforme os métodos de extração da gaze, tendo como variável a presença ou ausência da sonicação. São Paulo, 2012.

AMOSTRA / MÉTODO		DILUIÇÃO SERIADA*					Média*** UFC
Inóculo		0	-1	-2	-3	-4	
		Inc**	Inc	Inc	551	55	$5,5 \times 10^5$
1	Sonicação e Agitação	Inc	171	18	1	0	$5,25 \times 10^5$
2		572	65	8	0	0	$2,02 \times 10^5$
3	Agitação	Inc	155	18	1	0	$5,01 \times 10^5$
4		397	51	22	0	0	$1,35 \times 10^5$
5	Agitação	Inc	132	22	0	0	$5,28 \times 10^5$
6		Inc	190	24	2	0	$6,3 \times 10^5$

* UFC

** Incontáveis

*** a média da contagem microbiana foi calculada multiplicando o volume utilizado na diluição inicial do frasco contendo 300 mL de SF 0,9%, exceto o inóculo inicial.

Fonte: próprio do autor.

Não houve diferença estatística entre os valores da contagem microbiana das duas técnicas de desprendimento avaliadas ($p=0,9122$) com e sem a sonicação. Ambas as técnicas recuperaram a totalidade do tamanho do inóculo inicial, conferindo confiabilidade ao método de arraste utilizando a gaze. Embora a sonicação prévia à agitação tenha se mostrado disponível, considerando hipoteticamente ser muito baixa a densidade microbiana após a

desinfecção, optou-se pelo método conservador empregando a sonicação e agitação consecutiva, por ser o método adotado em estudos semelhantes de extração da carga microbiana de materiais utilizados na assistência a saúde (Ribeiro, 2006; Pinto et al., 2010).

5.2 ARRASTE MICROBIANO PELA GAZE

Os dados do Quadro 3 apresentam a avaliação da capacidade da gaze em arrastar os micro-organismos presentes na CAR, após a contaminação intencional das canetas com suspensão de 10^6 UFC/mL de *Serratia marcescens* (ATCC 14756).

Quadro 3 - Distribuição da contagem microbiana pela técnica de diluição seriada, do arraste microbiano realizado pela gaze nas CAR, após contaminação desafio. São Paulo, 2012.

AMOSTRA	DILUIÇÃO SERIADA*						MÉDIA*** UFC
	0	-1	-2	-3	-4	-5	
Inóculo	Inc**	Inc	Inc	Inc	122	24	$1,81.10^6$
A	Inc	270	42	1	0	0	$3,45.10^5$
B	Inc	238	16	0	0	0	$1,99.10^5$
C	Inc	164	12	1	0	0	$1,42.10^5$

* UFC

** Incontáveis

*** a média da contagem microbiana foi calculada multiplicando o volume utilizado na diluição inicial do frasco contendo 300 mL de SF 0,9%, exceto o inóculo inicial.

Fonte: próprio do autor.

Os dados mostram que nas três amostras (A, B e C) houve a perda de um logaritmo na recuperação dos microrganismos, o que pode significar uma perda de 90% da carga inicial da contaminação das CAR. Essa diferença é aceitável na técnica de diluição seriada, e está dentro de erro de método microbiológico para inóculo com alta contagem inicial.

5.3 NÚMERO DE GAZE PARA O ARRASTE MICROBIANO POR AMOSTRA *VERSUS* O TEMPO DE CONTATO DO ÁLCOOL 70% P/V

Os resultados da validação do número adequado de gaze por amostra, a fim de garantir o máximo de arraste dos micro-organismos, *versus* o tempo de contato do álcool 70% p/v na desinfecção das CAR estão apresentados nos dados do Quadro 4.

Quadro 4 - Distribuição do número de gazes utilizadas para o arraste microbiano *versus* tempo de contato do álcool 70% p/v na desinfecção das canetas de alta rotação. São Paulo, 2012.

SEQUÊNCIA DA GAZE	TEMPO DE CONTATO DO ÁLCOOL 70% P/V								
	30 SEG			60 SEG			90 SEG		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
	UFC			UFC			UFC		
1ª gaze	7	1	52	6	3	3	0	0	0
2ª gaze	0	7	8	0	1	0	0	0	0
3ª gaze	9	3	1	0	0	0	0	0	0

Fonte: próprio do autor.

A aplicação do álcool 70% p/v nas CAR por 90 segundos, após a contaminação intencional das CAR com 10^6 UFC/mL da *S. marcescens*, apresentou ser o melhor tempo de contato do germicida na redução da carga inicial, com o menor número de gazes para o arraste microbiano da superfície externa da CAR. Embora as recomendações oficiais preconizem 30 segundos de contato do álcool 70% p/v, optou-se neste experimento por um tempo maior, de 90 segundos, em função dos resultados obtidos na validação, associados ao julgamento de que é um tempo de fricção exequível na prática. Quanto ao número de gazes, no tempo de contato de 90 segundos, não houve diferença no arraste dos micro-organismos-teste entre uma aplicação ou repetidas 2 ou 3 vezes, conduzindo para decisão de se utilizar apenas uma gaze.

5.4 DESINFECÇÃO DO SISTEMA DE ÁGUA DAS UNIDADES ODONTOLÓGICAS

As seis amostras analisadas da água, coletadas após o procedimento de desinfecção do sistema de água que abastece a CAR (reservatório e mangueira), apresentaram resultados negativos quanto à presença de bactérias heterotróficas, coliformes totais e coliformes fecais. O resultado demonstrou a eficácia da desinfecção dos sistemas de água das unidades odontológicas pelo germicida indicado pelo fabricante do equipo odontológico de tal forma que se pôde considerar que os micro-organismos recuperados foram aqueles não eliminados pela ação do álcool nas condições de coleta do grupo experimentais.

