



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

BRUNA CRISTIANE DE AVILA

**CONTAMINAÇÃO DO AR E SUPERFÍCIES EM CLÍNICAS
ODONTOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA**

**UBERLÂNDIA
2017**

BRUNA CRISTIANE DE ÁVILA

**CONTAMINAÇÃO DO AR E SUPERFÍCIES EM CLÍNICAS
ODONTOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
à Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito parcial para obtenção do título de
graduada em Odontologia.

Orientadora: Karinne Spirandelli Carvalho Naves

CÓPIA DA ATA DE DEFESA

2017

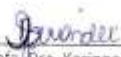


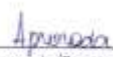
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ATA DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DO (A) DISCENTE **Bruna Cristiane de Ávila** DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.

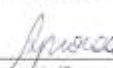
No dia **06 de novembro de 2017**, reuniu-se a Comissão Julgadora aprovada pelo Colegiado de Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, para o julgamento do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado pelo (a) aluno (a) **Bruna Cristiane de Ávila**, COM O TÍTULO: - **"CONTAMINAÇÃO DO AR E SUPERFÍCIES EM CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA"**. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública compreendendo a exposição, seguida de arguição pelos examinadores. Encerrada a arguição, cada examinador, em sessão secreta, exarou o seu parecer. A Comissão Julgadora, após análise do Trabalho, verificou que o mesmo encontra-se em condições de ser incorporado ao banco de Trabalhos de Conclusão de Curso desta Faculdade. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas da Graduação, legislação e regulamentação da UFU. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos e lavrada a presente ata, que após lida e achada conforme, foi assinada pela Banca Examinadora.

Uberlândia, 06 de novembro de 2017


Prof.ª Dra. Karinne Spirandelli Garvalho Naves
Universidade Federal de Uberlândia – UFU


Aprovado/Reprovado

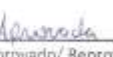

Prof. Msc. Marcelo Caetano Parreira da Silva
Universidade Federal de Uberlândia – UFU


Aprovado/Reprovado


Prof. Dr. Paulo César Magalhães Santos Filho
Universidade Federal de Uberlândia – UFU


Aprovado/Reprovado


Lucas do Nascimento Tavares
Aluno(a) de doutorado – PPGO/UFU


Aprovado/Reprovado

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pela minha saúde, por ser tão generoso comigo, estando sempre ao meu lado, me guiando e me fortalecendo;

Ao meu mentor espiritual por todo o aprendizado, auxílio e amparo nos momentos duvidosos;

À minha família e meu namorado João Paulo que tanto me apoiaram. Agradeço pelo incentivo, por celebrarem comigo cada momento de alegria, por não medirem esforços para me ajudar e amparar;

À minha orientadora Prof. Dra. Karinne Spirandelli Carvalho Naves por toda sua paciência, seu carinho, seus ensinamentos e por ser tão generosa. Obrigada por confiar em mim e sempre me tratar tão bem;

Aos meus amigos por deixarem a vida mais leve e alegrarem o meu dia, me dando conselhos e auxílio em todos os momentos. Em especial, à Raissa Ramos Miranda minha dupla em todas as clínicas, por estar sempre disposta a me ajudar, por todo o companheirismo e parceria;

À acadêmica Karla Martins pelo apoio e auxílio na realização desta pesquisa e por ter sido tão atenciosa comigo;

Em especial a técnica de laboratório Claudete por todo o apoio, atenção, aprendizado e paciência, sendo uma pessoa muito importante para a realização de todo o estudo; não medindo esforços para me ajudar e sempre me tratar com tanta cordialidade;

Aos professores da Universidade Federal de Uberlândia pela dedicação, amizade e ensinamentos;

A todos que de alguma forma contribuíram com minha formação acadêmica.

SUMÁRIO

CÓPIA DA ATA DE DEFESA	3
RESUMO.....	6
ABSTRACT	7
LISTA DE TABELAS.....	8
INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	11
<i>OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....</i>	<i>11</i>
<i>IDENTIFICAÇÃO.....</i>	<i>12</i>
<i>ANÁLISE ESTATÍSTICA</i>	<i>13</i>
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
CONCLUSÕES.....	19
ANEXO A – COLORAÇÃO DE GRAM E TESTES FISIOLÓGICOS	23
<i>1 COLORAÇÃO DE GRAM.....</i>	<i>23</i>
<i>2 PROVA DA CATALASE</i>	<i>24</i>
<i>3 TESTE DE CAGULASE EM TUBO</i>	<i>25</i>
<i>4 TESTE DE DNase.....</i>	<i>26</i>
ANEXO B – NÍVEIS MÁXIMOS ACEITÁVEIS DE CONTAMINAÇÃO EM AMBINETES DE RISCO.....	27

