

IONE CORRÊA
Enfermeira

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE DOIS
DESINFETANTES HOSPITALARES

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, na Área de Microbiologia e Imunologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

PIRACICABA - SP
1988

Aos meus pais, Antônio Nelson e
Regina, pelo que sou e por
tudo que me ensinaram.

Ao meu irmão, Antônio Nelson, pe
lo apoio e amor que sempre
me proporcionou.

Ao Prof. Dr. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING, professor do Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela orientação, apoio, amizade e elevado sentido de responsabilidade científica que procurou transmitir.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq) que favoreceu a realização do Curso, através da concessão de bolsa de estudos;

à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental da FOP-UNICAMP, pelos ensinamentos recebidos;

à Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Piracicaba, pela cobertura e apoio na coleta de dados;

ao Prof. Dr. JOSÉ MERZEL, Departamento de Morfologia da FOP-UNICAMP, pela amizade e apoio durante o curso de pós-graduação;

à Profª Drª SONIA VIEIRA, Departamento de Odontologia Social da FOP-UNICAMP, pelo apoio e revisão da estatística;

aos Profs. Drs. AVELINO RODRIGUES DE OLIVEIRA, Departamento de Bioquímica da UNICAMP; GILBERTI MORENO, Departamento de Microbiologia da Universidade de Botucatu; SUI MUI TSAI SAITO, Departamento de Microbiologia do Solo CENA; DARCY MARTINS DA SILVA, Departamento de Bioquímica do CENA, pelas valiosas sugestões e críticas;

à Profª Drª MARIA DE LOURDES T.B. WIENDL, Departamento de Economia Rural e Sociologia da ESALQ-CENA, pelo incentivo, apoio e revisão da redação;

ao Prof. ANTÔNIO NELSON CORRÊIA FILHO, pelas valiosas sugestões e críticas no desenvolvimento desta pesquisa;

aos colegas do curso de pós-graduação, pelo apoio, compreensão e estímulo durante o decorrer do curso;

às enfermeiras da Santa Casa de Misericórdia de Piracicaba,

ANA TERESA MALUF GOLDSCHMINT, AIDÉ DOLORES RIO PADULA e
MARCIA MARIA FUZA LUNETTA, pela colaboração e apoio;

aos funcionários do Setor de Microbiologia e Imunologia, AN-
DERSON LAERTE TEIXEIRA, BENEDITA TEREZINHA MOREIRA, MA-
RIA DE LOURDES GASPAR CORRÊA, pela participação e colabo-
ração na realização desta pesquisa;

à Sra. MARIA APARECIDA NALIN, secretária do Depto. de Morfolo-
gia da FOP-UNICAMP, pelos serviços datilográficos;

à Sra. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLLIANI, bibliotecária da
FOP-UNICAMP, pela revisão da bibliografia citada;

ao Sr. ADÁRIO CONGIANI, fotógrafo da FOP-UNICAMP, pelos servi-
ços fotográficos;

ao EDIVALDO ORENHA, pelo carinho, compreensão e colaboração
na realização desta pesquisa;

à Enfermeira MARIA DA CONCEIÇÃO APPARECIDA PERCH, pela amiza-
de e presença constante;

e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram pa-
ra a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO -----	1
2. REVISÃO DA LITERATURA -----	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
A - MATERIAIS -----	13
B - MÉTODOS -----	16
B.1 - TESTES DE SENSIBILIDADE DOS DESINFETANTES--	16
4. RESULTADOS -----	19
4.1 - DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE COLÔNIAS MICROBIA- NAS DA SUPERFÍCIE DO PISO -----	19
4.2 - TIPOS DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DA SUPERFÍ- CIE DO PISO -----	35
4.3 - DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE BACTERIANA "IN VITRO" -----	35
5. DISCUSSÃO -----	42
6. CONCLUSÕES -----	48
7. RESUMO -----	50
8. SUMMARY -----	52
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	54
APÊNDICE -----	62

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos, a atenção dos pesquisadores e profissionais da área de saúde tem sido direcionada à medicina preventiva que, na realidade, demanda menos tempo de trabalho, é menos onerosa e, principalmente, proporciona maior benefício à população. Segundo MEIRELLES NETO & GONTIJO FILHO (1983), a preocupação com este assunto é evidente quando se acredita que ao enfermeiro cabe grande parte da responsabilidade sobre o conhecimento e utilização dos germicidas, não só porque deve zelar pela segurança do cliente e da equipe de saúde, como também saber que a utilização racional dos mesmos tem influência na redução dos custos diretos e intangíveis da infecção hospitalar. Os produtos comerciais utilizados na desinfecção das superfícies duras do ambiente hospitalar têm sido estudados sob diferentes aspectos, no que diz respeito às suas propriedades físicas, químicas, toxicológicas e antimicrobianas.

O ambiente hospitalar apresenta flora microbiana complexa, tanto sob o ponto de vista qualitativo como quantitativo e essa complexidade fica perfeitamente caracterizada pelo elevado número de microrganismos detectados nas superfícies duras, compreendendo os mais diversos tipos morfológicos de microrganismos (HALL & HARNETT, 1964; MIZUMO & PRYOR,

1966). ALYIFFE et alii (1966), relataram que os patógenos comumente presentes no piso incluem *Staphylococcus aureus* e Bacilos gram negativos, principalmente *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto PELCZAR (1980) e PEREIRA (1984), afirma que o tipo de contaminação varia muito com a população, atividade e a característica do hospital.

A mensuração da quantidade da contaminação bacteriana sobre superfícies em hospitais como o piso, paredes, mesas e pias tem sido difícil, já que a prática de limpeza está baseada na aparência e tradição, esquecendo que a flora bacteriana do piso pode tornar-se corpos aéreos; as roupas de cama podem, ocasionalmente, tocar no piso, ou mesmo o paciente entrar em contato direto com o piso através dos pés, contaminando a roupa de cama, conforme citado por HALL & HARNETT (1964), MIZUMO & PRYOR (1966).

A Comissão de Controle de Infecção hospitalar, (CCIH) apoiada nos preceitos de assepsia e reconhecimento do potencial patogênico dos microrganismos do ambiente hospitalar, recomenda avaliação e controle dos agentes antimicrobianos, principalmente nas áreas críticas, visto que os antisépticos e desinfetantes são escolhidos em função do preço e de avaliações bacteriológicas inadequadas, ou de preferências individuais subjetivas, pois as empresas não declaram a composição quantitativa de seus produtos (ZANON, 1973a). ZANON et alii (1975) relataram que a negligência em relação à escolha de germicidas envolve sérios riscos pela possibilidade do emprego do produto com atividade não satisfatória ou mesmo nula, e ainda, devido ao risco de contaminação bacteriana e conseqüente transformação dos mesmos em veículos de infecção no hospital.

Baseado na literatura disponível, verifica-se que ainda existem muitos pontos a serem esclarecidos em relação à escolha e ação antimicrobiana de desinfetantes hospitalares. Em vista desta problemática este trabalho se propõe: a) Determinar quantitativa e qualitativamente os microrganismos existentes na superfície do piso do setor de Pediatria, com e sem a aplicação dos desinfetantes fenólico e amônio quaternário; b) Avaliar "in vitro" a ação antimicrobiana desses desinfetantes sobre os microrganismos obtidos nas amostragens, particularmente aqueles associados à infecção hospitalar, comparadas ao de cepas padronizadas do mesmo microrganismo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O homem tem se preocupado, desde os primórdios da história, com os problemas decorrentes da ação de microrganismos causadores de várias doenças e da decomposição da matéria orgânica, preconizando métodos empíricos no sentido de combater esses problemas. O emprego do fogo, da lavagem das mãos e da fervura faziam parte dos conselhos dos sábios e inclusive do ritual religioso, como descrito por BARRETO (1982), HUGO (1982), BLOCK (1983). Segundo estes mesmos autores, os processos químicos eram utilizados tanto para a preservação de alimentos como para eliminar odores desagradáveis decorrentes da putrefação.

Com o desenvolvimento da química, nos séculos XVIII e XIX, e a suposição de que esses invisíveis eram responsáveis por doenças e maus odores, alguns pesquisadores do século passado comprovaram a utilidade de algumas substâncias químicas na diminuição daqueles efeitos indesejáveis. Em 1844 SEMMELWEIS, trabalhou com cloro no combate da febre puerperal, obtendo bom resultado, sendo, posteriormente, despedido do hospital em que trabalhava pela "mania" de desinfecção. LE MAIR (1830) testou um extrato de alcatrão, comprovando sua utilidade em procedimentos pré e pós-cirúrgico. Posteriormente

te, em 1860, LISTER iniciou a utilização do ácido fênico na antissepsia cirúrgica, tornando-se famoso por esse pioneirismo, conforme citado por BLOCK (1983).

A idéia de utilizar produtos químicos na antissepsia e desinfecção fez com que BULCHOLTZ (1875) iniciasse a prática da comprovação "in vitro" dessas substâncias, determinando o que se chama de Concentração Mínima Inibitória para os fenóis, cresóis, ácido salicílico e ácido benzóico. HUGO (1982) relatou, ainda, que o cloreto de mercúrio vinha sendo usado como antissépticos nos experimentos de KOCK em 1881. Nesses experimentos KOCK, mergulhava um tecido de seda contaminado na solução de cloreto de mercúrio e depois contava o número de bactérias remanescentes, sendo este o primeiro experimento de contagens de bactérias "in vitro". No clássico trabalho realizado por KRONIG & PAUL (1897), verificou-se que bactérias imersas numa solução desinfetante não morrem todas ao mesmo tempo e que a taxa de letalidade é dependente da concentração do desinfetante e da temperatura. Estes pesquisadores verificaram, também, que a matéria orgânica interfere na eficácia dos produtos, bem como no tamanho do inóculo, sugerindo que a metodologia precisava ser melhor padronizada. BRUNETT (1978), analisando os fatores que afetam a taxa de mortalidade dos microrganismos e o efeito da matéria orgânica, chegou à mesma conclusão descrita por KRONIG & PAUL (1897). Essas observações serviram de base para que CLICK & MARTIN (1908) modificassem o método de coeficiente fenólico proposto por RIDGAL & WALTER (1903), introduzindo a avaliação da atividade antimicrobiana na presença de matéria orgânica, como citado por ZANON (1975).

Segundo BEUMER (1981); ALTERTHUM (1985) & MAURER (1985), os desinfetantes químicos são escolhidos quando os processos de esterilização não são viáveis, necessários, ou quando a desinfecção pelo calor é impossível e a limpeza mecânica é insuficiente. Contudo, devemos salientar que a desinfecção é um processo que reduz a certo nível de letalidade microbiana, não atingindo o nível de esterilização, pois microbiologicamente nesta ocorre a destruição de todos os microrganismos.

Conforme observações de TIMENETSKY (1987), a comprovação da eficácia de desinfetantes químicos não pode ser tão ampla e claramente demonstrada como antigamente, princi-

palmente porque as regras para a manutenção de higiene e saúde são variadas e a comprovação da eficácia de um composto químico em alguns ambientes torna-se mais difícil.

Desinfetantes, antissépticos e saneantes - independentemente de sua composição - são produtos passíveis de alterações durante seu preparo, armazenamento e uso, modificando, conseqüentemente, o efeito antimicrobiano desejado. A matéria orgânica, quando combinada com alguns desses compostos, pode alterar parcial ou totalmente sua eficácia. O efeito da diluição em água também varia de um composto para outro; a temperatura e o tempo de contato do desinfetante com o microrganismo altera sua eficácia; a luz e o pH influenciam na reatividade dos desinfetantes sobre as estruturas ou metabolismo bacteriano, conforme demonstram BEAN (1967); BASSETT (1971); SCHIESSER & WIEST (1979); DEATH & COATES (1979); GELINAS & GOULERT (1982); GELINAS & GOULERT (1983) e GELINAS et alii (1984). Estes fatores, somados ou não, podem existir em intensidades diferentes, comprometendo a eficácia da desinfecção e até chegar a atuar como agente infectante.

Observações feitas por AYLIFFE & COLLINS (1966); ZANON (1973) e MAURER (1985), demonstraram que tanto no Brasil como no exterior - a nível hospitalar como em outros setores ligados à saúde - os desinfetantes são escolhidos em função de critérios individuais arbitrários baseados na influência do preço, cheiro, cor e marcas, pois as empresas não declaram a composição quantitativa de seus produtos. Segundo ZANON et alii (1975) a negligência em relação à escolha de germicidas envolve sérios riscos pela possibilidade do emprego de produtos antimicrobianos não satisfatórios ou mesmo sem ação sobre os microrganismos, e ainda, devido ao risco de contaminação bacteriana do desinfetante e conseqüente transformação dos mesmos em veículos de infecção hospitalar. Existem referências na literatura nacional sobre desinfetantes hospitalares não satisfatórios e numerosa bibliografia internacional sobre infecções graves e mesmo fatais, devido a contaminação de desinfetantes e antissépticos, como observado por ZANON & NOGUEIRA DE MEDEIROS (1973) e ZANON et alii (1975).