5.5 RESULTADO DO GRUPO EXPERIMENTAL

Os resultados do crescimento microbiano das 50 amostras do grupo experimental, analisadas pelo Método I - quantitativo, estão apresentados nos dados do Quadro 5. Após o processo de extração da carga microbiana pelo arraste com a gaze, utilizando a técnica de filtração por membrana, houve o crescimento positivo em 27/50 (54%) das amostras.

Desse total, foram identificados sete micro-organismos distintos, sendo estes, com positividade de 37,1% dos *Staphylococcus* coagulase negativa, 28,5% dos *Bacillus* spp, 17,1% dos Bacilo Gram positivo não esporulados, 5,7% dos *Micrococcus* spp, 5,7% dos *Penicillium* spp, 2,8% *Acinetobacter baumannii* e 2,8% das *Candida* spp. Todas as contagens permaneceram na faixa de 10^0 a 10^2 UFC/amostra, com crescimento médio de 6,6 UFC/placa.

Quadro 5 - Distribuição das amostras com crescimento positivo pela análise do Método I de filtração por membranas, de acordo com o micro-organismo e número de unidades formadora de colônia/amostra. São Paulo, 2013.

AMOSTRA	MICRO-ORGANISMO	UFC/amostra
1	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	2
2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2
3	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	22
4	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
	<i>Candida</i> spp não albicans	2
5	<i>Bacillus</i> spp	16
6	<i>Penicillium</i> spp	1
	<i>Bacillus</i> spp	1
9	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
14	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
17	<i>Bacillus</i> spp	1
19	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
21	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	8
	Bacilo Gram positivo não esporulado	4
22	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	120
	<i>Bacillus</i> spp	1
23	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
24	<i>Penicillium</i> spp	1
26	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
28	<i>Bacillus</i> spp	1
31	<i>Bacillus</i> spp	2
32	<i>Bacillus</i> spp	1
35	<i>Bacillus</i> spp	1
	<i>Micrococcus</i> spp	1
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
37	<i>Bacillus</i> spp	1
39	Bacilo Gram positivo não esporulado	1
41	Bacilo Gram positivo não esporulado	1
43	Bacilo Gram positivo não esporulado	1
44	<i>Bacillus</i> spp	2
	Bacilo Gram positivo não esporulado	1
45	<i>Micrococcus</i> spp	7
48	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	8
	Bacilo Gram positivo não esporulado	2
50	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	3

Fonte: próprio do autor.

Os dados do Quadro 6 apresentam os resultados dos crescimentos microbianos das amostras do grupo experimental, analisadas pelo Método II - qualitativo, semeadura direta da gaze em meio de cultura. O total de crescimento positivo apresentado por essa análise foi de 12/50 (24%) amostras.

Desse total, foram identificados 38,4% de Bacilo Gram positivo inespecíficos, seguidos dos *Staphylococcus* spp e *Peptococcus* spp com a mesma proporção de positividade de 30,7% cada.

Quadro 6 - Distribuição das amostras com crescimento positivo analisadas pelo Método II por semeadura direta, de acordo com o micro-organismo identificado. São Paulo, 2013.

AMOSTRA	MICRO-ORGANISMO
2	<i>Peptococcus</i> spp
7	<i>Peptococcus</i> spp
14	Bacilo Gram positivo
15	Bacilo Gram positivo
16	<i>Peptococcus</i> spp
17	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa <i>Peptococcus</i> spp
20	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
24	Bacilo Gram positivo
27	Bacilo Gram positivo
30	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
32	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
37	Bacilo Gram positivo

Fonte: do próprio autor.

Os dois métodos foram empregados pelos seguintes motivos: o Método I - quantitativo pela possibilidade de calcular a redução microbiana, quando comparada com o *baseline* e o Método II - qualitativo por ser a melhor condição teórica de recuperar os micro-organismos arrastados pelo carreador gaze.

Os dados do Quadro 7 apresentam uma síntese comparativa dos principais agentes etiológicos das infecções odontológicas descritas pela literatura, os micro-organismos recuperados no grupo controle positivo e no grupo experimental.

Quadro 7 - Apresentação dos principais agentes etiológicos das infecções odontológicas, dos micro-organismos recuperados no grupo controle positivo e nos grupos experimental. São Paulo, 2013.

AGENTES ETIOLÓGICOS DE INFECÇÃO ODONTOLÓGICAS	MICRO-ORGANISMOS RECUPERADOS NO GRUPO CONTROLE POSITIVO	AGENTES ETIOLÓGICOS RECUPERADOS NO GRUPO EXPERIMENTAL
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Peptococcus</i> spp
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
<i>Streptococcus intermedius</i>	Bacilo Gram positivo não esporulado	Bacilo Gram positivo não esporulado
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Candida</i> spp	<i>Candida</i> spp não albicans
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Penicillium</i> spp	<i>Penicillium</i> spp
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Micrococcus</i> spp	<i>Micrococcus</i> spp
<i>Peptostreptococcus</i> spp	<i>Alcaligenes</i> spp	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Prevotella</i> spp	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus</i> spp
<i>Porphyromonas</i> spp	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Eubacterium lentum</i>	<i>Corynebacterium</i> spp	
<i>Veillonella parvula</i>		
<i>Propionibacterium acnes</i>		
<i>Neisseria cinerea</i>		
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		

Fonte: próprio do autor.