RESUMO

Staphylococcus aureus é um agente associado às infecções hospitalares, devido à elevada frequência e patogenicidade, que o capacitam a produzir doenças tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em hígidos. É de fácil disseminação intra-hospitalar e se caracteriza pela resistência cumulativa a antimicrobianos. É agente de várias infecções, brandas ou severas, incluindo lesões cutâneas, abscessos, infecções de feridas e pneumonia. O presente estudo buscou avaliar a contaminação do ar e de superfícies passíveis de serem contaminadas pelas mãos dos profissionais de saúde (equipo, cadeira odontológica, alça do refletor e mocho) nos blocos 4L1, 4L2, 4T e pronto socorro odontológico da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia. Os resultados mostraram contaminação total média de 9,25 UFC/placa para o ar e 9,19 UFC/placa, para as superfícies. Foram dois isolados (11,0%) de MRSA, um produtor de beta-lactamase e um compatível com o fenótipo MLS_Sbi. Todos os ambientes pesquisados apresentaram contaminação aerógena e em 75,0% das coletas de ar foram positivas para o isolamento de *Staphylococcus aureus*. Para a contaminação de superfícies por bactérias mesófilas totais esteve abaixo do recomendado, entretanto a presença de contaminação por *Staphylococcus aureus* foi positiva em 22,2% dos sítios coletados. Mesmo que a presença deste indicador tenha permanecido abaixo do máximo aceitável para indicadores, estes resultados devem ser um alerta para a monitorização da limpeza e desinfecção dos ambientes.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*. Contaminação do ar. Contaminação de superfícies

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is an agent associated with hospital infections due to its high frequency and pathogenicity, which enables it to produce diseases in both immunocompromised and healthy individuals. It is easily disseminated intra-hospital and is characterized by cumulative antimicrobial resistance. It is an agent of various infections, mild or severe, including skin lesions, abscesses, wound infections, and pneumonia. The present study aimed to evaluate the contamination of air and surfaces that could be contaminated by the hands of health professionals (equipment, dental chair, reflector handle and owl) in blocks 4L1, 4L2, 4T and dental emergency of the Faculty of Dentistry of Federal University of Uberlândia. The results showed mean total contamination of 9.25 CFU / plate for air and 9.19 CFU / plate for the surfaces. There were two isolates (11.0%) of MRSA, a producer of beta-lactamase and one with MLS_{bi} phenotype. All the environments surveyed presented aerogenic contamination and in 75.0% of the air samples were positive for the isolation of *Staphylococcus aureus*. However, the presence of contamination by *Staphylococcus aureus* was positive in 22.2% of the sites collected for the contamination of surfaces by total mesophilic bacteria. Even if the presence of this indicator has remained below the maximum acceptable for indicators, these results should be an alert for the monitoring of the cleaning and disinfection of the environments.

Keywords: *Staphylococcus aureus*. Air contamination. Surface Contamination

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contaminação média por micro-organismos mesófilos totais isolados a partir das superfícies avaliadas nas clínicas do hospital odontológico UFU, unidades formadoras de colônia por sítio estudado (UFC/sítio).....**16**

Tabela 2. Contaminação por *Staphylococcus aureus* isolados a partir das superfícies avaliadas nas clínicas do hospital odontológico da UFU, unidades formadoras de colônia por sítio estudado (UFC/sítio).....**17**

Tabela 3. Resistência frente aos antimicrobianos testados por método de disco-difusão para 18 isolados de *Staphylococcus aureus*.....**18**

INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares continuam sendo um sério problema de saúde pública, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, causando aumentos significativos na morbidade, mortalidade e custos hospitalares (BOYCE, 2001). Entre os principais patógenos relacionados à etiologia dessas infecções destaca-se *Staphylococcus aureus* (MORAES et al., 2000).

Além das infecções causadas por contato com superfícies contaminadas, há também as infecções aerógenas sendo aquelas que ocorrem pela disseminação de partículas menores que 5 µm, que são geradas durante tosse, espirro, conversação ou na realização de procedimentos que envolvem profissionais da área da saúde, que prestam serviços de forma direta e indireta, no interior dos estabelecimentos de saúde. Segundo Dantas (1998), os contaminantes biológicos ou bioaerossóis são constituídos por fungos, bactérias, ácaros e amebas. A exposição aos micro-organismos presentes no ar de ambientes interiores ocupacionais está associada a uma série de efeitos prejudiciais com grandes impactos na saúde pública. Calcula-se que as doenças de transmissão aerógena podem ser responsáveis por 10-20% de todas as infecções hospitalares endêmicas (GIZAW; GEBREHIWOT; YENEW, 2016).

As partículas dos bioaerossóis permanecem suspensas no ar por longos períodos de tempo e, quando são inalados, podem penetrar o trato respiratório (Anvisa, 2006). Quando o agente microbiano é inalado fica retido no trato respiratório, um ambiente favorável ao seu desenvolvimento, alguns fatores estão ligados à infectividade como a imunidade do indivíduo, a profundidade da penetração, o tamanho das partículas e a dosagem mínima do agente capaz de provocar a doença (ROSA et al, 2005).

Durante o atendimento odontológico, a utilização do motor de alta rotação, raspadores ultrassônicos, seringas de ar/água entre outros que favorecem a formação de aerossóis que podem transportar micro-organismos patogênicos, capazes de infectar outras pessoas presentes no ambiente odontológico. Entre as doenças passíveis de serem transmitidas por via aerógena estão: gripe, resfriado comum e tuberculose (DISCACCIATI, et al., 1998).