Os trabalhos de AYLIFFE et alii (1966) mostram que a flora microbiana do piso hospitalar existe em função do sedimento de bactérias, pelo contato com sapatos, rodas de ma

cas e outros objetos sólidos e, ocasionalmente, pela queda de urina, pús e escarro. Estes mesmos pesquisadores relataram, ainda, que os patógenos comumente presentes no piso incluem *Staphylococcus aureus* e os bacilos gram negativos, principalmente, *Pseudomonas aeruginosa*. PELCZAR (1980), realizando amostragens bacterianas do ar em estabelecimentos civis e militares, afirma que o tipo de infecção varia muito com a população e a atividade do meio ambiente, o que, também, foi demonstrado por PEREIRA (1984) que chegou a mesma conclusão descrita por aquele autor, sugerindo, ainda, que a flora bacteriana está diretamente ligada à característica do hospital.

LISTKY & LISTKY (1968) e SANFORD (1970), demonstraram que a limpeza e a desinfecção se constitui numa atividade importante para reduzir o número de bactérias sobre superfície, tais como: assepsia da pele, materiais cirúrgicos, equipamentos, piso, paredes e a mobília. A evidência deste fato faz com que o sucesso no processo de desinfecção de superfície se apóie na remoção dos microrganismos dessa área, conseqüentemente, valorizando o controle antimicrobiano no programa de saneamento ambiental. Também a AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION (1974) descreve que o comitê de contaminação microbiana de superfície tem estudado este problema com outros comitês de profissionais de saúde, chegando a um consenso de que as amostragens do ambiente hospitalar é um ponto importante na investigação de infecções cruzadas. Assim, BRUMMER (1976), afirmou que a amostragem microbiológica do ambiente pode ser parte essencial na detecção e enumeração de microrganismos, no controle de contaminação ambiental, equiparando-se aos riscos de contaminação através de instrumental.

Todavia, a desigual dispersão de sujeiras sobre a superfície, citada por KUNDSIN & WALTER (1960); STUART (1963) e KEENAM et alii (1965) indica que há necessidade de selecionar locais para amostragens. As observações feitas por EDMUNDS (1970), SMYLIE et alii (1971) e HUTZLER (1973), mostraram que a grande movimentação de doentes contaminados - em particular crianças -, espalham microrganismos por toda a enfermaria. TOP (1970) relatou que existe um constante tráfico de microrganismo entre o homem e o ambiente, conseqüentemente, todos esses microrganismos estão presentes por 24 horas de permanência em um paciente, na roupa de cama, pisos, paredes, pias e até mes

mo no ar do quarto. Conforme podemos observar em PELCZAR (1980), os atos domésticos de arrumar as camas aumentam, em muito, os microrganismos existentes no ar circulante sendo que a sobrevivência desses microrganismos, por tempo relativamente longo nas poeiras, cria importantes riscos, particularmente em áreas hospitalares, o que, sem dúvida, contribui para o desenvolvimento de doenças infecciosas, doenças essas causadas ou agravadas pela vida hospitalar. Assim, AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION (1970); WEDUM et alii (1972); HUTZLER (1973) e ALEXANDRE (1974) afirmam que, para ocorrer uma infecção, é necessário que os microrganismos estejam em dose infectante, e em locais susceptíveis do hospedeiro.

As pesquisas de ZANON et alii (1975) demonstraram que o hospital concentra e reúne intimamente os pacientes mais susceptíveis e os microrganismos mais resistentes. Tais aspectos têm sido abordados por muitos pesquisadores, os quais demonstram que os pacientes representam risco de infecção hospitalar maior que as pessoas sadias pois, geralmente, são mais debilitados pelo tipo de doença ou outro fator predisponente. Por outro lado, devido a inexistência de um desinfetante igualmente eficiente para os diferentes microrganismos patogênicos, recomenda-se que se utilize diferentes formulações de acordo com a área a ser desinfetada, sendo que, em relação ao grau de contaminação, o hospital é dividido em áreas críticas, semi-críticas e não críticas, como citado no Diário Oficial de 28/07/1983 (Brasil, Leis, Decretos, etc.); MORAES et alii (1983) e ZANON et alii (1975).

Em vista de toda problemática de contaminação de superfície do piso hospitalar várias técnicas têm sido desenvolvidas para a realização de amostragens como por exemplo, a técnica de "swab rinse", descrita por MANHEIMER & YBANEZ (1917). No entanto, ZANON (1975), afirmou que houve várias modificações desta técnica - "swab rinse" - devido o seu baixo valor qualitativo, requerendo uso de considerável equipamento e pessoal tecnicamente treinado, o que dificulta o uso da técnica. Assim, WALTER & HUCKER (1941) analisando alguns dos trabalhos em relação a técnica de "swab rinse", propuseram o modelo da placa de contato ocasionalmente após o método agar disco utilizado por HAMMER & OLSON (1931) ter sido desenvolvido. Posteriormente, trabalhos utilizando o mesmo método, rea-

lizado por ANGELOTTI & FOTER (1958), demonstraram que esse método pode ser usado com o objetivo de se avaliar quantitativamente o número de bactérias sobre a superfície. Simultaneamente ANGELOTTI et alii (1958), demonstraram que o "agar contact method" produz maior precisão que o "swab rinse" quando se tem uma superfície com baixa densidade microbiana.

Para superar as desvantagens de algumas técnicas de amostragens de superfície, HALL & HARNETT (1964), propuseram um método de amostragens de superfície plana, utilizando placas de Petri tipo "Rodac plate", com meio de cultura "Lethen agar" (neutralizador para desinfetantes residuais), e desde então vários estudos têm sido feitos com tais placas com o objetivo de se ter uma idéia qualitativa e quantitativa do nível de contaminação microbiana sobre pisos e paredes, como descrito por RHODE (1962), GABLE (1966), FAVERO et alii (1968) e AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION (1974). Assim, a placa de Petri tipo "Rodac plate" tem sido usada sucessivamente por numerosos investigadores no campo da amostragem de superfície, devido a sua eficiência e praticabilidade, conforme descrito por BOND et alii (1963).

GABLE (1966) e FAVERO (1968), realizando amostragens de superfície, através da técnica de "Rodac plate", antes e após o procedimento de limpeza, demonstraram que a aplicação do desinfetante reduz o número dos microrganismos sobre a superfície. No entanto, GABLE (1966), mostrou que o efeito da desinfecção está na dependência do tipo de desinfetante ou germicida usado e do tipo de superfície utilizada na amostragem.

As amostragens em 17 hospitais, feitas por PRYOR et alii (1967), com o objetivo de avaliar os índices microbianos, através de contagens microbiológicas sobre superfície do piso, ao lado da cama de pacientes e ao lado das mesas de cabeceira, antes e após o procedimento de limpeza, demonstraram que há necessidade de aperfeiçoamento das técnicas de limpeza, sugerindo que 10 colônias bacterianas por placa parece ser o nível aceitável de desinfecção no ambiente hospitalar.

Apesar dos compostos ativos dos produtos desinfetantes possuírem concentrações pré-determinadas, consideradas como adequadas para o seu uso nos diferentes ambientes, é fundamental que além da análise química, seja feita a comprova-

ção laboratorial da atividade antimicrobiana do produto, conforme demonstra CROSHAW (1981), GONTIJO & ROMÃO (1986). O método BAUER & KIRBY (1889), utilizado para testes de antibiogramas, tem sido aplicado para triagem de desinfetantes, na determinação da atividade bacteriostática, através da obtenção da Concentração Inibitória Mínima (CIM) ou, apenas, na comprovação da inibição do desenvolvimento de bactérias e fungos em meio sólido, como descrito por KIM (1972), ASBURY (1983), CREMIEUX & FLEURETTE (1983).

Segundo REYBROUCK (1975), os métodos de avaliação de desinfetantes podem ser agrupados em três estágios ou níveis: a) Avaliar a atividade do desinfetante "in vitro", através de testes de suspensão bacteriana ou fúngica, utilizando-se ou não carreadores, oferecendo resultados qualitativos e quantitativos; b) Simular as condições reais de uso dos desinfetantes e avaliar, portanto, o estado de desinfecção. Neste estágio, os experimentos ainda são "in vitro", utilizando fragmentos de objetos previamente contaminados e, em seguida, tratados com as soluções testadas, para posterior recuperação de sobreviventes; c) Os experimentos são de campo - em um hospital, por exemplo -, onde se coloca um monitor microbiológico qualitativo ou quantitativo, dependendo da finalidade do experimento. Neste estágio os métodos são menos conhecidos e de difícil padronização, dada a variedade das condições de cada ambiente. A literatura mostra ainda que a necessidade de neutralizar os resíduos de desinfetantes tem sido reconhecida há muitos anos por vários pesquisadores. WILLIAMS et alii (1966), ZANON & NOGUEIRA DE MEDEIROS (1973), afirmaram que, para se obter resultados dignos de confiança na avaliação de desinfetantes, é necessário que o agente germicida seja removido completamente da superfície exposta. Segundo BRUMMER (1976) a presença de quantidades residuais de desinfetantes químicos pode produzir uma condição bacteriostática que resulta na supressão do crescimento de microrganismos viáveis.

ZANON (1975) demonstrou que a inexistência de critérios oficiais, que definam métodos bacteriológicos padronizados para a comprovação da atividade germicida, tuberculicida, esporicida, fungicida e viricida, no processo de licenciamento de desinfetantes, acarreta resultados conflitantes entre as análises realizadas por laboratórios federais de con-

trole e aquelas realizadas por laboratórios estaduais credenciados. No entanto, OLIVEIRA (1985) afirma que as diferenças metodológicas de avaliação microbiológicas, padronizadas ou não, na avaliação dos resultados e interpretação - além da diversidade de compostos ativos - associados ou não, dificulta a padronização de uma metodologia que seja universalmente aceita. GARDNER (1977) relata que, além das discordâncias encontradas na avaliação da atividade germicida, decorrentes geralmente, do método utilizado, a resistência das bactérias à ação dos agentes químicos pode variar consideravelmente entre amostras da mesma espécie e diferentes culturas da mesma amostra. Este mesmo autor relata, ainda, que a resistência microbiana pode ser influenciada por vários fatores e procedimentos rotineiros na manutenção das culturas, sugerindo que as análises de desinfetantes devem ser realizadas em condições padronizadas.

WILLIAMS et alii (1966) enfatizaram sobre os aspectos qualitativos dos sistemas germicidas estudados mencionando certas limitações ao uso generalizado de amônio quaternário como desinfetante, indicando que esses germicidas devem ser utilizados de preferência na indústria de alimentos, sendo questionável o seu emprego na área hospitalar. Sua inclusão no sistema germicida de produtos destinados à desinfecção de ambientes é contra indicada, levando-se em conta que os mesmos são inativados pelo sabão comum e por outros compostos tensoativos aniônicos, além de serem absorvidos e fixados em panos de limpeza e por superfície porosa, como demonstra também SPAULDING (1971). Assim KUNSDIN & WALTER (1958) demonstraram que a imersão de um pedaço de gaze em solução de amônio quaternário reduz a concentração da mesma de 1:1000 a 1:5000. Por outro lado, MEIRELLES NETO & CONTIJO FILHO (1983) afirmam ainda, que a grande maioria dos desinfetantes, incluindo os catiônicos, combinam-se as proteínas presentes no sangue, plasma, urina, fezes, etc., resultando numa redução de concentração do princípio ativo desses compostos e, conseqüentemente, na ação tóxica dos mesmos sobre os microrganismos.

Segundo WILLIAMS et alii (1966) *Pseudomonas aeruginosa* é capaz de crescer em películas de rolhas de cortiça contendo soluções aquosas de amônio quaternário, fazendo referências a infecções graves e mesmo fatais por essa via de con

taminação, como por exemplo, uma epidemia por *Pseudomonas*, descrita por PLOTRIN & AUSTRIAN (1958), devido ao uso de "Swab" conservados em solução aquosa de amônio quaternário, utilizadas para a desinfecção de pele antes da inserção de cânulas intravenosas.

A análise "in vitro" dos desinfetantes, associada a constatação de baixo potencial de desinfecção dos germicidas comerciais que têm sido utilizados, levaram TORRES et alii (1970) a realizar testes bacteriológicos, com o objetivo de verificar a eficiência do obanol 516 como bactericida, esporicida e a sua toxicidade. Os métodos utilizados foram agar cup plate e inoculação na água de beber. Ao final da análise concluíram que este produto é altamente bactericida e atóxico. Da mesma forma, ZANON (1973b), avaliando qualitativamente a atividade pseudomonicida e tuberculicida de alguns desinfetantes hospitalares fenólicos e não fenólicos, demonstrou que apenas o "tercyl" foi eficaz, na menor diluição licenciada para uso hospitalar, enquanto que os desinfetantes fenólicos, nas maiores diluições, não apresentam atividade pseudomonicida e tuberculicida durante 15 a 30 minutos de contato.