Os dados do Quadro 8 apresentam a relação dos micro-organismos recuperados das CAR após o atendimento odontológico, sem que tratamento algum de limpeza e/ou desinfecção fosse aplicado nela, caracterizando o controle positivo (*baseline*) do estudo (n=10). O crescimento médio encontrado neste grupo foi de 17,5 UFC/placa, com exceção das amostras 7 (incontável), 9 e 10 (sem contagem). Estas duas últimas foram analisadas pelo método de semeadura direta da gaze, impossibilitando a contagem das unidades formadoras de colônia.

Quadro 8 - Distribuição das UFC/amostra de crescimento microbiano nas amostras do grupo controle positivo. São Paulo, 2012.

AMOSTRA	MICRO-ORGANISMO	UFC/amostra
1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	22
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	3
	<i>Alcaligenes</i> spp	4
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	153
	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
	<i>Micrococcus</i> spp	32
3	<i>Penicillium</i> spp	1
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
4	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	5
	<i>Micrococcus</i> spp	15
5	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	16
	<i>Corynebacterium</i> spp	1
6	<i>Candida</i> spp	8
	Bacilo Gram positivo não esporulado	2
7	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	> 300
8	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	1
9	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	NA*
	Bacilo Gram pos não esporulado	
10	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	NA*
	Bacilo Gram positivo não esporulado	

* NA – não aplicado contagem pelo método.

Fonte: próprio do autor.

As 10 unidades da CAR do grupo controle negativo, submetidas à limpeza e esterilização consecutiva, por meio de autoclavação após o uso, apresentaram resultados satisfatórios de ausência microbiana na totalidade das amostras.

6

Discussão

6 DISCUSSÃO

Os resultados da presente investigação reprovam a prática analisada de desinfecção das CAR por meio da fricção com álcool 70% sem limpeza prévia, por 90 segundos de contato. Esta afirmação está substantiada, sobretudo pela sobrevivência dos micro-organismos que não corresponderam à ação fungicida e bactericida esperada do álcool na condição de desinfetante de nível intermediário.

Ao se basear na ordem decrescente de resistência dos grupos microbianos aos germicidas, proposta por Spaulding (1968), os achados deste estudo vão contra o esperado da ação germicida do álcool 70% p/v, (eliminação de micobactérias, bactérias vegetativas, fungos e vírus) ao identificar bactérias vegetativas e fungos nas amostras das CAR, após a desinfecção com o álcool 70% p/v, embora, McDonnell e Burke (2011) afirmem que o crescimento de micro-organismos em níveis de desinfecção não esperados, reforça que os critérios utilizados para a categorização dos níveis de resistência, proposto por Spaulding (1968), necessitem ser revistos, uma vez que, estes basearam-se essencialmente nos conhecimentos microbiológicos de 1968 e não atuais.

Os mesmos autores exemplificam que, atualmente, dependendo do país ou região, para testar a eficácia de desinfetantes e esterilizantes de agentes germicidas, várias cepas de um mesmo micro-organismo são usadas, e não apenas uma cepa representando a eficácia e comparando-a com as outras espécies. A atividade micobactericida de desinfetantes de alto nível, pela legislação atual no Brasil (RDC 35/2010), é demonstrada com cepas padronizadas de *Mycobacterium bovis*, *M. smegmatis* e *M. massiliense* (INCQS 594) como evidência de atividade contra todos os tipos de micobactérias e outros tipos de micro-organismos, que

são vistos como sendo menos resistentes (por exemplo, outras bactérias, vírus e fungos). Já para desinfetante de nível intermediário são incluídos somente as *Mycobacterium bovis* e *M. smegmatis*.

É inegável o desenvolvimento de mecanismos de resistência adquirida dos micro-organismos ao longo do tempo, assim como a descoberta de um universo de novos micro-organismos que podem apresentar perfis distintos de resistência intrínseca frente aos agentes antimicrobianas.

Um dos mecanismos de resistência descrito na literatura contra a ação dos germicidas é o fenômeno induzido pela bomba de efluxo presente na membrana bacteriana. Até o momento, a resistência bacteriana induzida pela bomba de efluxo não foi confirmada frente à ação de germicidas, como o álcool, aldeídos, peróxidos, compostos clorados e seus derivados (Chojecka et al, 2012).

Na presente investigação, os micro-organismos recuperados não se caracterizaram como aqueles intrinsecamente resistentes ou que desenvolveram resistência ao álcool. Há fortes argumentações de que o resíduo orgânico, de certa forma, possa ter protegido os micro-organismos da ação do germicida álcool 70% p/v, como relatado por Tosh e colaboradores (2011), no surto de infecção causado por falhas no processo da limpeza dos artroscópios.

As resistências intrínsecas ou adquiridas dos micro-organismos aos antissépticos e desinfetantes são apontadas, como possíveis responsáveis pelos resultados não esperados de sobrevivência de certos grupos microbianos à ação de germicidas. Esta compreensão tem tornado os profissionais da saúde mais reflexivos frente ao referencial teórico da ordem decrescente de resistência dos grupos microbianos aos agentes químicos desinfetantes, proposto por Spaulding em 1968.