Entre os micro-organismos capazes de causarem danos à saúde, os que se destacam são as bactérias que constituem a microbiota humana, que em indivíduos saudáveis não trazem nenhum risco, mas que podem causar danos em indivíduos imunocomprometidos (BRASIL, 2004).

Nas últimas décadas, levantamentos sobre a importância do ambiente como reservatório secundário de micro-organismos multirresistentes foram realizados (SHIOMORI, et al., 2002). Dados atuais demonstram que micro-organismos como *Staphylococcus aureus* metilina resistente, *Pseudomonas aeruginosa* e *Mycobacterium tuberculosis*, transmitidos por aerossóis, estão entre as espécies responsáveis por surtos hospitalares relacionados à contaminação ambiental (WAN, et al., 2004).

Staphylococcus aureus tornou-se um paradigma das infecções hospitalares, devido à sua frequência elevada, à sua patogenicidade, à capacidade de produzir doenças tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em hígidos, sua fácil disseminação intra-hospitalar e à resistência a antimicrobianos. O paciente que adquire *Staphylococcus aureus* no hospital pode apresentar-se apenas colonizado na mucosa nasal, pele, brônquios ou reto ou apresentar infecções de todo nível de gravidade, desde superficiais limitadas até infecções sistêmicas graves (BURNETT, 1978). *Staphylococcus aureus* é encontrado em várias infecções incluindo lesões cutâneas, abscessos, infecções de feridas e pneumonia; a partir destes locais podem se disseminar por via sanguínea para todos os órgãos do corpo. Podem também causar problemas como intoxicação alimentar, síndrome do choque tóxico, endocardite, osteomielite, infecções oculares e otológicas graves (BURNETT, 1978).

Staphylococcus aureus são bactérias Gram positivas, anaeróbias facultativas, imóveis e não formadoras de esporos. São resistentes a alterações ambientais, podendo sobreviver por um longo período de tempo em amostras secas. São resistentes ao calor além de suportarem elevada concentração salina. A identificação de *Staphylococcus aureus* é realizada por meio da avaliação da morfologia colonial, fermentação do manitol, características morfo-tintoriais à microscopia óptica, testes de catalase, coagulase e DNase positivos (BRASIL, 2004).

Tendo em vista a possibilidade de transmissão aerógena e a importância do ambiente como reservatório deste micro-organismo, o presente estudo realizou o monitoramento microbiano, para identificação de *Staphylococcus aureus*, nas clínicas do Hospital Odontológico e Pronto Socorro Odontológico (PSO) da Universidade Federal de Uberlândia; com o objetivo de avaliar a contaminação do ar e de superfícies passíveis de serem contaminadas pelas mãos dos profissionais de saúde (equipo, cadeira odontológica, alça do refletor e mocho), além de avaliar quantitativamente a contaminação do ar e das superfícies nas clínicas odontológicas; verificar a contagem total de micro-organismos no ar e nas superfícies das clínicas odontológicas; avaliar qualitativamente a contaminação por *Staphylococcus aureus* nas clínicas odontológicas e identificar a presença do fenótipo resistente à meticilina (MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) no ar e superfícies.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no período de abril a julho de 2017. As coletas de amostras foram obtidas a partir das clínicas do Hospital Odontológico da Universidade Federal de Uberlândia.

O estudo microbiológico foi realizado no Laboratório de Bacteriologia Clínica (LABAC) da ARIMP (Área de Imunologia, Microbiologia, e Parasitologia) do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia.

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As avaliações quantitativas das superfícies (equipo, cadeira odontológica, alça do refletor e mocho) foram realizadas por meio de placas de contato (Rodac^R) contendo o meio de cultura Baird Parker Agar, que se trata de um meio moderadamente seletivo para diferenciação utilizado para o isolamento e enumeração de *Staphylococcus aureus* nas amostras alimentares, ambientais e clínicas (LANCETTE et al. 2001). A coleta foi realizada com a placa em temperatura ambiente, encostando o meio de cultura

diretamente sobre a superfície a ser analisada; exercendo uma suave pressão com os dedos sobre o centro da placa para garantir o contato com toda a superfície. A placa foi imediatamente tampada, cuidando para não encostar o meio de cultura em outra superfície ou dedos para evitar contaminações. Logo em seguida, o material era transportado ao laboratório de Microbiologia da ARIMP, onde eram incubadas durante 48 horas em 37°C. Após a incubação era realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC).

A avaliação do ar foi realizada pela técnica passiva por meio de exposição de placas de Petri de 90 mm de diâmetro de acordo com o sistema 1/1/1 do IMA, ou seja, 1 metro de distância de qualquer obstáculo, 1 metro do piso e por 1 hora (PASQUARELLA; PITZURRA; SAVINO,2000). As coletas foram realizadas no final dos atendimentos clínicos, do período da manhã. Para a avaliação da contagem total de bactérias no ar, foi utilizada agar TSA (Tryptic Soy Agar) e para a avaliação da contaminação por *Staphylococcus aureus* o meio Manitol Salgado. As duas avaliações foram realizadas concomitantemente. Após a coleta as placas foram tampadas e transportadas ao Laboratório de Microbiologia da ARIMP (Área de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia) onde foram incubadas a 37°C por 48 horas e a esse período foi feita a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC).