Investigando a capacidade bactericida de substâncias desinfetantes recomendadas pelo fabricante, conforme o tempo de ação, MILLER et alii (1973) testou três substâncias desinfetantes (cidex, zephiram e metafen), utilizando solução esteril de 0,85% NaCl como controle contra *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* e *Staphylococcus aureus*, demonstrando que o tempo de contato dos microrganismos com a solução de desinfetante é um dado importante para a sobrevivência das referidas espécies. MIMICA et alii (1982) chegaram a mesma conclusão descrita por esse autor, testando a atividade de um desinfetante (markofen) e um esterilizante (markoform), contra várias cepas de bactérias isoladas de infecções hospitalares, usando concentrações recomendadas nos rótulos, depois de 10 minutos e 12 horas de contato, mostrando também, que há adequada atividade bactericida apenas quando testado o produto sem diluição.

Já ZANON (1973b), sugere que os desinfetantes para uso hospitalar, odontológico ou veterinário, devem ter sua eficácia comprovada periodicamente, testando-se na diluição recomendada pelo fabricante, depois de 10 minutos de contato

à 20°C. Posteriormente, ZANON & ANDRADE (1982), estudando a ação de três formulações de produtos à base de amônio quaternário em várias concentrações durante 15 minutos, frente as cepas de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sp*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp*, sugerem que esses produtos constituem alternativas para a limpeza, desodorização e desinfecção do ambiente devido sua baixa toxicidade oral e cutânea. Por outro lado CABRERA et alii (1982), analisando o efeito bactericida de 29 desinfetantes frente 10 cepas de diversos microrganismos na presença de matéria orgânica aos 1, 2 e 3 segundos de contato, concluíram que, para esse período, nenhum desinfetante foi favorável. MEIRELLES NETO & CONTIJO FILHO (1983), estudando associações de compostos de amônio quaternário contra microbactérias em escarros de tuberculosos, evidenciaram baixa atividade microbicida dos produtos testados a 0,4% após 30 minutos de contato, o que vem indicar a necessidade de avaliação constante da atividade antimicrobiana dos desinfetantes hospitalares.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A - MATERIAIS

A.1 - DESINFETANTES

Os produtos comerciais analisados foram dois desinfetantes, comumente utilizados na desinfecção de superfícies duras do ambiente hospitalar: duplofen (fenólico) e duocid (amônio quaternário). Tabela 1.

A.2 - MICRORGANISMO PADRÃO

Na comprovação da ação antimicrobiana "in vitro" de ambos os desinfetantes, utilizou-se amostras de *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, provenientes do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, padronizadas para análise de desinfetantes, segundo BRUMMER (1976).

A.3 - LOCAL DE AMOSTRAGENS DA SUPERFÍCIE

As amostragens foram realizadas no Hospital Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Piracicaba, no setor

TABELA 1 - Composição química dos desinfetantes, nomes comerciais e suas concentrações recomendadas para desinfecção de superfícies duras no ambiente hospitalar.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA	NOME COMERCIAL	CONCENTRAÇÃO DE USO
Cloreto Alquil Dimetil Benzil Amônio 2,856 g Cloreto de Dialquil Metil Benzil Amônio 0,544 g Cloreto de Alquil Dimetil Etil Benzil Amônio 3,4 g	Duocid	3%
Orto Benzil Para Clorofenol 5,5 g Para Terciário Butil Fenol 4,714 g	Duplofen	3%

de pediatria.

A.4 - AMOSTRAGEM DA SUPERFÍCIE

A metodologia empregada nas amostragens da superfície do piso, baseou-se naquela descrita por HALL & HARNETT (1964), utilizando-se placas de Petri tipo "Rodac plate (Falcon)", com meio de cultura Lethen agar (apêndice), para neutralizar a ação residual de desinfetantes, VESLEY & MICHAELSEN (1964); BRUMMER (1976). Placas contendo 16 ml do meio de cultura Lethen agar, foram usadas para a coleta de material de superfície, sob o berço, com ou sem criança, pressionando-se levemente sobre o piso, nos horários previamente determinados para amostragens: antes da desinfecção e após 0, 2, 4, 8, 16 e 24 horas da aplicação dos desinfetantes testados.

A coleta de material da superfície estendeu-se pelo período de 12 meses, durante os quais às segundas-feiras foram realizadas as amostragens em 5 locais pré-determinados.

Nos 4 primeiros meses (janeiro-abril) a amostragem foi realizada sem o procedimento de limpeza. Nos quatro meses seguintes (maio-agosto), repetiu-se o procedimento após a desinfecção com o desinfetante fenólico e nos quatro meses subsequentes (setembro-dezembro) a desinfecção foi realizada com o desinfetante amônio quaternário. Após a coleta das amostras, todas as placas foram incubadas à 37°C durante 24 horas e posteriormente, fez-se contagens das colônias, através de um contador mecânico (Phoenix MOD EC 550 A). A observação dos aspectos das colônias sobre a superfície do agar, propriedades tintoriais, hemólise em agar sangue, prova da catalase e prova da coagulase (apêndice), foram realizadas com o objetivo de isolar os microrganismos patogênicos associados à infecção hospitalar.

B - MÉTODOS

B.1 - TESTES DE SENSIBILIDADE DOS DESINFETANTES

B.1.1 - Difusão em Gel de Agar

Os diferentes microrganismos *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus* coagulase positivo foram cultivados em "Trypticase Soy Broth" (apêndice), previamente distribuídos em tubos de ensaio. Decorrido o período de incubação adequado, as suspensões bacterianas foram homogeneizadas através de um agitador de tubos (Marca Phoenix Mod At 56), durante um min. Posteriormente, a turvação do crescimento bacteriano foi comparada com a turbidez padrão da solução de sulfato de bário, tubo nº 3 da escala de "Mc Farland" (BIER, 1980), na concentração aproximada de 9×10^8 cels/ml. Após ajustada a turbidez da suspensão bacteriana com a turbidez padrão, o material foi semeado na superfície do meio de cultura "Muller Hinton" (apêndice), com auxílio de "Swab", de modo a se obter um crescimento confluyente. Deixou-se as placas durante 30 minutos a temperatura ambiente e colocou-se os discos de papel de filtro, com dimensões semelhantes às utilizadas nos testes de antibiograma, contendo 0,1 ml de solução de desinfetante; como controle, usou-se discos contendo 0,1 ml de solução salina. Após permanecer 20 minutos em repouso a temperatura ambiente, as placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas e em seguida procedeu-se a leitura dos resultados tendo como parâmetro a presença ou ausência de halos de inibição. Nos casos positivos foi feita a mensuração do diâmetro desse halo, utilizando-se para tanto uma régua milimetrada e uma adequada fonte luminosa. As etapas técnicas descritas acima, desde a estocagem das amostras microbianas até a incubação do material, estão esquematizadas na Figura 1.

Paralelamente a cada experimento foram realizados dois controles: um para testar as condições bacteriológicas dos discos de papel de filtro e outro para verificar a viabilidade dos microrganismos testados. Esses controles foram feitos em placas de Petri, contendo o mesmo meio de cultura, onde eram colocados os discos equidistantes, e na outra placa, foram semeadas as amostras oriundas das suspensões

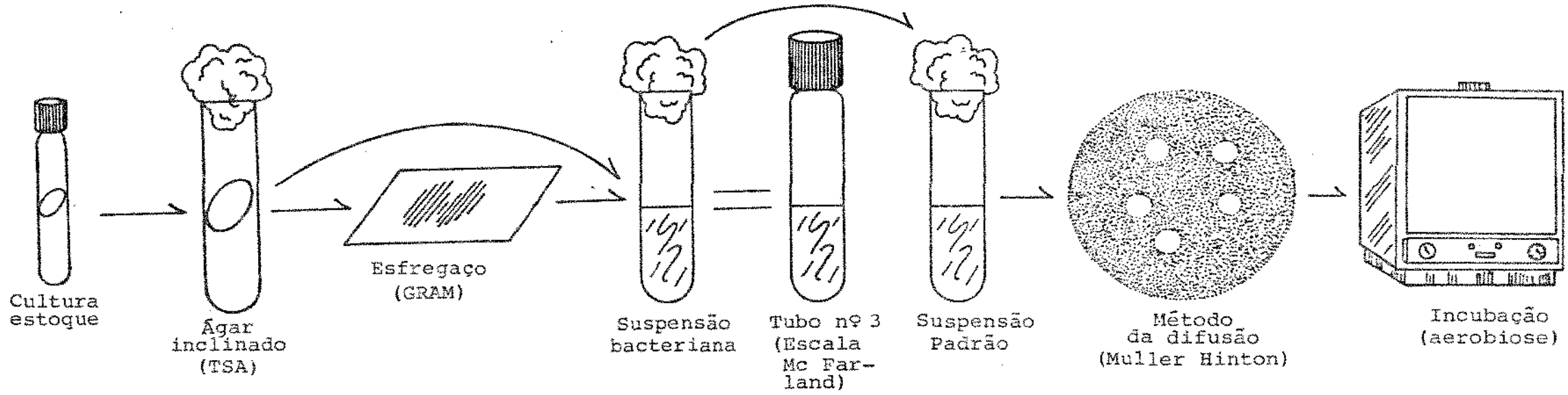


FIGURA 1: Esquematização das etapas técnicas da atividade antimicrobiana dos desinfetantes hospitalares.

bacterianas originais.

B.1.2 - Teste de Diluição dos Desinfetantes

O método de diluição é uma modificação do "Yanis dilution method", descrito por LITSKY & LITSKY (1968). Cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus coagulase positivo* foram repicadas em 5 ml de TSB e incubadas durante 24 horas a 37°C, resultando cultivos com 10⁶ cels/ml. Misturou-se 0,2 ml do cultivo de cada cepa a 1 ml de soro humano (utilizado como matéria orgânica) e ambos foram adicionados a 4 ml de cada desinfetante. Após agitação manual durante 1 minuto os tubos foram deixados à temperatura ambiente durante 5min, 10min, 15min, 30min, 2h, 4h, 8h, 16h e 24 h e novamente agitados durante 1 min. Uma aliquota de 1 ml dessa mistura foi semeada em placas de "Lethen agar" e posteriormente incubadas durante 24 horas à 37°C. Após a incubação foram feitas contagens das colônias através de um contador mecânico (Phoenix Mod EC 550 A).

Como controle realizou-se testes na ausência de matéria orgânica e com solução salina a 0,85%.

Cada prova foi realizada em triplicata.

4. RESULTADOS

4.1 - DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE COLÔNIAS MICROBIANAS DA SUPERFÍCIE DO PISO

A fim de determinar a contaminação microbiana presente na superfície do piso, com e sem a aplicação dos desinfetantes fenólico e amônio quaternário, foram efetuadas amostragens no período de 24 horas, utilizando-se placas tipo "Rodac plate". Essas amostragens foram realizadas em horários pré-determinados, independentemente da rotina do setor de pediatria em relação ao horário de visita médica, paramédica, de familiares, admissões, de altas hospitalares e troca de turnos de pessoal de enfermagem. A rotina de limpeza da superfície do piso é de apenas uma vez ao dia, com início às 7 horas da manhã.

Os resultados relativos ao número de colônias microbianas nas amostragens da superfície do piso, sem o procedimento de limpeza, durante o período de 24 horas estão expressos na tabela 2 e gráfico I. Como se pode verificar durante o período de amostragens, os valores obtidos em média foram inicialmente de 117,5 colônias (7 hs), para a primeira a-

mostragem, observando-se valores crescentes para as contagens sucessivas, sendo 170,25 o número de colônias observadas na contagem final (7 hrs do dia seguinte).

A tabela 3 expressa o percentual mensal do crescimento microbiano, sem o procedimento de limpeza da superfície do piso do setor de pediatria em relação ao horário de coleta, durante quatro meses de amostragens.

Os resultados relativos ao número de colônias microbianas, obtidas nas amostragens da superfície do piso, antes e após a desinfecção de rotina com o desinfetante fenólico, durante o período de 24 horas, estão expressos na tabela 4. Como se pode verificar o número de colônias microbianas em média, antes do procedimento de desinfecção foi de 361,25, obtendo valores decrescentes até 2 horas após a desinfecção, de 203,25 em média. Em relação aos demais horários (4h, 8h, 16h e 24 horas após a desinfecção), valores crescentes foram obtidos nas contagens sucessivas, sendo 335 o número de colônias observadas no final do período da amostragem.

Os resultados relativos ao número de colônias microbianas, obtidas nas amostragens da superfície do piso, antes e após a desinfecção de rotina com o desinfetante amônio quaternário, durante o período de 24 horas, estão expressos na tabela 5. Como se pode verificar o número de colônias microbianas em média antes do procedimento de desinfecção foram de 312, obtendo-se valores decrescentes até 4 horas após a desinfecção, de 119,7. Em relação aos demais horários (4h, 8h, 16h e 24 horas após a desinfecção) valores crescentes foram obtidos nas contagens sucessivas, sendo 149,7 o número de colônias observadas no final do período das amostragens. A comparação do efeito residual de ambos desinfetantes pode ser melhor evidenciada no gráfico 2.