Outro aspecto que reforça a reprovação da prática analisada é a consideração de que os micro-organismos recuperados, mesmo sendo de baixo potencial patogênico, podem comportar-se como anfíbios, isto é, são capazes de agredir o hospedeiro quando as condições ambientais e imunológicas são favoráveis aos micro-organismos, causando infecção. Vale ressaltar que os micro-organismos da microbiota oral humana comportam-se como anfíbios, isto é, são capazes de agredir o hospedeiro quando as condições ambientais e imunológicas são favoráveis aos micro-organismos, como se observa, por exemplo, em pacientes imunocomprometidos, pacientes com disfunções metabólicas ou que sofreram traumas mecânicos, químicos ou térmicos (Foschi et al., 2006).

Atualmente reconhece-se que a maioria das infecções relacionadas a procedimentos assistenciais é de origem endógena e não exógena (Oliveira, 2005). Diversos micro-organismos como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Dialister pneumosintes*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia* e *T. denticola*, estão, particularmente, implicados na etiologia das odontopatias, às vezes, associadas a outros micro-organismos Gram negativos e Gram positivos, sobretudo, anaeróbios estritos (Ledder et al., 2007). Estas bactérias, colonizantes, *a priori*, são isoladas em números elevados em sítios periodontais com evidências clínicas de perda de inserção gengival e inflamação, estabelecendo complexas interações ecológicas entre si, modulando a resposta imunológica e o resultado do tratamento proposto pelo odontólogo (Kolenbrander et al., 2006; Jervoe-Storm et al., 2007).

As doenças periodontais são infecções mistas (endodônticas e periapicais) e de caráter sinérgico, sendo difícil determinar o papel desempenhado por uma espécie particular. Estudos vêm mostrando a relação de *A. actinomycetemcomitans* com as

periodontites agressivas localizadas e sua associação com *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola* na periodontite crônica (Gaetti-Jardim Jr, Merino, Campos, 2013).

A interpretação do risco clínico dos micro-organismos recuperados nesta investigação, após a desinfecção das CAR depende do tipo e carga do inóculo, conforme as publicações de Gao e colaboradores (2011) e Davis e colaboradores (2012). Estes estudos demonstraram, por meio de análises da concentração microbiana salivar, a presença e quantificação de *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis*, utilizando diferentes técnicas de contagem microbiana (PCR, Dentocult® SM strip, Saliva-Check® Mutans System). Os autores citados definiram faixas de concentrações, como biomarcadores para riscos de doenças cariogênicas e periodontais para cada técnica utilizada, classificando como baixo ou mínimo risco as contagens $< 10^4$ UCF/mL e máximo ou alto risco as contagens $> 10^6$ UFC/mL.

Ao analisar quantitativamente os micro-organismos encontrados no presente estudo (10^0 a 10^2 UFC/amostra) com a classificação quantitativa estabelecida, como risco para doenças cariogênicas e periodontais, conclui-se que o risco de infecção dos micro-organismos recuperados é baixo, independente de gênero e espécie microbianas encontradas.

A limpeza como pré-requisito não foi explicitamente considerada na recomendação proposta por Spaulding (1968), ao indicar os níveis de descontaminação dos materiais, conforme seu potencial de risco em causar infecções, o que tem dificultado, de certa forma, a adesão desse procedimento como obrigatório. Se isso tivesse acontecido, o curso da história poderia ser diferente.

Pesquisadores vêm demonstrando a baixa carga microbiana em materiais utilizados na assistência à saúde após a limpeza, com redução microbiana na faixa de 10^2 a 10^5 UFC/material (Rutala, 1996; Chan Meyers et al, 1997). Considerando que os micro-

organismos morrem em escala exponencial logarítmica, e não todos ao mesmo tempo, pois quanto menor for a densidade microbiana inicial nos produtos maiores serão seus níveis de segurança alcançada de descontaminação (Padoveze, 2010; Padoveze et al, 2011).

Hipoteticamente, se as CAR desta investigação tivessem sido submetidas a limpeza prévia à desinfecção por meio de álcool 70% p/v, os resultados demonstrariam, certamente, maior segurança da prática, simplesmente pelo fato de iniciar o processo de desinfecção partindo de uma carga menor de inóculo.

Em 2011, em uma publicação foi relatado um surto de infecção de sítio cirúrgico de pacientes submetidos a procedimentos de artroscopia de joelho e ombro, causado pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital do Estado do Texas – EUA (Tosh et al., 2011). A falha no procedimento de limpeza dos materiais artroscópicos foi apontada como causadora do surto pela presença de tecido humano e fragmentos de cerdas de escovas de limpeza retidas no canal interno de sucção dos artroscópios. A recuperação da mesma bactéria presente nas amostras coletadas dos pacientes infectados foi identificada nos resíduos remanescentes do material.

Indubitavelmente, a limpeza é a etapa fundamental para o sucesso do processamento dos materiais. Os requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para a saúde, descritos na RDC 15/2012, recomenda que o processo de limpeza ocorra independente da classificação de risco dos materiais. Nesta Resolução a limpeza está definida como o processo de remoção de sujidades orgânicas e inorgânicas, com redução da carga microbiana presente nos produtos para a saúde, utilizando água, detergentes, produtos e acessórios de limpeza, por meio de ação mecânica (manual ou automatizada), atuando em superfícies

internas (lúmen) e externas, de forma a tornar o produto seguro para manuseio e preparado para desinfecção ou esterilização.

Os critérios de limpeza das CAR devem seguir o mesmo proposto pela RDC 15/2012, após cada atendimento. Dentre os recursos automatizados atualmente disponíveis para o processo de limpeza de materiais utilizados na assistência à saúde, e que poderiam ser aplicados na limpeza das CAR, destacam-se as lavadoras ultrassônicas que agem pelo fenômeno da cavitação e implosão, em que as ondas de energia acústica propagam-se em meio líquido, gerando bolhas microscópicas que, ao entrarem em contato com a superfície do material, estouram e geram uma área de vácuo que remove a sujidade aderida ao material (Rutala, Weber, 2008; Psaltikidis, 2011).