IDENTIFICAÇÃO

Superfícies – após o crescimento foi realizada a avaliação das características coloniais (colônias cinzento escuras a preto, brilhantes, de tamanho médio, halos transparentes) e estas colônias eram subcultivadas em TSA.

Ar – após o crescimento, colônias douradas com halo amarelo foram, da mesma forma que para as superfícies, subcultivadas em TSA.

Após o crescimento em TSA, para o ar e superfícies, foi realizada coloração de Gram, testes fisiológicos e teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Foram identificados como *Staphylococcus aureus* os cocos Gram-positivos, agrupados em cachos de uva, catalase, coagulase e DNase positivos (anexo A). A contagem total se refere aos demais micro-organismos que cresceram no meio de cultura.

Para a avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos, as amostras foram subcultivadas em (TSA) e encubadas por 24 horas a 37°C. Aproximadamente 3 a 4 colônias foram semeadas em caldo TSB e encubadas a 37 °C até que atingiram a turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala Mac Farland ($1-2 \times 10^8$ UFC/mL) e semeadas confluentemente na superfície do agar Mueller-Hinton. Os isolados foram identificados por métodos convencionais e submetidos à sensibilidade frente aos antimicrobianos de acordo com a metodologia do National Committee for Clinical Laboratory Standards pela técnica de difusão em ágar (CLSI, 2013), utilizando os discos de amoxicilina (30 µg); ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg) 4; ciprofloxacina (5 µg); clindamicina (2 µg); cloranfenicol (30 µg); eritromicina (15 µg); gentamicina (10 µg); oxacilina (1 µg); cefoxitina (30 µg); penicilina (10 µg) rifampicina (5 µg); sulfazotrim (25 µg); tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg) (DME, Brasil). Os isolados foram testados pelo método Polisensidisc 15[®]. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi usado para o controle de qualidade (CQ). Após a incubação a 35° C por 24 horas os diâmetros dos halos formados foram medidos com régua transparente e comparados com os valores de referência na tabela do fabricante. Os resultados para o teste "D" que, quando positivo, determina o fenótipo (MLS_{bi}) e produção de beta-lactamase foram lidos juntamente com o teste de disco de fusão.

O teste "D" é realizado colocando o disco de eritromicina a uma distância de 20 mm (borda a borda) do disco de clindamicina. A eritromicina presente no disco difunde-se pelo meio de cultura e induz a resistência a macrolídeos, lincosamida e estreptogramina do grupo B (MLS_{bi}), resultando em um achatamento do halo de inibição, adjacente ao disco de clindamicina, com a forma da letra D (efeito D).

Para o teste de Beta-Lactamase é observado a formação de um halo contínuo ao redor do disco de penicilina. Essa resistência está relacionada à produção da enzima predominantemente extracelular denominada penicilinase ou beta-lactamase.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise dos resultados obtidos foi realizada por frequência simples.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os meses de abril e julho foram realizadas quatro coletas de ar, uma em cada clínica estudada (4L1, 4L2, 4T, PSO) sendo que, em cada coleta foram utilizados dois meios de cultura: agar TSA (Tryptic Soy Agar) para contagem total de bactérias e agar Manitol Salgado, para isolamento de *Staphylococcus aureus*. A contagem total média observada nos ambientes avaliados foi de 9,25 UFC/placa, sendo que, 4L2 foi o que mostrou contaminação total média mais intensa (14 UFC/placa), seguida pelo PSO (12 UFC/placa), clínica de cirurgia do bloco 4T (5 UFC/placa) e clínica 4L1 (4 UFC/placa).

Quando da avaliação da presença de *Staphylococcus aureus* no ar, o micro-organismo foi isolado em todos os ambientes testados, exceto no PSO. A densidade média de contaminação do ar pelo indicador foi de 3,3 UFC/placa. Outros micro-organismos detectados no ar foram compatíveis com bactérias da microbiota normal da pele humana e da própria microbiota do ar.

A coleta passiva do ar é realizada com placas de 90 mm de diâmetro contendo meio de cultura de acordo com o esquema 1/1/1; que se refere ao posicionamento da placa a 1m do solo ou barreiras, como paredes e mobiliário, pelo período de 1 hora. Estima-se que a média de deposição possa chegar a 0,46 cm/s. É considerado um método não quantitativo relacionado à forma e tamanho da partícula, bem como a movimentação de ar nas regiões de coleta (PASQUARELLA, et al. 2000).

Entre as vantagens da coleta passiva do ar, listadas na literatura estão: reflete a carga microbiana próxima ao sítio operatório (FRIBERG, 1999) de baixo custo, o dispositivo de coleta é estéril, a amostragem pode ser realizada em vários locais ao mesmo tempo, resultados reprodutíveis, não ocorre movimentação do ar (PASQUARELLA, et al. 2000).