O crescimento microbiano, obtido através da placa de Petri tipo "Rodac plate", utilizada na contagem de colônias, antes e após o procedimento de limpeza, para o desinfetante amônio quaternário e fenólico, estão ilustrados nas figuras 2a a 2c e 3a a 3g, respectivamente.

TABELA 2 - Médias mensais do número de colônias microbianas na amostragem da superfície do piso, sem o procedimento de limpeza, durante o período de 24 horas.

M E S	HORÁRIO DE COLETA DAS AMOSTRAGENS						
	7h	8h	10h	12h	16h	24h	7h
1	100	110	115	116	130	139	144
2	124	135	140	149	164	175	180
3	117	130	130	135	160	170	179
4	129	139	144	149	159	168	178
MÉDIA	117,5	128,5	132,25	137,25	153,25	163	170,25

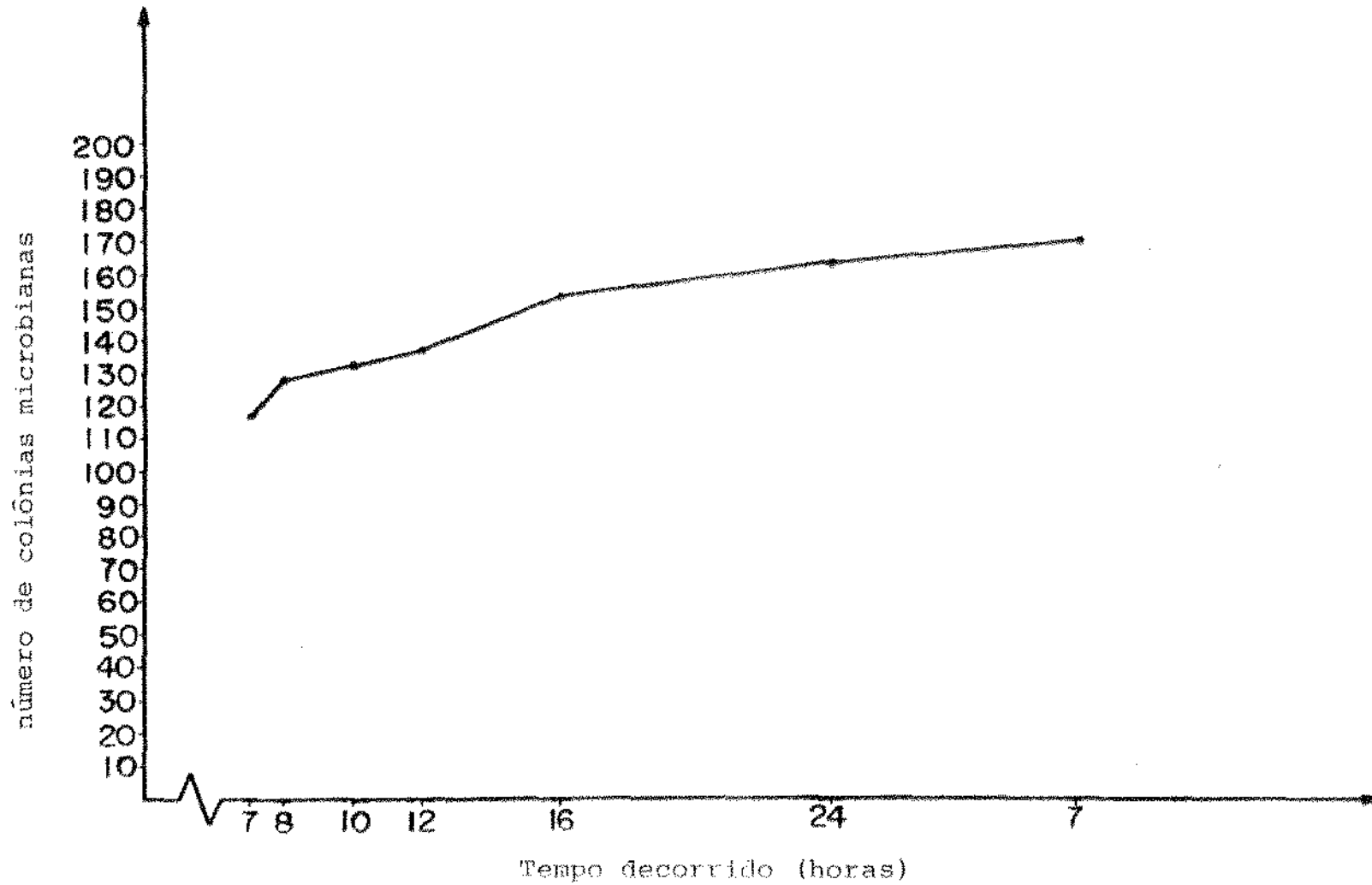


GRÁFICO I - Histograma das médias totais do número de colônias microbianas, obtidas da amostragem da superfície do piso, sem o procedimento de limpeza durante o período de 24 horas.

TABELA 3 - Percentuais mensais do crescimento microbiano, sem o procedimento de limpeza da superfície do piso do setor de pediatria, durante o período de 24 horas.

MÊS	PERÍODO DE AMOSTRAGENS					
	7 às 8h	8 às 10h	10 às 12h	12 às 16h	16 às 24h	24 às 7h
1	10%	2%	0,5%	3%	1%	0,4%
2	9%	2%	3%	2,5%	1%	0,3%
3	11%	0%	2%	5%	1%	1%
4	8%	2%	2%	2%	1%	1%

TABELA 4 - Médias mensais do número de colônias microbianas, obtidas na amostragem da superfície do piso, antes e após a desinfecção de rotina com o desinfetante fenólico, durante o período de 24 horas.

MÊS	ANTES DA LIMPEZA	TEMPO DECORRIDO APÓS LIMPEZA					
		0h	2h	4h	8h	16h	24h
5	301	200	190	200	210	229	250
6	365	200	180	188	220	240	290
7	380	228	212	218	248	300	380
8	399	230	231	235	300	350	420
MÉDIA	361,25	214,50	203,25	210,25	244,5	279,7	335

TABELA 5 - Médias mensais do número de colônias bacterianas, obtidas na amostragem da superfície do piso, antes e após a desinfecção de rotina com o desinfetante amônio quaternário, durante o período de 24 horas.

MÊS	ANTES DA LIMPEZA	TEMPO DECORRIDO APÓS LIMPEZA					
		0h	2h	4h	8h	16h	24h
9	318	148	98	97	109	120	131
10	309	122	118	110	122	130	139
11	320	145	140	132	148	150	158
12	301	149	142	140	153	167	171
MÉDIA	312	141	124,5	119,7	133	141,7	149,7

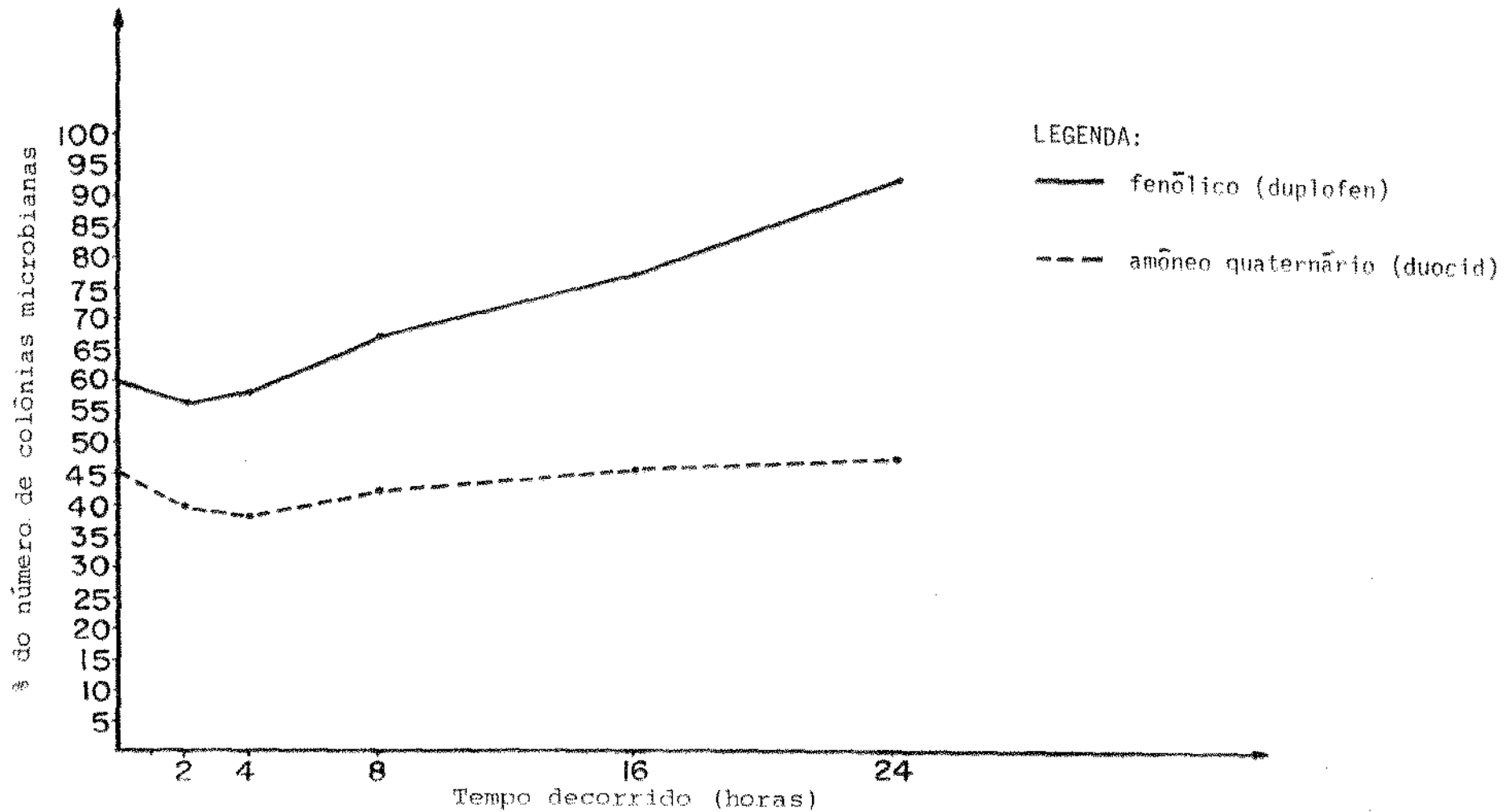


GRÁFICO 2 - Percentual do número de colônias microbianas obtidas na amostragem da superfície do piso, antes e após a desinfecção com o desinfetante amônio quaternário e fenólico.

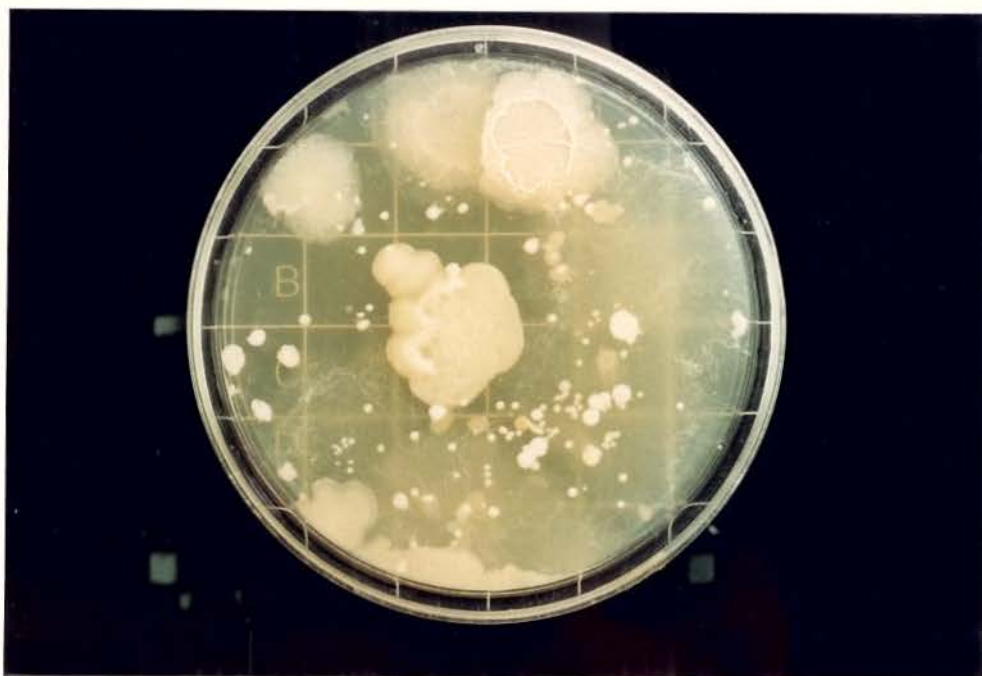


FIGURA 2a - Aspecto das colônias formadas antes do procedimento de desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.