Quanto à classificação dos materiais (críticos, semicríticos e não críticos) proposta por Spaulding em 1968, segundo o potencial de risco em causar infecções, Rutala e Weber (2008) elencaram três problemas nessa classificação, que vêm ao encontro com o assunto de processamento das CAR.

O primeiro, é a simplificação da classificação dos materiais utilizados na assistência à saúde nas três categorias. Os autores exemplificam que o esquema não considera problemas com o processamento de materiais e equipamentos complexos e termossensíveis, além dos problemas na inativação de agentes infecciosos, como os príons, agentes da doença de Creutzfeldt Jakob.

O segundo problema apontado, é a possibilidade de um material ser classificado em mais de uma categoria do esquema proposto por Spaulding (1968). Esta questão também está presente no caso das CAR, ao serem classificadas, como um instrumental semicrítico. Dependendo de seu uso clínico, poderá ser crítico como nos procedimentos para implantodontia, que atinge cavidades estéreis da boca.

O terceiro problema discutido pelos autores no sistema proposto por Spaulding (1968), é a falta de definição ou as variações entre os profissionais da saúde quanto ao tempo de contato ideal dos materiais aos germicidas na desinfecção, resultando, por exemplo, em estratégias diferentes de desinfecção para os diversos materiais semicríticos (endoscópios, tonômetros, transdutores endocavitários, entre outros). Fatores como a variação no modo da aplicação do álcool 70% p/v, a falta de parâmetros como volume, controle da concentração do álcool, superfície de esfregação e o aleatório tempo de contato do germicida nas CAR foram observados no local de coleta, devendo ser padronizado na rotina de descontaminação das CAR.

Quanto a esta última questão levantada por Rutala e Weber (2008), não há outro caminho a não ser o cumprimento das indicações e recomendações de uso explicitadas no rótulo dos germicidas. Estes são aprovados pelos órgãos sanitários reguladores que, no Brasil, é a Divisão de Saneantes da Agência Nacional de Vigilância à Saúde - ANVISA. Os estabelecimentos de saúde do País devem utilizar exclusivamente os germicidas com registro outorgado por essa Divisão da ANVISA e seu uso deve seguir as instruções do rótulo cuja segurança foi validada atendendo a determinação da RDC 35/2010.

A classificação de Spaulding (1968) continuará sendo empregada amplamente pelos profissionais da assistência à saúde, até que novas propostas aprimorem esta classificação. Estudos testando novas cepas e fórmulas desinfetantes são necessários para a complementação e atualização da proposta de mais de 40 anos atrás. Por ora é de extrema importância que os profissionais da saúde façam uma leitura reflexiva da proposta de Spaulding (1968) e não uma leitura linear dicotômica, por exemplo, de que o álcool 70% p/v por 30 segundos, na condição de desinfetante de nível

intermediário é micobactericida, fungicida, bactericida vegetativo e virucida irrestrito.

A falta de discussão do significado dos achados microbiológicos em trabalhos na área da odontologia é usual, o que reduz as possibilidades de discussões e questionamentos das normas impostas por órgãos regulatórios no processamento dos materiais, muitas vezes, sem evidências científicas. O princípio das recomendações e orientações de controle e prevenção de infecção na assistência à saúde da área hospitalar, é baseado no risco de infecção aceitável, e não na erradicação de transmissão da infecção. Esse risco aceitável parte do princípio de que a segurança absoluta é, geralmente, uma meta inatingível, e descreve a possibilidade de um evento cuja probabilidade de ocorrência é pequena.

Na odontologia, existe a percepção de que as diretrizes para o controle de infecção estão baseadas na contaminação ou no princípio da precaução padrão para todos os procedimentos, não havendo muitas vezes evidências científicas de que tais medidas sejam eficazes para redução do risco de infecção (Petti et al, 2010; Barker et al., 2011; Petti et al., 2013).

Um aspecto metodológico a ser discutido, refere-se a carga microbiana encontrada nas amostras do grupo controle positivo (*baseline*) da presente investigação, que permaneceu em sua maioria, na faixa de 10^0 a 10^2 UFC/placa. Este resultado quantitativo manteve-se muito aquém do esperado, com exceção da amostra nº 7, que apresentou recuperação microbiana > 300 UFC. Este fato pode estar associado a antissepsia bucal, com germicida químico a base de clorexidina, realizada por todos os pacientes antes do início dos procedimentos odontológicos, alterando assim, a microbiota oral do paciente.

Por convenção, quando uma carga microbiana é > 300 UFC, microbiologicamente, pode ser entendida como incontável. Publicações científicas citam que a carga microbiana presente na

cavidade oral humana de indivíduos saudáveis é alta, variando de 10^6 a 10^9 UFC/ml ou org/g na saliva, 10^5 UFC/ml no sulco gengival e 10^{11} org/g na placa dental (Lazarevic, 2010; Uzel et al., 2011; Davis et al., 2012). Considerando este *bioburden* citado pela literatura, a redução obtida nas condições do estudo foi expressiva (10^0 a 10^2 UFC).