De acordo com a revisão realizada por Pasquarella (2000) na tentativa de padronizar a coleta passiva do ar ("Index of Microbial Air Contamination") a contaminação máxima aceitável varia de acordo com o risco de transmissão de infecção que o ambiente oferece (Anexo B). Neste sentido podemos classificar os ambientes cirúrgicos (4T e PSO) como de risco elevado para a transmissão de infecções aceitando

até 25 UFC/placa. Já as unidades clínicas (4L1 e 4L2) poderiam ser considerados como de risco médio aceitando até 50 UFC/placa.

Em nossa avaliação as contagens totais estão dentro dos parâmetros recomendados. Entretanto, não consideram micro-organismos indicadores como *Staphylococcus aureus* em 3 dos 4 ambientes avaliados, sendo que em um dos isolados na clínica do 4T é resistente à oxacilina.

Nas coletas de superfície foi observada uma contaminação média de 9,19 UFC/placa. As superfícies analisadas do PSO obtiveram maior contaminação (17,15 UFC/placa), seguida pela clínica 4L1 (9,76 UFC/placa), 4L2 (6,61UFC/placa) e 4T (3,23 UFC/placa). *Staphylococcus aureus* foi isolado em todas as clínicas sendo encontrado numa média de 11,78 UFC/placa.

O ambiente clínico da mesma forma que o ambiente hospitalar, é fonte de vários micro-organismos patogênicos e não patogênicos, que podem permanecer por períodos prolongados de tempo em várias superfícies que, a partir do contato pode colonizar as mãos de profissionais de saúde (FALAGAS et al, 2011).

Embora alguns estudos defendam que a ocorrência de infecções hospitalares não esteja relacionada aos níveis de contaminação ambiental (MAKI et al, 1982), existe uma dinâmica de contaminação que tem início com o paciente colonizado ou infectado que elimina o micro-organismo contaminando o ar e este, por sedimentação contamina as superfícies. Estas, por sua vez, atuam como reservatório para a contaminação das mãos, permitindo que o micro-organismo chegue a um novo hospedeiro. De acordo com Dancer (2004) as contagens de indicadores, como *Staphylococcus aureus*, não devem exceder 1 UFC/cm² e, para mesófilos totais deve ser inferior a 5 UFC/cm². Este escore deve ser aplicado a superfícies frequentemente tocadas pelas mãos e que representam um risco para a dinâmica de transmissão microbiana.

Nesta avaliação foram utilizados placas Rodac[®] para a amostragem com área de 23,7 cm² que resultaria em uma contaminação total superficial média < 1 UFC/cm² (Ver Materiais e Métodos, Cálculo de UFC/cm²). Esta proporção se repete para todas as clínicas avaliadas significando que as contagens totais estão abaixo do parâmetro utilizado até mesmo para micro-organismos indicadores. Em apenas uma das avaliações para a contaminação por *Staphylococcus aureus* na clínica 4L1, na coleta realizada a

partir da cadeira odontológica o crescimento médio excedeu o parâmetro proposto para os indicadores (28 UFC/ sítio / 1,2 UFC/cm²) (Tabelas 1 e 2).

Embora o estudo das superfícies (N=48) demonstre que quase a totalidade (97,9%) está dentro dos parâmetros preconizados pela literatura, Dancer (2004) em sua proposta para um padrão microbiológico de higiene hospitalar alerta que a identificação de qualquer quantidade de micro-organismos indicadores deve despertar a atenção no sentido de rever as práticas de higiene e desinfecção do ambiente. Para Duckro et al. (2005) e Dubberke et al. (2007) a contaminação das superfícies poderia ser reduzida com a higienização das mãos antes e após contato com os pacientes. Todavia, a adesão dos profissionais de saúde a esta prática tem sido frequentemente apontada com índices inferiores a 50%, nos estabelecimentos de saúde em geral.

Tabela 1. Contaminação média por micro-organismos mesófilos totais isolados a partir das superfícies avaliadas nas clínicas do hospital odontológico da UFU, em unidades formadoras de colônia por sítio estudado (UFC/sítio).

Local avaliado	Superfícies avaliadas quanto à contagem total média (UFC/sítio)* (UFC/cm²)**			
	Equipo	Refletor	Cadeira	Mocho
4L1	7,3 / 0,31	1,0 / 0,04	34,0 / 1,43	0/0
4L2	2,4 / 0,10	21,6 / 0,91	3,0 / 0,13	1,3 / 0,05
4T	5,6 / 0,24	0,6 / 0,028	2,3 / 0,10	1,6 / 0,07
PSO	25,3 / 1,06	3,6 / 7,9	43,0 / 1,81	0/0
TOTAL	40,6 / 1,71	27,0 / 1,14	82,3 / 3,47	3 / 0,13

Fonte: Próprio autor

*A contaminação total média equivale à soma das contaminações das três coletas realizadas a partir do mesmo sítio (equipo, refletor, cadeira e mocho) para cada um dos locais avaliados, dividida por três.

** Equivale à contagem total média dividida pela área da placa (23,7 cm²).

Tabela 2. Contaminação por *Staphylococcus aureus* isolados a partir das superfícies avaliadas nas clínicas do hospital odontológico da UFU, em unidades formadoras de colônia por sítio estudado (UFU/sítio).