FIGURA 2b - Aspecto das colônias formadas imediatamente após a desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante amônio quaternário, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.

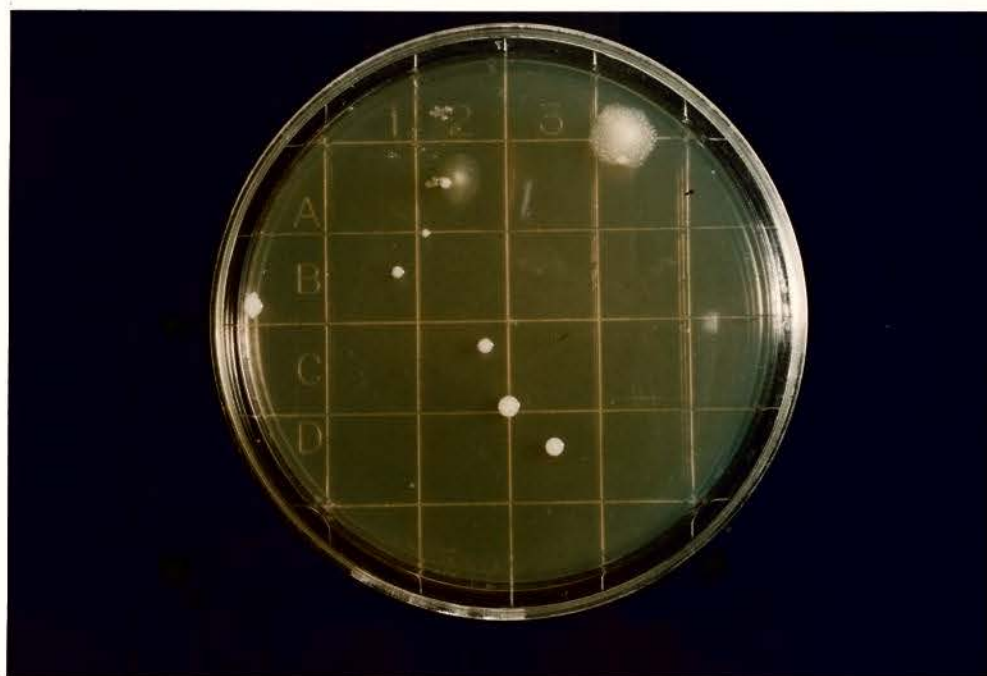


FIGURA 2c - Aspecto das colônias formadas após 2 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante amônio quaternário, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Lethen agar.



FIGURA 2d - Aspecto das colônias formadas após 4 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante amônio quaternário, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Lethen agar.



FIGURA 2e - Aspecto das colônias formadas após 8 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante amônio quaternário, após 24 horas de incubação, a 37°C, em meio Letheen agar.

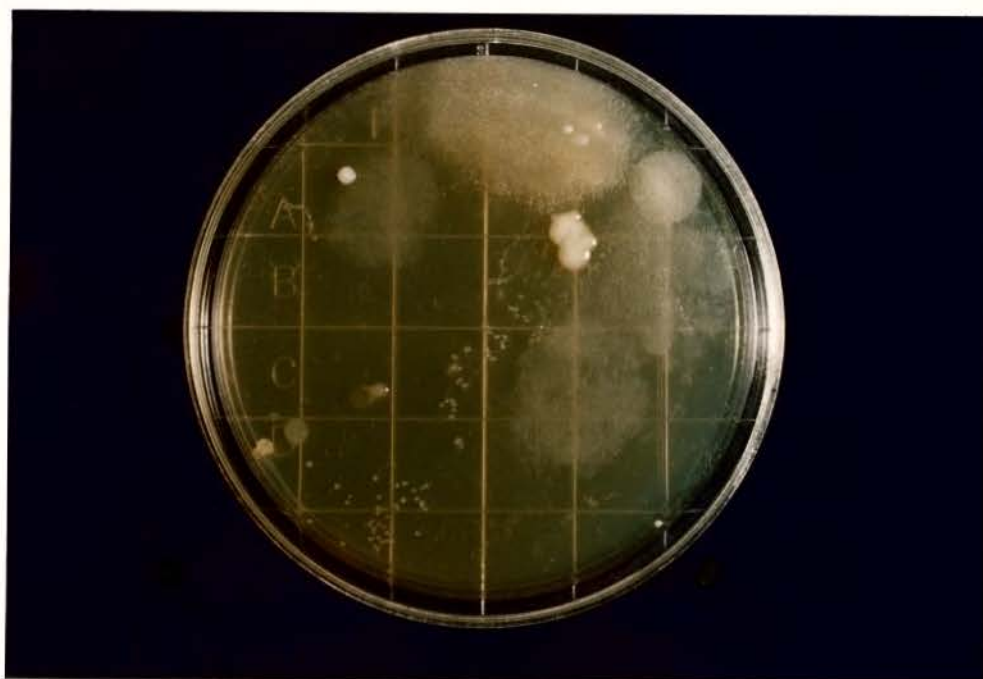


FIGURA 2f - Aspecto das colônias formadas após 16 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante amônio quaternário, após 24 horas de incubação a 37°C, em meio Letheen agar.



FIGURA 2g - Aspecto das colônias formadas após 24 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante amônio quaternário, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.



FIGURA 3a - Aspecto das colônias formadas antes do procedimento de desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.

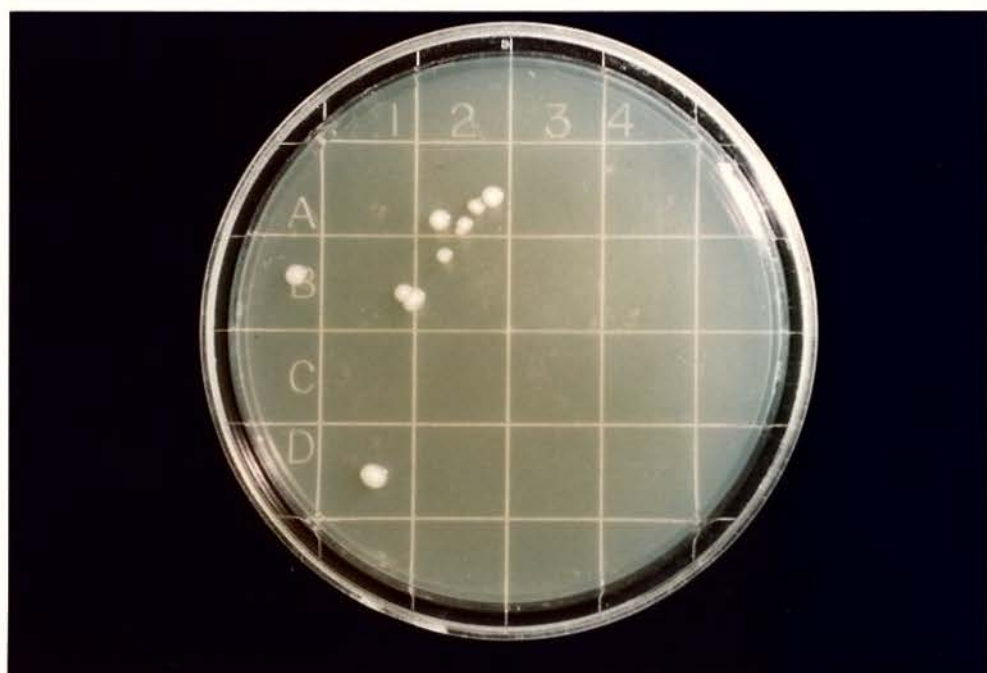


FIGURA 3b - Aspecto das colônias formadas imediatamente após a desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.

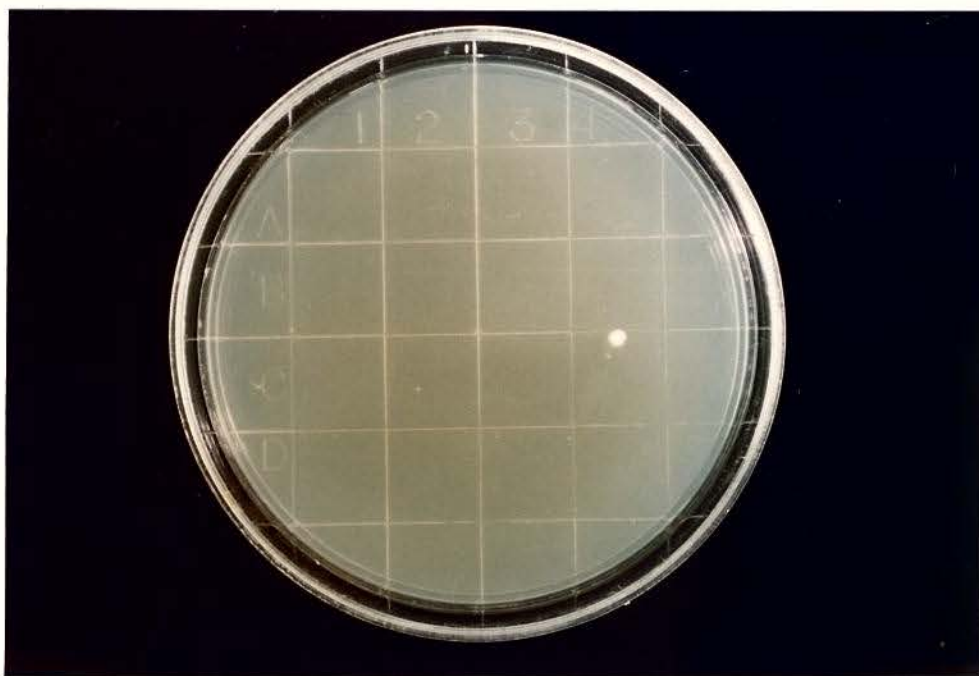


FIGURA 3c - Aspecto das colônias formadas após 2 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.



FIGURA 3d - Aspecto das colônias formadas após 4 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.

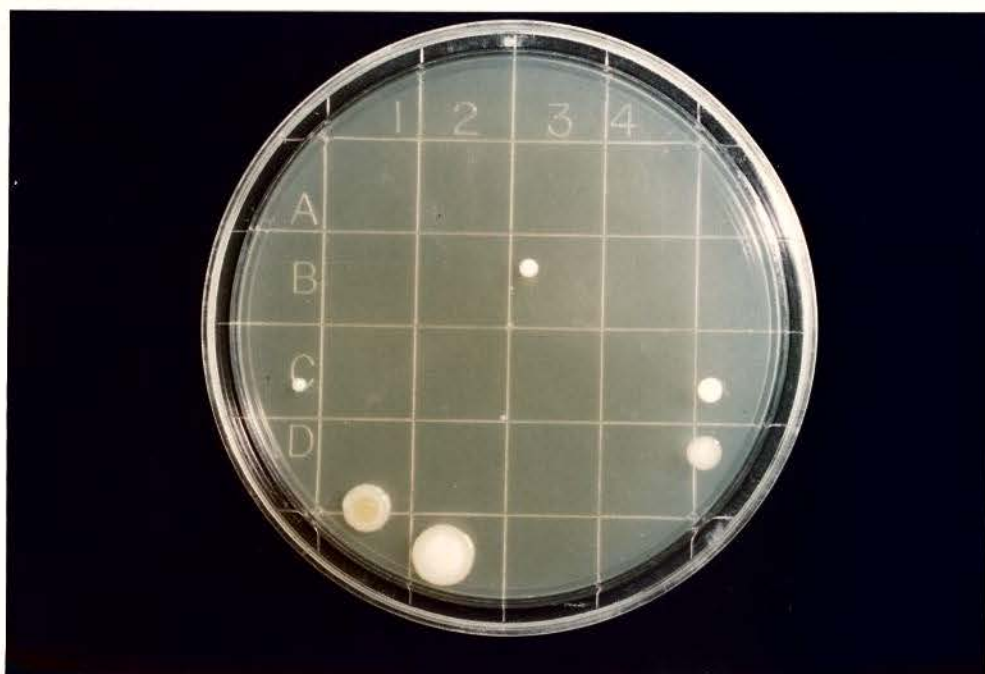


FIGURA 3e - Aspecto das colônias formadas após 8 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Lethen agar.