Os dados da validação metodológica referente a extração da carga microbiana da gaze mostraram que houve uma perda de um logaritmo na recuperação dos microrganismos, implicando numa perda de 90% da carga inicial da contaminação das CAR. Se esta diferença é aceitável para inóculo com alta contagem inicial, não se pode dizer o mesmo para inóculo com contagem microbiana baixa. Assim sendo, há que se admitir que o método empregado pode ter subestimado a recuperação de micro-organismos quando da avaliação da intervenção de descontaminação, porém, mesmo assim, o método empregado permitiu chegar à conclusão de não alcance da ação germicida do álcool 70% p/v como desinfetante de nível intermediário.

7

Conclusão

7 CONCLUSÃO

Os resultados da presente investigação reprovam a prática da descontaminação das CAR por meio da fricção com álcool 70% p/v por 90 segundos, na ausência de limpeza prévia. Esta afirmação está substantiada pela sobrevivência de micro-organismos que não atenderam à ação bactericida e fungicida esperada do álcool 70% p/v na condição de desinfetante de nível intermediário.

Outro aspecto que substantia a reprovação da prática analisada foi a consideração de que os micro-organismos recuperados mesmo sendo de baixo potencial patogênico podem comportar-se como anfíbios, isto é, são capazes de agredir o hospedeiro quando as condições ambientais e imunológicas são favoráveis aos micro-organismos.

Na saúde, todos os procedimentos possíveis de controlar a transferência de micro-organismos exógenos devem ser redobrados. A etapa da limpeza prévia é fundamental para a redução da carga microbiana, antecedendo os processos de desinfecção e esterilização. Hipoteticamente, a ação do álcool 70% p/v aplicado, após a limpeza das CAR, poderia alcançar níveis satisfatórios de desinfecção na impossibilidade da esterilização como método ideal ou de desinfecção de alto nível.

Referências

REFERÊNCIAS

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43: 5721-32.

Adair FW, Geftic SG, Gelzer J. Resistance of *Pseudomonas* to quaternary ammonium compounds. *Appl Microbiol.* 1969;18(3):299-302.

Ali Y, Dolan MJ, Fendler EJ, Larson EL. Alcohols. In: Block SS. *Disinfection, sterilization, and preservation.* 5ª ed. Philadelphia, EUA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 229-53.

Alvarenga CF, Reis C, Tipple AFV, Paiva EMM, Sasamoto SAA. Efetividade de um protocolo de processamento na esterilização de canetas de alta rotação em autoclave gravitacional. *Rev Eletr Enf [Internet].* 2011;13(3):560-5.

Alvarenga CF, Tipple AFV, Pereira AFV, Medeiros GLA, Reis C. Descontaminação de canetas de alta rotação: um desafio para o controle de infecção em Odontologia. *Rev ABO Nac Supl1.* 2010;18:436-40.

American Dental Association Council on Access, Prevention and Interprofessional Relations; American Dental Association Council on Scientific Affairs. Using mouth guards to reduce the incidence and severity of sports-related oral injuries. *J Amer Dent Assoc,* 2006.

American Dental Association Council on Access, Prevention and Interprofessional Relations; American Dental Association Council on Scientific Affairs. Dental Unit Water Quality. *J Amer Dent Assoc* 2012.

Basso M, giunta aPn. limpeza e desinfecção de artigos Médicos-hospitalares. in: associação Paulista de estudos e controle de infecção hospitalar. limpeza, desinfecção de artigos e Áreas hospitalares e anti-sepsia. 2 ed. São Paulo, 2004. p.1-14.

Bishop DG, Still JL. Fatty acid metabolism in *Serratia Marcescens*: IV. The effect of temperature on fatty acid composition. *J Lipid Reserch.* 1963; 4(1):87-90.

Bittencourt EI, Nohama P, Costa LMD, Souza HPHM. Avaliação da contaminação das canetas de alta rotação na clínica odontológica. *Rev ABO Nac.* 2003;11(2):93-8.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 35/2010. Dispõe sobre Regulamento Técnico para produtos com ação antimicrobiana utilizados em artigos críticos e semicríticos. <http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/105102-35.html>. Data do acesso: 30/04/2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada n. 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília (DF) 2012 mar. 19.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC no 8 de 27 de fevereiro de 2009b. Dispõe sobre as medidas para redução da ocorrência de infecções por micobactérias de crescimento rápido - MCR em serviços de saúde. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 mar. 2009. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=35890&word=esteriliza%C3%A7ao%20quimica%20por%20imersao>>. Acesso em: 11 jan. 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde. Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1994.

Bruna CQM. Influência da temperatura e da umidade relativa ambientais na manutenção da esterilidade de materiais autoclavados em diferentes embalagens. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem; 2010.

CDC. Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings. USA, 2008.

Center of Diseases Control and Prevention. Guidelines for Infection Control in Dental Health – Care Settings. MMWR 2003 dez, 52 (RR 17): 1-61. Disponível em URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5217a1.htm> [2011 fev 10].

Chan-Myers H, McAlister D, Antonoplos P. Natural bioburden levels detected on rigid lumened medical devices before and after cleaning. Am J Infect Control. 1997;25(6):471-6.

Chojacka A, Jakubiec K, Jakimiak B, Röhm-Rodowald E, Kancierski K P. Significance of the efflux phenomenon as a mechanism of bacterial resistance on active substances of biocide. Epidemiol. 2012;66(1):39-44.

Cleveland JL, Foster M, Barker L, Brown GG, Lenfestey N, Lux L, Corley TJ, Bonito AJ. Advancing infection control in dental care settings: Factors associated with dentists implementation of guidelines from the Centers for Disease Control and Prevention. *JADA*. 2012;143(10):1127-38.

Cochran WG. *Sampling Techniques*. 3ª ed. New York: John Wiley & Sons, 1977.