Local avaliado	Superfícies avaliadas quanto à contagem média de <i>S. aureus</i> (UFC/sítio) * / (UFC/cm ²)**			
	Equipo	Refletor	Cadeira	Mocho
4L1	6,0 / 0,25	1,0 / 0,04	28,0 / 1,20	0/0
4L2	2,3 / 0,1	0/0	1,0 / 0,04	1,3 / 0,06
4T	0/0	0/0	0/0	0,3 / 0,01
PSO	7,0 / 0,30	0/0	0/0	0/0
TOTAL	15,3 / 0,64	1,0 / 0,04	29,0 / 1,22	1,6 / 0,07

Fonte: Próprio autor

* A contaminação média por *S. aureus* equivale à soma das contagens de *S. aureus* das três coletas realizadas a partir do mesmo sítio (equipo, refletor, cadeira e mocho) para cada um dos locais avaliados, dividida por três.

** Equivale à contagem média de *S. aureus* dividida pela área da placa (23,7 cm²)

Apenas os isolados de *Staphylococcus aureus* foram testados quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos. A frequência de isolados resistentes foi mais elevada para a ampicilina (61%), seguida pela penicilina (55,5%), eritromicina (27,7%), tetraciclina e oxacilina (11%) (Tabela 3). Um dos isolados a partir de um equipo da clínica 4L1 foi positivo para a produção de beta-lactamase e outro, também isolado de equipo, desta vez no PSO, foi detectado como fenótipo MLS_{bi} pelo teste de duplo disco.

As primeiras cepas de *Staphylococcus aureus* circulantes quando da introdução da penicilina nos anos 1940 respondiam bem à terapia por este antimicrobiano. O isolamento de microrganismos resistentes a esta droga ocorreu pela primeira vez em 1944 (CHAMBERS, 2001), inicialmente a partir de ambientes hospitalares e, mais tarde, disseminou-se na comunidade atingindo até 70% de isolados resistentes no fim da década de 60. A resistência à penicilina se deve à habilidade de algumas cepas de *Staphylococcus aureus* produzirem uma enzima, a beta-lactamase, que inativa o anel beta-lactâmico.

A metecilina (oxacilina), um beta-lactâmico semi-sintético resistente à ação de beta-lactamase, foi introduzida para uso terapêutico em 1961 e, em menos de um ano foram isoladas as primeiras cepas resistentes, *Staphylococcus aureus* resistentes à

oxacilina / meticilina (ORSA / MRSA). MRSA emergiu na comunidade aproximadamente no fim da década de 80 (CHAMBERS, 2001). Atualmente são distintas cepas hospitalares e comunitárias, sendo as primeiras as que, em maior frequência, apresentam uma característica de multirresistência, atribuída a micro-organismos que apresentam resistência a mais de três princípios ativos (NAVES, 2011).

Em nosso estudo foram dois isolados de MRSA sendo um multirresistente, obtido a partir do ar da clínica de cirurgia do bloco 4T. O outro isolado, não-multirresistente, foi obtido a partir de um equipo na clínica 4L1, em contagem de 12 UFC/sítio que corresponde a 0,5 UFC/cm².

TABELA 3. Resistência frente aos antimicrobianos testados por método de disco-difusão para os 18 isolados de *Staphylococcus aureus*

Antimicrobianos	AMP ¹	CIP ²	CLI ³	CLO ⁴	ERI ⁵	OXA ⁶	CFO ⁷	PEN ⁸	TET ⁹
N de isolados resistentes	11	1	1	2	5	2	1	10	2
%	61	5,5	5,5	11	27,7	11	5,5	55,5	11

Fonte: Próprio autor

1. Ampicilina (10 µg) 2. Ciprofloxacina (5 µg) 3. Clindamicina (2 µg) 4. Cloranfenicol (30 µg) 5. Eritromicina (15 µg) 6. Oxacilina (1 µg) 7. Cefoxitina (30 µg) 8. Penicilina (10 µg) 9. Tetraciclina (30 µg)

Embora apenas um isolado obtido a partir do equipo do PSO tenha apresentado perfil compatível com o fenótipo MLS_{bi}, em dois dos dezoito isolados (11%) foi observada a concomitância entre a resistência intermediária à eritromicina e sensibilidade à clindamicina. Além do fenótipo MLS_{bi}, outros quatro isolados (22,2%) apresentaram resistência à eritromicina e sensibilidade a clindamicina.

CONCLUSÕES

Todos os ambientes pesquisados apresentaram contaminação aerógena, com diversidade média inferior ao máximo recomendado para ambientes com elevado (25 UFC/placa) e médio risco para transmissão de infecções (50 UFC/placa).

Staphylococcus aureus foi isolado a partir de 75% dos ambientes pesquisados quanto à contaminação aerógena com 25 % de resistência à oxacilina, representada por uma amostra na clínica do bloco 4T.

A contaminação de superfícies por bactérias mesófilas totais esteve abaixo do recomendado. Entretanto a presença de contaminação por *Staphylococcus aureus* foi positiva em 29,2% dos sítios coletados.