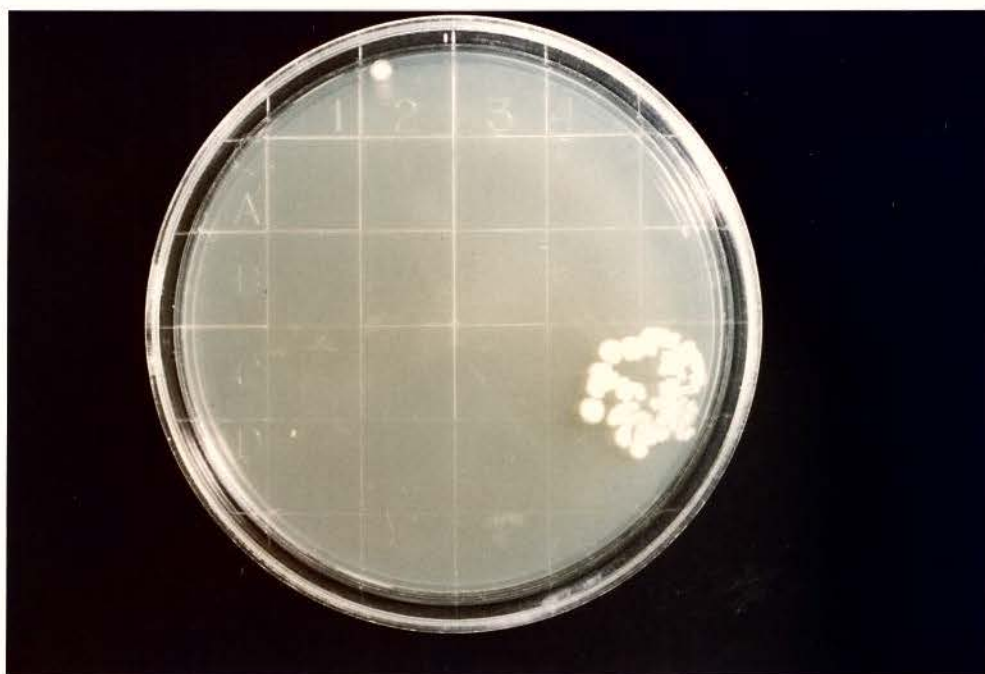


FIGURA 3f - Aspecto das colônias formadas após 16 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Lethen agar.



FIGURA 3g - Aspecto das colônias formadas após 24 horas da desinfecção da superfície do piso do setor de pediatria, com o desinfetante fenólico, após 24 horas de incubação à 37°C, em meio Letheen agar.

4.2 - TIPOS DE MICRORGANISMOS ISOLADOS DA SUPERFÍCIE DO PISO

A observação do aspecto das colônias sobre a superfície do agar, propriedades tintoriais de Gram e provas bioquímicas foram realizadas, com o objetivo de se isolar os microrganismos coletados da superfície do piso do setor de pediatria, antes e após a aplicação dos desinfetantes analisados.

Os resultados da observação dos microrganismos, obtidos antes da aplicação de ambos desinfetantes, mostraram a presença de bacilos esporulados gram positivos, fungos, bactérias do gênero *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus* coagulase negativo. Após o procedimento de desinfecção com os desinfetantes fenólico e amônio quaternário, houve redução em todos os microrganismos, exceto para o *Staphylococcus* coagulase positivo onde não foi constatado nenhuma redução no número de colônias, e para as de *Staphylococcus* coagulase negativo que não apresentaram nenhum crescimento após o uso de ambos desinfetantes, como mostra a tabela 6.

4.3 - DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE BACTERIANA "IN VITRO"

O objetivo destes testes foi verificar a sensibilidade bacteriana aos desinfetantes fenólico e amônio quaternário pelo *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus* coagulase positivo "in vitro".

4.3.1 - TESTES DE DIFUSÃO EM AGAR

Os resultados obtidos dos testes de difusão em agar, usando-se os desinfetantes mencionados com *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus* coagulase positivo mostraram a formação de halos de inibição no meio de cultura Muller Hinton para ambos os desinfetantes testados, como mostra as figuras 4 e 5, respectivamente. A leitura e a mensuração destes halos foram realizados a partir da zona externa do material testado à colônia bacteriana mais próxima, expressa em milímetros. A análise da sensibilidade bacteriana em relação ao desinfetante fenólico apresentou valores de 12 mm para o *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e 13 mm para *Staphylococcus*

TABELA 6 - Tipos de microrganismos isolados da superfície do piso antes e após a desinfecção de rotina com os desinfetantes fenólico (duplofen) e amônio quaternário (duocid).

MICROORGANISMO	SOLUÇÃO DESINFETANTE			
	DUOCID		DUPLOFEN	
	ANTES	DEPOIS	ANTES	DEPOIS
<i>Staphylococcus</i> coagulase +	+	+	+	+
<i>Staphylococcus</i> coagulase -	++	-	++	-
Bacilos esporulados	+++++	+	+++++	+
Fungos	+++++	+	+++++	+

- Nenhuma colônia microbiana
- + Menos que 10 colônias microbianas
- ++ 10 - 20 colônias microbianas
- +++ 20 - 30 colônias microbianas
- ++++ 30 - 40 colônias microbianas
- +++++ 40 - 50 colônias microbianas
- ++++++ Mais que 50 colônias microbianas

coagulase positivo, enquanto que para o desinfetante amônio quaternário os valores obtidos foram de 18 mm para ambos os microrganismos testados. A solução salina a 0,85% (utilizada como controle) não apresentou halo de inibição em nenhum dos testes realizados, como mostra a tabela 7.

4.3.2 - TESTES DE DILUIÇÃO DOS DESINFETANTES

Os resultados obtidos pelo "method dilution use" com o *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus* coagulase positivo, mostraram diferenças de sensibilidade aos desinfetantes, quando testados na presença de matéria orgânica, como ilustra a tabela 8. Nos testes de "method dilution use", em relação ao tempo de contato do desinfetante fenólico, não houve crescimento bacteriano a partir dos 5 minutos.

Testes similares usando-se o desinfetante amônio quaternário, permitiram observar crescimento de *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus* coagulase positivo até 30 minutos de contato. A solução salina a 0,85% (utilizada como controle) apresentou colônias bacterianas em todas as coletas realizadas ao longo do período. Nos testes de "method dilution use" realizados na ausência de matéria orgânica não houve crescimento bacteriano em todos os tempos analisados para ambos os desinfetantes, como ilustra a tabela 8.



FIGURA 4 - Sensibilidade de *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC aos desinfetantes amônio quaternário e fenólico testados: a) duocid, b) duplofen e c) controle (solução salina).



FIGURA 5 - Sensibilidade de *Staphylococcus coagulans* positiva aos desinfetantes amônio quaternário e fenólico testados: a) duocid, b) duplofen e c) controle (solução salina).

TABELA 7 - Média dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição para o *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC e *Staphylococcus coagulase* positivo aos desinfetantes fenólico, amônio quaternário e solução salina (controle).

SOLUÇÃO	MICROORGANISMOS	
	<i>Staphylococcus aureus</i> 6538 ATCC	<i>Staphylococcus coagulase</i>
AMÔNIO QUATERNÁRIO	18	18
FENOL	13	12
SALINA	0	0

TABELA 8 - Número de colônias de *Staphylococcus coagulase positivo* e *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, após o contato com desinfetantes amônio quaternário, fenólico e solução salina, na presença e ausência de matéria orgânica. Multiplicar por 10^6 .

SOLUÇÕES TESTADAS		INTERVALOS DE TEMPO DE CONTATO COM AS SOLUÇÕES DESINFETANTES TESTADAS																	
		5 min		10 min		15 min		30 min		120 min		240 min		480 min		960 min		1440 min	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Amônio Quaternário	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	2	5	2	4	2	4	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenol	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salina		416	418	416	418	400	405	390	405	390	400	400	400	400	400	420	420	450	451

A - *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC
 B - *Staphylococcus coagulase positivo*
 D - Sem matéria orgânica
 E - Com matéria orgânica

5. DISCUSSÃO

O procedimento de desinfecção, apesar de se constituir na remoção parcial de microrganismos da superfície a ser desinfetada, não deixa de ser um recurso importante na remoção destes contaminantes, diminuindo, assim, a sua proliferação no ambiente e, conseqüentemente, o risco de infecção hospitalar. Segundo ZANON et alii (1975), a negligência em relação à escolha de germicidas envolve sérios riscos pela possibilidade do emprego do produto com atividade não satisfatória - ou mesmo nula - e ainda, devido o risco de contaminação bacteriana e, conseqüentemente, transformação dos mesmos em veículos de infecção hospitalar.

A primeira fase desta investigação foi direcionada na simulação das condições mais semelhantes às encontradas no procedimento de rotina hospitalar, realizando-se amostragens através de placas de superfície tipo "Rodac plate" no próprio ambiente do hospital. Os resultados obtidos dessas coletas, com e sem a aplicação dos desinfetantes fenólico e amônio quaternário - analisadas através das médias totais de colônias visíveis - sobre o meio de cultura "Lethen agar" a 37°C durante 24 horas de incubação, mostraram diferenças em relação ao número de colônias microbianas, segundo o horário

de amostragens, quando comparados. Assim, os resultados obtidos das coletas da superfície do piso para quantificar a flora microbiana sem o procedimento de desinfecção, mostrou que ocorre aumento do número de colônias microbianas durante todo decorrer da atividade hospitalar. Esse aumento foi em média de 53 colônias microbianas no período de 24 horas de amostragens. Estes dados confirmam as observações feitas por VESLEY & MICHAELSEN (1964) quanto ao aumento do número de colônias microbianas no decorrer da atividade hospitalar, quando analisada sem a intervenção de produtos químicos, sendo que este aumento de colônias está relacionado com a reprodução e proliferação de microrganismos. Segundo TOP (1970) existe um constante tráfico de microrganismos entre o homem e o ambiente, conseqüentemente, todos esses microrganismos estão presentes por 24 horas de permanência em um paciente, na roupa de cama, pisos, paredes, pias e até mesmo no ar do quarto. Tais fatos demonstram a necessidade de se utilizar meios adequados para interromper a reprodução e, conseqüentemente, a proliferação destes microrganismos, principalmente no ambiente hospitalar, já que ZANON et alii (1975) demonstraram que o hospital concentra e reúne intimamente os pacientes mais susceptíveis e os microrganismos mais resistentes.

Os resultados obtidos nas amostragens da superfície do piso, sem o procedimento de limpeza, mostraram, ainda, que para todos os meses de coleta, o percentual de crescimento microbiano foi maior no período das 7 as 8 horas e das 12 as 16 horas em relação aos demais períodos. Tais dados mostram que o crescimento microbiano foi mais acentuado no período de maior atividade e, conseqüentemente, maior movimentação hospitalar. Esses dados confirmam as observações feitas por EDMUNDS (1970); SMYLIE et alii (1971); HUTZLER (1973); PELCZAR (1980) e PEREIRA (1984), quando afirmam que a contaminação está diretamente relacionada com a movimentação, atividades e o tipo de população do ambiente analisado.

A análise dos resultados referentes ao efeito da aplicação dos desinfetantes fenólico e amônio quaternário sobre superfície do piso, empregados na diluição recomendada para uso, mostrou que houve redução de 41% e 55%, respectivamente, no número de colônias microbianas, imediatamente após o procedimento de desinfecção. Tais resultados, indicam que o

procedimento de desinfecção provoca remoção parcial dos microrganismos existentes sobre a superfície do piso hospitalar. Esses resultados confirmam os citados por HALL & HARNETT (1964); VESLEY & MICHAELSEN (1964); FAVERO (1968); LISTKY & LISTKY (1968); SANFORD (1970) e BRUMMER (1976), quanto à redução dos microrganismos verificada imediatamente após o procedimento de desinfecção, o que mostra, claramente, a necessidade do uso de produtos antimicrobianos no ambiente hospitalar, valorizando, assim, o programa de saneamento ambiental.

Nas investigações, essa redução do número de colônias microbianas manifestou-se até 2h após a aplicação do desinfetante fenólico e até 4h para o desinfetante amônio quaternário. Segundo GABLE (1966), o uso de produtos químicos na desinfecção da superfície, realmente provoca uma redução parcial do número de microrganismos existentes sobre a superfície do piso. Essa redução está diretamente relacionada com o tipo de desinfetante usada e o tipo de superfície analisada. Os resultados obtidos nas amostragens da superfície do piso com os desinfetantes testados demonstraram que ambos possuem período de ação residual muito pequeno quando associados à rotina de limpeza hospitalar, o que sugere intervalos de desinfecção mais curtos, quando tais produtos são utilizados, embora, para a amostragem, considerou-se apenas o tipo de desinfetante testado, pois a coleta foi padronizada em apenas um tipo de piso hospitalar.

Os testes realizados para a observação dos microrganismos, antes da aplicação dos desinfetantes testados, mostraram a presença de bacilos esporulados, fungos, bactérias do gênero *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus* coagulase negativo. Após o uso de ambos os desinfetantes, houve redução no número de colônias microbianas, exceto para o *Staphylococcus* coagulase positivo onde não se constatou nenhuma redução no número de colônias. ZANON & NOGUEIRA DE MEDEIROS (1973), ao rever a literatura médica mundial, coloca o *Staphylococcus aureus* como o principal responsável por infecções hospitalares até a década de sessenta, sendo que nos últimos sete anos, a sua incidência vem decaindo, concomitantemente com um aumento de bastonetes gram positivos. Na presente pesquisa o único microrganismo causador de infecção hospitalar, encontrado nas amostragens realizadas após a aplicação de am-

dos desinfetantes, foi o *Staphylococcus* coagulase positivo, não sendo observado, portanto, bastonetes gram negativos nas coletas. No entanto, PELCZAR (1980) e PEREIRA (1984) concluíram que existe uma variação da flora microbiana do ambiente hospitalar, afirmando que a mesma está relacionada com a especialidade, tipo de população, e a característica do hospital.