Cremieux A, Fleurette J. Methods of testing disinfectants. In: Block SS. *Disinfection, sterilization, and preservation*. 4ª ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.1009-27.

Davis JE, Freel N, Findley A, Tomlin K, Howard KM, Seran CC, et al. A molecular survey of *S. mutans* and *P. gingivalis* oral microbial burden in human saliva using Relative Endpoint Polymerase Chain Reaction (RE-PCR) within the population of a Nevada dental school revealed disparities among minorities. *BMC Oral Health*. 2012;12:34.

Duarte RS, Lourenço MC, Fonseca Lde S, et al. Epidemic of postsurgical infections caused by *Mycobacterium massiliense*. *J Clin Microbiol*. 2009;47:2149-55.

Favero MS, Bond WW. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: Block SS. *Disinfection, sterilization, and preservation*, 5ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p.881-917.

Food and Drug Administration. Department of Health and Human Services. Dental handpiece sterilization, Food and Drug Administration, Rockville, MD, 1992.

Food and Drug Administration. FDA cleared sterilant and high level disinfectants with general claims for processing reusable medical and dental devices — March, 2009. Available at: <http://www.fda.gov/cdrh/ode/germlab.html>. Acessado em março de 2013.

Foschi F, Izard J, Sasaki H, Sambri V, Prati C, Müller R, et al. *Treponema denticola* in disseminating endodontic infections. *J Dent Res*. 2006;85(8):761-5.

Gaetti-Jardim Jr E, Merino VRC, Campos MJA. Aspectos microbiológicos de infecções bucais: relação ecológica e de virulência. Acessado em maio/2013: http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=48&Itemid=58&lang=br

Gao XL, Seneviratne CJ, Lo EC, Chu CH, Samaranayake LP. Novel and conventional assays in determining abundance of *Streptococcus mutans* in saliva. *Int J Peadiatr Dent*. 2012;22(5):363-8.

Graziano MU, Graziano KU, Pinto FMG, Bruna CQM, Souza RQ, Lascale CA. Eficácia da desinfecção com álcool 70% (p/v) de superfícies contaminadas sem limpeza prévia. *Rev Lat Am Enf*. 2013;21(2).

Griffiths PA, Babb JR, Bradley CR, Fraise AP. Glutaraldehyde resistant *Mycobacterium chelonae* from endoscope washer disinfectors. *J Appl Microbiol*. 1997;82:519-26.

Jervoe-Storm P-M, Al Ahdab H, Semaan E, Fimmers R, Jepsen S. Microbiological outcomes of quadrant versus full-mouth root planning as monitored by real-time PCR. *J Clin Periodontol*. 2007;34:156-63.

Jorge AOC. Princípios de biossegurança em Odontologia. *Rev Biocienc* [periódico on-line]. 2002 mar [11 p.] Disponível em: <http://www.unitau.br/prppg/publica/biocienc>.

Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Rickard AH, Jakubovics N, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000*. 2006;42:47-79.

Ledder RG, Gilbert P, Huws SA, Aarons L, Ashley MP, Hull PS, McBain A. Molecular analysis of the subgingival microbiota in health and disease. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(2):516-23.

Maillard JY. Bacterial resistance to biocides in the healthcare environment: should it be of genuine concern? *J Hosp Infect*. 2007;65(2):60-72.

McDonnell G, Burke P. Disinfection: is it time to reconsider Spaulding? *J Hosp Infect*. 2011;78(3):163-70.

McDonnell G, Denver Russell AD. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(1):147-79.

Meyer B, Cookson B. Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? *J Hosp Infect*. 2010;76:200-5.

Ministério da Saúde (MS). Portaria nº 2.914, de 12 de Dezembro de 2011. Normas e padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano. Brasília (DF), 2011.

Moriya GAA, Graziano KU. Sterility maintenance assessment of moist/wet material after steam sterilization and 30-day storage. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2010 Jul./Aug.; 18(4):786-91.

Nomura K, Ogawa M, Miyamoto H, Muratani T, Taniguchi H. Antibiotic susceptibility of glutaraldehyde tolerant *Mycobacterium chelonae* from bronchoscope washing machines. *Am J Infect Control*. 2004;32:185-88.

OLIVEIRA, Adriana Cristina. Infecção Hospitalar, epidemiologia, prevenção e controle. 1 ed. Rio Janeiro: MEDSI/Guanabara Koogan, 2005.

Padoveze MC, Graziano KU. Aspectos conceituais e microbiológicos relacionados ao processamento de materiais utilizados na assistência à saúde. In: Graziano KU, Silva A, Psaltikidis EM, organizadoras. *Enfermagem em centro de material e esterilização*. São Paulo: Manole, 2011. p.22-61.

Padoveze MC. Limpeza, desinfecção e esterilização: aspectos gerais. In: Padoveze MC, Graziano KU, coordenadores. *Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde*. São Paulo: APECIH; 2010. p.1-35.

Pereira RS, Tipple AFV, Reis C, Cavalcante FO, Belo TKAMC. Análise microbiológica de canetas odontológicas de alta Rotação submetidas à descontaminação com álcool etílico a 70%. *Robrac*. 2008;17(44):124-32.

Petti S, Moroni C, Messano GA, Polimeni A. Detection of oral streptococci in dental unit water lines after therapy with air turbine handpiece: biological fluid retraction more frequent than expected. *Future Microbiol*. 2013;8(3):413-21.