Mesmo que a presença deste indicador tenha permanecido abaixo do máximo aceitável para indicadores, MRSA correspondeu a 11,1% dos isolados, sendo um a partir do ar com característica de multirresistência e outro, não-multirresistente a partir de um equipo.

As contagens totais são sempre esperadas no ar e nas superfícies. Entretanto, a presença de *Staphylococcus aureus*, mesmo dentro dos limites aceitáveis pelos guias de higiene hospitalar, devem ser um alerta para a monitorização da limpeza e desinfecção dos ambientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. 1. ed. Salvador, 2004.
- 2- BOYCE J.M, MARSA. **Patients: proven methods to treat colonization and infection**. *J Hosp Infec*, 2001.
- 3- BRASIL, Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Edição Comemorativa para o IX Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar 1. ed. 2004.
- 4- BURNETT. G. W.; SCHERP, H.W.; SCHUSTER, G.S. **Microbiologia Oral Doenças Infecciosas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, . p. 399-409 1978.
- 5- CHAMBERS HF. **The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?** *Emerg Infect Dis* 2001; **7**: 178–82.
- 6- DANCER, S.J. **How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals**. *Journal of Hospital Infection*, v.56, n.1, p.10-15, jan. 2004.
- 7- DANTAS, E.H.M. **Ar condicionado, vilão ou aliado? Uma revisão crítica**. *Revista Brasindoor*, v.2, n. 9, p. 4- 9, 1998.
- 8- DISCACCIATI, J.A.C.; SANDER, H.H.; CASTILHO, L.S.; RESENDE, V.L.S. **Verificação da dispersão de respingos durante o trabalho do cirurgião-dentista**, 1998.
- 9- DUBBERKE E.R., RESKE K.A., NOBLE-WANG J., THOMPSON A., KILLGOREG, MAYFIELD J., et al. **Prevalence of clostridium difficile environmental contamination and strain variability in multiple healthy care facilities**. *Am J Infect Control*. ;35(5):315-8 2007.

- 10- DUCKRO A.M., BLOM D.W., LYLE E.A., WEISNTEIN R.A., HAYDEN M.K..**Transfer of vancomycin-resistant enterococci via healthy care worker hands.** Arch Inter Med. ;165(3):302-7 2005.

- 11-FALAGAS M.E, THOMAIDIS P.C.,KOTSANTIS L.K., SGOUROS K., SAMONIS, G, KARAGEORGOPOULOS D.E. **Airborne hydrogen peroxide for disinfection of the hospital environment and infection control: a systematic review.** Journal of Hospital Infection 78 (2011) 171-177.

- 12-FIEBELKORN KR, CRAWFORD SA, MCELMEEL ML, JORGENSEN JH. **Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci.** J Clin Microbiol. 2003;41(10):4740-4.

- 13-FRIBERG B, FRIBERG S, BURMAN LG. **Inconsistent correlation between aerobic bacterial surface and air counts in operating rooms with ultra clean laminar air flows: proposal of a new bacteriological standard surface contamination.** J Hosp Infect 1999; 42: 287–293.

- 14- GIZAW, Z.; GEBREHIWOT, M.; YENEW, C. **High bacterial load of indoor air in hospital wards: the case of University of Gondar teaching hospital, Northwest Ethiopia.** Multidisciplinary Respiratory Medicine, 2016.

- 15- KIRBY, W.M.M. **Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci.** Science, 99:452-453, 1944.

- 16- KONEMAN, E. *et al.* **Diagnóstico microbiológico.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 11, parte 1. 2001.

- 17- KÖNÖNEM, E. *et al.* **Phylogenetic characterization and proposal of a new pigmented species to the genus *Prevotella*: *Prevotella pallens* sp. nov.** Int. J Syst. Bacteriol., 48: 47-51, 1998.

- 18- LANCETTE, G.A., AND R.W. BENNETT. **Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins.** In: Downes, F.P., and K. Ito (ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA; 2001.

- 19- MAKI, D.G.; ALVARADO, C.J.; HASSEMER, C.A.; ZILZ, M.A. **Relation of the inanimate hospital environment to endemic nosocomial infection.** England Journal of Medicine, v.307, n.25, p.1562-1566, dec. 1982.

- 20- MERMEL LA, FARR BM, SHERERTZ RJ et al. **Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections.** *J Intraven Nurs*; 24(3):180-205. 7. Stein GE, Craig WA. Tigecycline; 2001.

- 21- MORAES, B.A. DE; CRAVO, C.A.N.; LOUREIRO, M.M.; SOLARI, C.A.; ASENSI, M.D. **Epidemiological analysis of bacterial strains involved in hospital infection in a university hospital from Brazil.** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.42, n.4, p. 201-207, jul.-aug. 2000.

- 22- NAVES, K.S.C. **Ocorrência de SSCmec tipo IV de *Staphylococcus aureus* em infecções comunitárias e hospitalares em um hospital universitário de Minas Gerais.** 2011. 101f. Tese (Doutorado em Microbiologia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

- 23- PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; SAVINO, A. **The index of microbial air contamination.** *Journal of Hospital Infection*, v.46, n.4, p.241-256, dec. 2000.