Os resultados "in vitro" na comprovação do poder bactericida do desinfetante fenólico (duplofen) e amônio quaternário (duocid) através do teste de difusão em agar e do teste de "dilution use", mostraram diferenças em relação a sua ação antimicrobiana. A análise dos desinfetantes, através da difusão em meio sólido (agar Muller Hinton) quando comparados, demonstraram diferenças com relação aos halos de inibição obtidos. Segundo KIM (1972), nesse modelo de estudo, o efeito antimicrobiano expresso através do diâmetro do halo de inibição, é dependente da toxicidade da substância ao microrganismo testado, e da difusibilidade no meio de cultura teste, com relação a capacidade de sua estrutura química, do tamanho da molécula e da velocidade de liberação da matriz insolúvel a que está ligado. Embora tais fatores estejam presentes, os resultados obtidos com ambos os desinfetantes testados, sugerem uma maior ação bactericida e/ou maior difusão com relação ao desinfetante amônio quaternário (duocid).

Os resultados obtidos no teste de "dilution use" em relação ao tempo de contato na presença e ausência de matéria orgânica (plasma humano), para o desinfetante fenólico, não mostraram crescimento bacteriano em todos os tempos analisados, o que demonstra que a matéria orgânica não é um fator limitante para este composto. Segundo PELCZAR (1980) os compostos fenólicos atuam pela desnaturação das proteínas celulares e pelo dano das membranas celulares. Segundo ZANON & NOGUEIRA DE MEDEIROS (1973), estes compostos fenólicos, quando associados a sabão, ou a detergentes aniônicos, aumentam substancialmente sua atividade antimicrobiana, devido à maior solubilidade e, conseqüentemente, maior penetração na célula bacteriana. Esse mesmo autor, concluiu, ainda, que estes compostos não são inativados pela matéria orgânica e não são voláteis. Assim, estes resultados confirmam as observações feitas por ZANON & NOGUEIRA DE MEDEIROS (1973) em relação a matéria orgânica, sugerindo que estes produtos possuem um importante

efeito na remoção de contaminantes, devendo ser recomendada no procedimento de desinfecção de superfície hospitalar.

Os resultados obtidos nos testes realizados com o desinfetante amônio quaternário na presença de matéria orgânica, apresentam redução no número de colônias microbianas até os 30 minutos de contato. Com relação a tempos de contato mais prolongados, não se observou crescimento bacteriano. É possível que o desinfetante duocid a 3% (amônio quaternário), até os 30 minutos de contato, possua apenas um efeito bacteriostático.

Os resultados obtidos, nos testes levados a efeito na ausência da matéria orgânica, com o desinfetante duocid, não mostraram crescimento de colônias bacterianas em todos os tempos analisados. Os trabalhos de GELINAS & GOULERT (1982) indicam que a grande maioria dos desinfetantes hospitalares catiónicos apresentam inibição parcial ou total quando analisados na presença de matéria orgânica, o que nos permite sugerir que o desinfetante duocid mostra inativação parcial na presença de matéria orgânica, necessitando de um tempo mais prolongado (30 minutos) para atingir o seu poder bactericida. Segundo PELCZAR (1980), o mecanismo de ação dos desinfetantes catiónicos ocorre através da inibição enzimática, pela desnaturação proteica e a lesão da membrana citoplasmática, com vazamento dos constituintes celulares, sendo que estes mecanismos podem estar associados ou não na atuação da inibição e morte das células microbianas. No entanto, FELLEBERG (1980), relata que, apesar de existir um esquema geral uniforme para a estrutura das membranas, a permeabilidade frente a diversas substâncias pode mostrar-se bastante diferente, às vezes específica para cada órgão. A capacidade de absorção - capacidade de aceitação de substâncias externas - dos diferentes órgãos varia. Entretanto, as substâncias maiores que os diâmetros dos poros penetram pelas células com grande dificuldade, sendo que este procedimento está relacionado com a temperatura e a concentração da substância nas vizinhanças da célula envolvida. Entretanto, os mecanismos relacionados com a inibição total ou parcial dos desinfetantes, quando analisados na presença de matéria orgânica, parecem ainda necessitar de maiores investigações.

Os resultados obtidos nas investigações - de modo

geral - tanto "in vivo" como "in vitro", sugerem que a avaliação de desinfetantes hospitalares, deve ser realizada através de dois ou mais testes, levando-se em consideração os fenômenos que possam interferir na ação antibacteriana - tentando assemelhar o mais possível às condições, nas quais estes produtos são utilizados - já que resultados discrepantes podem ser encontrados quando vários métodos são utilizados na avaliação da atividade antimicrobiana desses desinfetantes. Segundo ZANON & NOGUEIRA DE MEDEIROS (1973), há carência em nosso meio de dados sobre o problema, sendo que as fontes de informação disponíveis referem-se, geralmente, à atividade do agente germicida isolado, sem levar em consideração os fenômenos de antagonismo ou de sinergismo, que possam ocorrer em presença dos vários componentes do produto.

6. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados e discutidos, permitiram concluir que:

1) A contagem do número de microrganismos nas amostragens da superfície do piso sem o procedimento de limpeza, aumenta durante o período de 24h. Esse aumento é maior no período de maior atividade do setor de Pediatria;

2) No setor de Pediatria analisado a limpeza deverá ser realizada em dois horários, após às 8 horas e às 16 horas;

3) A contagem do número de microrganismos nas amostragens da superfície do piso com o procedimento de desinfecção decresce parcialmente durante o período de 2 e 4 horas após a aplicação dos desinfetantes duplofen e duocid, respectivamente;

4) Os desinfetantes duocid e duplofen apresentam diferenças nos halos de inibição bacteriana, quando testados pelo método de difusão em gel de agar, conseqüentemente há di

ferenças na ação antibacteriana dessas substâncias quando comparadas "in vitro";

5) A matéria orgânica presente no teste de diluição de uso retarda a ação bactericida do desinfetante duocid o que não ocorre com relação ao duplofen;

6) A avaliação da ação antibacteriana de desinfetantes de superfície devem ser feitas tanto "in vivo" como "in vitro", levando-se em consideração os fenômenos que possam interferir nas condições em que esses produtos são utilizados.

7. RESUMO

Microorganismos obtidos nas amostragens da superfície do piso do setor de Pediatria e uma cepa padrão de *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, foram utilizados, com o propósito de se avaliar a atividade antimicrobiana de dois desinfetantes hospitalares "in vivo" e "in vitro".

A amostragem da superfície - sem o procedimento de desinfecção - mostrou um aumento do número de colônias microbianas durante o período de atividade hospitalar. Este aumento foi em média de 53 colônias microbianas, no período de 24 horas de amostragens.

As amostragens realizadas após a aplicação dos desinfetantes - fenólico e amônio quaternário - mostraram uma redução significativa no número de colônias microbianas obtidas somente durante 2 e 4 horas de aplicação, respectivamente. Os desinfetantes testados, se comportaram diferentemente quando comparados.

Os resultados obtidos "in vitro", quando fatores de difusibilidade, toxicidade e matéria orgânica foram analisados, demonstraram diferenças significativas para ambos os desinfetantes quando comparados.

Os resultados obtidos nos testes efetuados "in vi

vo", mostraram que na avaliação de desinfetantes hospitalares de superfície deve-se levar em conta os diversos fatores que ocorrem "in situ", já que resultados obtidos de avaliações de laboratório - "in vitro" - podem não ser comparativos e, portanto, generalizados.

As investigações - de modo geral - sugerem que a avaliação de desinfetantes hospitalares deve ser realizada através de dois ou mais testes, levando-se em consideração os fenômenos que possam interferir na ação antibacteriana, tentando assemelhar o mais possível as condições nas quais estes produtos são utilizados.

8. SUMMARY

Microorganisms collected from Pediatric floor sampling surfaces and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 strain were used on the antimicrobial action evaluation of Hospital surface disinfectants.

The sample of the surface without previous disinfection showed an increase of the number of microorganism colonies during all the Hospital activity period. There was an average increase of 53 microbial colonies in a 24 hour-time sampling.

Samplings carried out after both phenolic and quaternary ammonium disinfectant applications showed a significant reduction on the microbial colonies only during 2 to 4 hours of application, respectively. The two tested decontaminants showed a different action when compared.

The results obtained "in vitro", when diffusibility factors, toxicity and organic substance were analysed, showed significant differences when both disinfectants were analysed.

The "in vivo" results showed that on the evaluation of Hospital decontaminants, different factors occurring "in situ" must be included. Laboratorial tests carried out

only "in vitro" do not seem to be enough to make comparisons and generalizations.

It was clearly demonstrated by the investigations that the evaluation purposes of the antibacterial agents must take in account that various factors might be involved on the antimicrobial action. So, two or more tests must be carried out assembling the real conditions in which such products are used.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, J.W. Nosocomial infections. Chicago, Year Book Publ., 1974.

ALTERTHUM, F. Antissépticos e desinfetantes. In: ZANINI, A. C. & OGA, S. Farmacologia aplicada, São Paulo, Atheneu, 1985. p. 575-82.

AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION. Infection control in hospital. Chicago, 1970.

AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION. Statement on microbiologic sampling in the hospital. Hospitals, 48: 125-6, 1974.

ANGELOTTI, R. & FOTER, M.J. A direct surface agar plate laboratory method for quantitatively detecting bacterial contamination on nonporous surfaces. Fd Res., 23: 170-4, 1958.

_____ et alii. A comparative evaluation of methods for determining the bacterial contamination of surfaces. Fd Res., 23: 175-85, 1958.

- ASBURY, E.D. Methods of testing sanitizers and bacteriostatic substances. In: LAWRENCE, C.A. & BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. Philadelphia, Lea & Febiger, 1983. cap. 46. p. 918-44.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NB -66- Referências bibliográficas. Rio de Janeiro, Atual, 1978.
- AYLIPFE, G.A.J. & COLLINS, B.J. Problems of disinfection in hospitals. In: LAWRENCE, C.A. & BLOCK, S.S. Principles and practice of disinfection and sterilization. London, Blackwell, 1982. p. 244-59.
- _____ ; _____ ; LOWBURY, E.J.L. Cleaning and disinfection of hospital floors. Br. med. J., 2: 442-5, 1966.
- BARRETO, E. Infecção em cirurgia: dados históricos. In: FERREIRA, E.M. Manual de controle em cirurgia. São Paulo, E.P.U., 1982. cap. 1. p. 1-7.
- BASSETT, D.C.J. The effect of pH on the multiplication of a pseudomonas in hexidine and cetrimide. J. clin. Path., 24: 708-28, 1971.
- BEAN, H.S. Types and characteristics of disinfectants. J. appl. Bact., 30: 6-16, 1967.
- BEUMER, J. L'usage des désinfectantes clans le regles de bonne pratique de fabrication. J. pharm. Belg., 36: 375-9, 1981.
- BIER, O. Bacteriologia e imunologia. 20.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1980.
- BLOCK, S.S. Historial review. In: LAWRENCE, C.A. & BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. Philadelphia, Lea & Febiger, 1983. cap. 43. p. 868-76.
- BOND, R.G. et alii. Development of a method for microbial sampling of surfaces with special reference to reliability.

- Minneapolis, Univ. Minnesota, 1963.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria nº 196 de 24/06/1983. Diário Oficial, Brasília, 28 jun. 1983. sec.I. p. 1319.
- BROWN, P. & STRATTON, G.E. ed. World list of scientific periodicals; published in the years 1900-1960. 4.ed. London, Butterworths. 1963. 3.v.
- BRUMMER, B. Influence of possible disinfectant transfer on *Staphylococcus aureus* plate counts after agar contact sampling. Appl. envir. Microbiol., 32(1): 80-4, 1976.
- BRUNETT, G.W.; SCHERP, H.W.; SCHUSTER, G.S. Microbiologia oral: Doenças infecciosas. 4.ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1978. p.85.
- CABRERA, E. et alii. Análise del efecto bactericina de 29 desinfectantes como orientacion para su utilizacion hospitalaria. Revta. clín. esp., 166(3-4): 115-9, 1982.
- CREMIEUX, A. & FLEURETTE, J. Methods of testing disinfectants. In: LAWRENCE, C.A. & BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. Philadelphia, Lea & Febiger, 1983. cap. 46. p.918-44.
- CROSHAW, B. Disinfectant testing. In: COLLINS, C.H. et alii. Disinfectants their use and evaluation of effectiveness. New York, Academic, 1981.
- DEATH, J.E. & COATES, D. Effect of pH on sporicidal and microbicidal activity of buffered mixtures of alcohol and sodium hypochlorite. J. clin. Path., 32: 148-53, 1979.
- EDMUNDS, P.K. Staphylococcal infection in subdivided general surgical wards. J. hyp., Camb., 68: 531-47, 1970.
- FAVERO, M.S. et alii. Microbiological sampling of surfaces. J. appl. Bact., 31: 336-46, 1968.