Pinto FMG; Souza RQ; Silva CB; Mimica LMJ; Graziano KU. Analysis of the microbial load in instruments used in orthopedic surgeries. *American Journal of Infection Control*. 2010;38(3):229-33.

Pitombo MB, Lupi O, Duarte RS. Infecções por micobactérias de crescimento rápido resistentes a desinfetantes: uma problemática nacional?. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, Rio de Janeiro. 2009;31(11):529-33.

Price PB. Surgical antiseptics. In: Lawrence CA, Block SS. *Desinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea & Febinger, 2006.

Psaltikidis EM, Ribeiro SMPC. Recepção e limpeza dos materiais. In: Graziano KU, Silva A, Psaltikidis EM, organizadoras. *Enfermagem em centro de material e esterilização*. São Paulo: Manole, 2011. p.62-91.

Psaltikids EM. Desinfecção. In: *Enfermagem em Centro de Material*

e Esterilização. Graziano KU, Silva A, Psaltikids EM. Barueri, SP: Manole, 2011.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>, 2012.

Ribeiro SMCP. Limpeza. In: Padoveze MC, Graziano KU, coordenadores. Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde. São Paulo: APECIH; 2010. p.57-82.

Ribeiro SMCP. Reprocessamento de cateteres de angiografia cardiovascular após uso clínico e contaminados artificialmente: avaliação da eficácia da limpeza e da esterilização [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2006.

Romão CM, Faria YN, Pereira LR, Asensi MD. Susceptibility of clinical isolates of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* to a hospital disinfectant and molecular typing. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100(5): 541-48.

Russell AD, McDonnell G. Concentration: a major factor in studying biocidal action. *J Hos Inf*. 2000;44:1-3.

Russell AD. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *The Lancet Infect Dis*. 2003; 3(12):794-803.

Russell, A.D. Plasmids and bacterial resistance to biocides. *J Appl Microbiol*. 1997;83(2):155-65.

Rutala WA, Weber DJ. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities [online]. Center for Diseases Controle and Prevention. HICPAC; 2008. Available from: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf. (acesso em fevereiro de 2011).

Rutala WA, Weber DJ. Sterilization, High-Level Disinfection, and Environmental Cleaning. *Infect Dis Clin N Am*. 2011;25(1):45-76.

Schel, AJ, Marsh PD, Bradshaw DJ, Finney M, Fulford MR, Frandsen E, et al. Walker Comparison of the efficacies of disinfectants to control microbial contamination in dental unit water systems in general dental practices across the European Union *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(2):1380-7.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):134-44.

Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbiology. *Periodontology* 2000. 2005;38:135-87.

Souza RQ, Torres LM, Graziano KU, Turrini RNT. Micro-organismos da subclasse Coccidia: resistência e implicações para o processamento de materiais de assistência à saúde. *Rev Esc Enferm USP* [online]. 2012;46(2):466-71.

Spaulding EH. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: Lawrence C, Block SS. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea & Febiger, cap. 32, p. 517-531, 1968.

Stefano Petti, DMD; Antonella Polimeni, MD. The Rationale of Guidelines for Infection Control in Dentistry: Precautionary Principle or Acceptable Risk?. *Infection control and hospital epidemiology*. 2010;31(12)

Tosh PK, Disbot M, Duffy JM, Boom ML, Heseltine G, Srinivasan A, et al. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* Surgical Site Infections after Arthroscopic Procedures: Texas, 2009. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2011;32(12), 1179-86.

Treasure P, Treasure ET. Survey of infection control procedures in New Zealand dental practices. *Int Dent J*. 1994;44(4):342-8.

Tura F, Alves CFS, Kirsten VR, Amaral CF, Dotto PP, Santos RCV. Avaliação da contaminação interna em canetas de alta rotação na prática clínica. *Braz Dent Sci*. 2011;14(3/4):18-26.

United State Pharmacopeia. 25th ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention. USP 30-NF 25, 2007.

Uzel NG, Teles FR, Teles RP, Song XQ, Torresyap G, Socransky SS, Haffajee AD. Microbial shifts during dental biofilm re-development in the absence of oral hygiene in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol* 2011; 38: 612–20.

Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev*. 1992;56(3):395-411.

van KB, Pullen W. 1993. Glutaraldehyde resistant mycobacteria from endoscope washers. *J. Hosp. Infect*. 25:147–149.

Van Klingeren B, Pullen W. Glutaraldehyde resistant mycobacteria from endoscope washers. *J Hosp Infect* 1993;25:147-49.

Vuong C, Otto M. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes Infect*. 2002;4(4):481-89.

Watanabe E, Pimenta FC, Agostinho AM, Matsumoto W, Ito IY.

Dental unit water: bacterial decontamination of old and new dental units by flushing water. *Int J Dent Hygiene*. 2008;6(1):56-62.

Watanabe E, Pimenta FC, Agostinho AM, Matsumoto W, Ito IY. Diferentes métodos de avaliação do nível de contaminação microbiana da água de alta rotação. *Robrac*. 2006;15(40):3-9.

Watanabe E. Água do equipo odontológico: técnicas convencionais e modernas para avaliar a contaminação microbiana. 2007. 142f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

WATANABE, E.; PIMENTA, F. C.; ITO, I. Y. Determinação do nível de contaminação microbiana da água de equipos odontológicos utilizando Petrifilm™ e SimPlate WHPC. *STOMA*, Lisboa, n. 82, p. , jan./fev./mar. 2007.

Weber DJ, Rutala WA. Use of germicides in the home and the healthcare setting: is there a relationship between germicide use and antibiotic resistance? *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27(10) 1107-19.

Apêndices