- 24- PASQUARELLA, C.; PITZURRA, O.; HERREN, T.; POLETTI, L.; SAVINO, A. **Lack of influence of body exhaust gowns on aerobic bacterial surface counts in a mixedventilation operating theatre. A study of 62 hip arthroplasties.** *Journal of Hospital Infection*, v.54, n.1, p.2-9, may. 2003.

- 25- ROSA, E., MELO LISBOA, H.M. **Dispersão de aerossóis no sistema de tratamento de esgotos por lodo ativado na ETE Florianópolis – SC.** *Revista de estudos ambientais*, v.7, n.1. p.26-38. Blumenau: Editora da FURB, 2005. ISSN 1516-3911, jan/jul 2005

- 26- SHIOMORI, T.; MIYAMOTO, H.; MAKISHIMA, K.; YOSHIDA, M.; FUJIYOSHI, T.; UDAKA, T.; INABA, T. & HIRAKI, N. **Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination.** *Journal of Hospital Infection*, v.50, n.1, p.30-35, jan. 2002.

- 27- WAN GH, LU SC, TSAI YH. **Polymerase Chain reaction used for the detection of airborne *Mycobacterium tuberculosis* in health care settings.** *Am J Infect Control* 2004; 32: 17-22.

ANEXO A – COLORAÇÃO DE GRAM E TESTES FISIOLÓGICOS

1 COLORAÇÃO DE GRAM

- Sempre utilizar cultivos novos (24 horas)

Procedimento:

- A partir de um esfregaço delgado, homogêneo, seco e fixado em chama, cobrir por 1 minuto, com solução cristal violeta fenicada (alguns autores sugerem violeta genciana ou violeta de metila e ainda, a lavagem da lâmina com água, para melhorar a visualização. Todavia, esta etapa é desnecessária).
- Escorrer o corante e cobrir por 1 minuto o esfregaço com solução de lugol (solução iodo-iodetada), alguns autores sugerem a lavagem com água, nesta etapa. Realmente, a retirada do excesso de corante melhora a observação, contudo, esta etapa também não é obrigatória.
- Descorar com álcool absoluto (± 30 segundos)*.
- Lavar com água (obrigatoriamente e imediatamente).
- Cobrir com safranina ou fucsina de Ziehl diluída a 1/10 (± 30 segundos). Alguns autores sugerem que ao corar organismos anaeróbios a opção seja a carbol-fucsina, que permite melhor penetração.
- Lavar com água (obrigatoriamente) e secar.
- Observar em objetiva de imersão (100 X).

Fonte: Adaptado de Koneman (2008)

2 PROVA DA CATALASE

Procedimento:

- Fazer uma emulsão de uma alçada de uma colônia típica de *S. aureus* e cultivada por 24hrs em uma gota de água oxigenada (peróxido de hidrogênio 3%), sobre uma lâmina de vidro.
- Observar a ocorrência de borbulhamento imediato (teste positivo) ou não (teste negativo).

Fonte: Adaptado de Koneman (2008)

3 TESTE DE CAGULASE EM TUBO

Procedimento:

- Emulsionar um pequeno inóculo da colônia cultivadas por 24hrs do microrganismo em um tubo contendo 0,5 ml de plasma sanguíneo (próprio para prova de coagulase).
- Incubar a 35° C durante 4 horas e comprovar a formação de coágulo. Se não forem observados coágulos, incubar à temperatura ambiente e ler novamente após 18 horas.

Importante: A menor coagulação é considerada prova positiva. Devem ser feitas leituras periódicas (a cada 2 horas), pois algumas espécies também produzem estafiloquinase, que ativa o fibrinogênio gerando plasmina que dissolve a rede de fibrina (coágulo formado). Aconselhamos, também, utilizar sempre um teste-controle positivo com uma amostra de *S. aureus* previamente conhecida, como controle da qualidade do teste.

Controle de qualidade :

- Positivo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Fonte: Adaptado de Koneman (2008)

4 TESTE DE DNase

Procedimentos:

- Usar cultivo recente de 24hrs e fazer um inóculo denso de forma circular em uma pequena parte do meio para DNase;
- Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18 - 24 h. (A placa pode ser inoculada com várias cepas);
- Decorrido o período de incubação, no momento da leitura colocar o HCl 1N de maneira que cubra todas as colônias, aguardar 30 segundos.
- Formação de halo transparente identifica amostra positiva, como ocorre com *Staphylococcus aureus*;
- Ausência de formação de halo transparente identifica amostra negativa.

Fonte: Adaptado de Koneman (2008)

ANEXO B – NÍVEIS MÁXIMOS ACEITÁVEIS DE CONTAMINAÇÃO EM AMBIENTES DE RISCO

Table XI *Maximum acceptable levels of index of microbial air contamination (IMA) in environments at risk*

Environment at risk	Maximum acceptable level of IMA
Very high*	5
High†	25
Medium‡	50
Low§	75

* Ultra clean rooms: reverse isolation; operating room for joint replacement; some procedures of the electronics and pharmaceutical industries;

† Clean room: conventional operating theatres, continuous care units, dialysis unit;

‡ Day hospital, hospital wards, food industries, kitchens;

§ Facilities.

Fonte: Pasquarella (2000)