- FELLENBERG, G. Introdução aos problemas da poluição ambiental. São Paulo, EPU; Springer; EDUSP, 1980. p.5-16.
- GABLE, T.S. Bacteriological effectiveness of floor-cleaning methods in a hospital environment. Hospitals, 40: 107-11, 1966.
- GARDNER, J.F. Principles of antimicrobial activity. In: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation, 2nd ed., Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, pp.883-911, 1977.
- GELINAS, P. & GOULET, J. Heat and light stability of sanitizers. J. Fd Prot., 45: 1195-6, 1982.
- _____ & _____. Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter. J. appl. Bact., 54(2) : 243-7, 1983.
- _____ et alii. Effect of temperature and contact time on the activity of eight disinfectantes: a classification. J. Fd Prot., 47: 841-7, 1984.
- GONTIJO, P.P.F. & ROMÃO, C.M.C.P.A. Testes microbiológicos e registro de sanificantes, desinfetantes e antissépticos junto à Secretaria Nacional de Vigilância. Revta. Microbiol., 17: 143-7, 1986.
- HALL, L.E. & HARNETT, M.J. Measurement of the bacterial contamination on surfaces in hospitals. Publ.Hlth Rep.Wash., 79: 1021-4, 1964.
- HAMMER, B.W. & OLSON, H.C. Bacteriology of butter III. A method for studying the contamination from churns. Iowa Agri. Exper. Sta Bull. (141), 1931. Apud WALTER, W.G. & HUCKER, G.J. Proposed method for the bacteriological examination of flat surfaces. Am. J. publ. Hlth., 31:487-90, 1931.
- HUGO, W.B. Historical introduction. LAWRENCE, C.A. & BLOCK, S.S. In: Principles and practice of disinfection, steri-

- lization and preservation. London, Blackwell, 1982. p. 224-59.
- HUTZLER, R.U. Fatores predisponentes de infecção hospitalar. Revta. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. S. Paulo, 28: 147-52, 1973.
- KEENAM, K.M. et alii. Some estatical problems in the standar dization of a method for sampling surfaces for microbiological contamination. Hlth Lab. Sci., 2(4): 208-15, 1965.
- KIM, H.Y. Experimental study on the antibacterial effects of root canal filling materials. J. Korean dent. Ass., 10(1): 35-40, 1972.
- KRONIG, E. & PAUL, Th. Die chemischen grundlagen der lehre von der giftwirkung und desinfektion. Z. f. hyg. und infek tionskransh., 25: 1-112, 1897.
- KUNDSIN, R.B. & WALTER, C.W. Investigation on absorption of benzalkonium chloride U.S.P. by skin, gloves and sponges. Archs Surg., Chicago, 75: 1036-42, 1958.
- _____ & _____. In use testing of bactericidal agents in hospitals. Appl. Microbiol., 9: 167-70, 1960.
- LITSKY, B.Y. & LITSKY, W. Investigations on decontamination of hospital surfaces by use of disinfectant-detergents. J. Am. publ. Hlth Ass., 58: 534-43, 1968.
- MAURER, I.M. The best method of desinfection. In: _____ . Hospital hygiene. London, Edward Arnold, 1985. cap. 5. - p. 19-34.
- MANHEIMER, W.A. & YBANEZ, T. Observations and experiments on dishwashing. Am. J. publ. Hlth, 7: 614, 1917. Apud. FAVE RO, M.S. et alii. Microbiological sampling of surfaces. J. appl. Bact., 31: 336-43, 1917.
- MEIRELLES NETO, J.R. & GONTIJO FILHO, P.P. Atividade tubercu

- licida de alguns detergentes catiônicos. Folha med., 87 (4): 227-32, 1983.
- MILLER, C.H.; DOMINIC, P.L.; CRIMMER, J.E. Bactericidal efficiency of some antimicrobial chemicals. J. dent. Res., 52 (1): 184, 1973.
- MIMICA, L.M.J. et alii. Ação de dois novos antissépticos frente a diferentes microrganismos. Archos Med. Hosp. Fac. Ciênc., 2(11):6, 1982.
- MIZUMO, W.G. & PRYOR, A.K. Evaluation detergent-germicidas for hospital use. Hospitals, 40(2): 88-100, 1966.
- MORAES, M.; BAPTISTA, A.S.F.; AGUIAR, N. Infecção hospitalar. Comissão de controle de infecção hospitalar: constituição e objetos. In: FERRAZ, E.M. Manual de controle de infecção em cirurgia. São Paulo, E.P.U., 1983. cap. 7. pp.65-72.
- OLIVEIRA, M.S. et alii. Reflexões sobre a desinfecção hospitalar. Laes & Haes, 4(4): 66-8, 1985.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S. Microbiologia do ar. In: _____; _____; _____. Microbiologia. São Paulo, Mc Graw-Hill do Brasil, 1980. v.2. cap.35. p.859-71.
- PEREIRA, A.A. Infecção hospitalar: integração clínico laboratorial. Hosp. Mod., 1: 32-40, 1984.
- PLOTKIN, S.A. & AUSTRIAN, R. Bacteremia caused by *Pseudomonas* sp following the use of materials stored in solutions of a cationic surface active agent. Am. J. med. Sci., 235: 621-7, 1958.
- PRYOR, A.K. et alii. Cooperative microbial surveys of surfaces in hospital patient rooms. Hlth Lab. Sci., 4: 153-9, 1967.
- REYBROUCK, G.A. Theoretical approach of disinfectant testing.

- Zentbl. BAKT. Parasitkde, 160: 342-67, 1975.
- ROHDE, P.A. A new cultura plate: its applications. Bull parent. Drug Ass., 17: 11-3, 1962.
- SANFORD, J.P. Disinfectants that don't. Ann. intern. Med., 72(2): 282-3, 1970.
- SCHIESSER, T. & WIEST, J.M. About temperature dependence of the bactericidal effect of some chemical disinfectants. Zentbl. Bakt. Parasitkde, 169: 560-6, 1979.
- SMYLIE, H.G. et alii. Ward design in relation to postoperative wound infection. Part I. Br. med. J., 1: 67-72, 1971.
- SPAULDING, E.H. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: LAWRENCE, C.A. & BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. Philadelphia, Lea & Febiger, 1971. p.517-31.
- STUART, L.S. Testing germicidal efficacy. Soap chem. Spec., 39(7): 89-94, 1963.
- TIMEMETSKY, J. Avaliação antibacteriana de desinfetantes químicos de uso hospitalar e doméstico. São Paulo, 1987. 107 p. [Tese (Doutoramento) Inst. Ciênc. Bioméd. - USP].
- TOP, F.H. The hospital environment. A crossroads for infection. Archs envir. Hlth, 21: 678-88, 1970.
- TORRES, W.L.N. et alii. I - Testes bacteriológicos e de inocuidade com obanol 516. Revta Med. vet., 6(1): 30-50, 1970.
- VESLEY, D. & MICHAELSEN, G.S. Application of a surface sampling technic to the evaluation of bacteriological effectiveness of certain hospital housekeeping produres. Hlth Lab. Sci., 1(2): 107-12, 1964.
- WALTER, G.W. & HUCKER. Proposed method for the bacteriological examination of flat surfaces. Am. J. publ. Hlth., 31:

487-90, 1941.

WEDUM, A.G.; BARKLEY, W.F.; HELLMAN, A. Handling of infections agents. J. Am. vet. med. Ass., 161: 1557-67, 1972.

WILLIAMS, R.E.O. et alii. Hospital infection. 2.ed. London, Lloyd Luke, 1966.

ZANON, U. Desinfetantes, antissépticos e infecção hospitalar. O Semestre Terap., 28(2): 48-64, 1973a.

_____. Fundamentos para o controle das infecções adquiridas em hospitais. O Semestre Terap., 28(2): 11, 1973b.

_____. Infectantes ou desinfetantes hospitalares. Rev. Div. Nac. Tuberculose, 19(4): 105-17, 1975.

_____ & ANDRADE, L. Avaliação da atividade germicida de compostos quaternário de amônio. Folha med., 84: 383-5, 1982.

_____ & NOGUEIRA DE MEDEIROS, J. Avaliação da atividade pseudomonocida dos desinfetantes hospitalares. Revta paul. Hosp., 5: 211-17, 1973.

_____ ; MAGARÃO, M.F.; MONDIN, L. Atividade tuberculicida e desinfetantes. Pat. Geral., 9-10, 133-8, 1973.

ZANON, U. et alii. Controle de infecções hospitalares. Revta paul. Hosp., 23(8): 351-60, 1975.

APÊNDICE

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS MEIOS DE CULTURA

1. Tryptic soy agar - T.S.A. (Difco)

Bacto-triptone -----	15 g
Bacto-soytone -----	5 g
Cloreto de sódio -----	5 g
Bacto agar -----	15 g

1.1. Preparação

Ressuspender 40 g em 1 litro de água destilada. Esterilizar no autoclave por 15 minutos sob pressão de 15 libras.

2. Lethen agar (Difco)

Bacto beef extract -----	3 g
Bacto tryptone -----	5 g
Bacto dextrose -----	1 g
Bacto agar -----	15 g
Sorbitan monooleate -----	7 g
Lecithin -----	1 g

2.1. Preparação

Ressuspender 32 gramas em 1 litro de água destilada. Esterilizar no autoclave por 15 minutos sob pressão de 15 libras.

3. Tryptic soy broth - T.S.B. (Difco)

Bacto tryptone -----	17 g
Bacto soytone -----	3 g
Bacto dextrose -----	2,5 g
Cloreto de sódio -----	5 g
Fosfato dipotássico -----	2,5 g

3.1. Preparação

Ressuspender 36 g em 1 litro de água destilada. Este-

rilizar no autoclave por 15 minutos sob uma pressão de 15 libras.

4. Agar de Müller-Hinton (Biobrás)

Infuso de carne bovina -----	300 g
Peptona de caseira ácida -----	17,5 g
Amido -----	1,5 g
Agar -----	17 g

4.1. Preparação

Ressuspender 38 g de pó em 1 litro de água destilada. Misturar bem. Aquecer sob agitação frequente. Distribuir e esterilizar em autoclave de 116 a 121°C durante 15 minutos.

5. Solução salina 0,85%

Cloreto de sódio -----	8,5
Água destilada -----	1000 ml

PROVAS BIOQUÍMICAS

1. Coloração de Gram

1.1. Descrição da Técnica

- Fazer um esfregaço bem homogêneo e fixar pelo calor.
- Corar 1 minuto com solução de cristal violeta fenicada.
- Escorrer o corante e cobrir, durante 1 minuto, com solução de Lugol (iodo - 1 g, iodeto de potássio - 2 g, água destilada - 300 ml).
- Lavar em água corrente.
- Diferenciar com álcool a 95° (tempo delicado).
- Lavar em água corrente.
- Corar o fundo rapidamente com fucsina diluída.
- Lavar e secar.

1.2. Leituras dos Resultados

Germes Gram Positivos - Roxos

Germes Gram Negativos e Núcleos Celulares - vermelhos.

2. Testes da Catalase

As amostras foram semeadas em tubos contendo 8 ml de caldo glicosado 1%, com a seguinte composição:

- Extrato de carne -----	5,0 g
- Peptona -----	10,0 g
- Cloreto de sódio -----	5,0 g
- Glicose -----	10,0 g
- Água destilada q.s.p. -----	1000 ml

Após a semeadura, os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas. Com o auxílio de pipetas estéreis, adicionou-se 1ml de água oxigenada de 10 volumes, em cada tubo.

2.1. Leitura dos Resultados

A leitura foi realizada em seguida, observando-se a formação de bolhas de gás, indicativa da presença da catalase e, conseqüentemente, do resultado positivo da prova, revelando a presença de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* ou *Micrococcus*. Como controles positivo e negativo, foram usados *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* respectivamente.

3. Teste da Coagulase em Tubo

O plasma utilizado para a realização da prova, foi obtido de sangue estéril de coelho, colhido em jejum. Para evitar-se a coagulação do sangue, utilizou-se 2,5 ml de solução estéril de citrato de sódio a 3,8% para cada 10 ml de sangue colhido. Após centrifugação (3000 rpm), o plasma obtido foi conservado em refrigerador a -4°C por um período máximo de 48 horas.

As bactérias a serem testadas foram cultivadas em caldo simples e incubadas a 37°C durante 24 horas.

Em tubos de 10 x 70 mm, foram distribuídos 0,25 ml das culturas, mais 0,5 ml do plasma citratado de coelho diluído a 1/5, em solução salina estéril. Os tubos foram incubados a 37°C e as leituras realizadas após uma, duas, quatro, oito e 24 horas.

3.1. Leitura dos Resultados

O resultado foi considerado positivo, quando se obser

vou qualquer grau de coagulação, dentro do período de 24 horas. Como controles positivo e negativo, usou-se amostra padrão de *Staphylococcus aureus* 25923 ATCC.