

**Universidade Estadual de Campinas**

**Faculdade de Odontologia de Piracicaba**

Rogério Heládio Lopes Motta

Cirurgião-Dentista

**" Resistência a antimicrobianos de  
microrganismos colhidos em artigos e  
equipamentos odontológicos"**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia - Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

**UNICAMP**

**PIRACICABA – SP**

**2002**

**UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE**

**Universidade Estadual de Campinas**

**Faculdade de Odontologia de Piracicaba**

**Rogério Heládio Lopes Motta**

**Cirurgião-Dentista**

**" Resistência a antimicrobianos de  
microrganismos colhidos em artigos e  
equipamentos odontológicos"**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia - Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

**Orientador: Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho**

**Banca Examinadora:**

**Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho**

**Prof. Dr. José Ranali**

**Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol**

**Suplente: Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade**

**PIRACICABA – SP**

**2002**

*Este documento foi devidamente corrigido.  
Agradecemos a todos os colaboradores.  
Data: 02/10/2002  
Ass. Thales*

UNIDADE BE  
Nº CHAMADA IT/UNICAMP  
M858r  
V \_\_\_\_\_ EX \_\_\_\_\_  
TOMBO BC/ 49639  
PROC 16-837102  
C \_\_\_\_\_ DX \_\_\_\_\_  
PREÇO R\$ 11,00  
DATA 14/06/02  
Nº CPD \_\_\_\_\_

CM00169249-4

BIB ID 245769

M858r Motta, Rogério Heládio Lopes.  
Resistência a antimicrobianos de microrganismos colhidos em artigos e equipamentos odontológicos. / Rogério Heládio Lopes Motta. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2002.  
xvi, 146p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Infecção. 2. Contaminação. 3. Biossegurança. I. Mattos Filho, Thales Rocha de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 22 de Fevereiro de 2002, considerou o candidato ROGÉRIO HELÁDIO LOPES MOTTA aprovado.

1. Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO Thales R. Mattos

2. Prof. Dr. FERNANDO DE SÁ DEL FIOLE Fernando de Sá del Fiole

3. Prof. Dr. JOSE RANALI Jose Ranali

00226502

## **Dedicatória**

A **DEUS PAI**, pela vida...

A meus pais queridos, **CARMELINDA** e **HELÁDIO**, pelo exemplo, amor, carinho, dedicação, e sem os quais essa jornada não teria começado...

A **CRISTIANE**, pelo amor, carinho, compreensão, e companheira dessa luta que está começando, e por você ser tão **VOCÊ...**

A minha irmã **LUZIA**, e meu cunhado **MARCO**, amigos e conselheiros de todas as horas... ... e a meu irmão **ALESSANDRO** (*in memorian*)...

A minha avó **APARECIDA**, por tantos ensinamentos...

A **PAULA** e **TINHO**, pela convivência e crescimento juntos...

A meus tios **ROSA, MARIA, CACILDA, ELENICE, RENATO, SÉRGIO, TARCISO, ORLANDA** e **BENIGNA, AGOSTINHO, GENTIL, DOMINGOS** e **IRINEU** (*in memorian*),... pelo apoio e por tudo o que foram, são e sempre serão para mim....

A minhas pequeninas, **CAMILA, MAIARA** e **THAÍSA...**

A meus **PADRINHOS** e **FAMÍLIAS...**

A minha **FAMÍLIA** e a **FAMÍLIA BERGAMASCHI...**

A família **FARMACOLOGIA** da **FOP/UNICAMP**, pelo carinho e por me ajudarem nesse contínuo processo de "lapidação" ...

dedico este trabalho

## **Agradecimentos Especiais**

Ao **Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO**, meu orientador, agradeço pela orientação, pelo exemplo, pelos ensinamentos, pelas risadas, pelos momentos vividos, pela amizade, pelos seminários, pelos cursos assistidos juntos, pela dedicação, pelo apoio, pela confiança, pelas alegrias, pelos e-mails, pela convivência, pelos telefonemas, pelos recados, pelas "chamadas de atenção", pelas correções, pelas mensagens, pelas piadas, e por tornar-me uma pessoa melhor.

Ao **Prof. Dr. JOSÉ RANALI**, pela amizade, carinho, dedicação, confiança, ensinamentos, pelas considerações do trabalho e por fazer-me crer que muito podemos fazer por aqueles que em nada crêem.

Ao **Prof. Dr. EDUARDO DIAS DE ANDRADE**, pela amizade, carinho, dedicação, confiança, ensinamentos e pelas aulas inesquecíveis.

A **Prof. Dra. MARIA CRISTINA VOLPATO**, pela amizade, carinho, dedicação, confiança, ensinamentos e pelas palavras amigas e encorajadoras nos momentos mais difíceis.

Ao **Prof. Dr. PEDRO LUIZ ROSALEN**, pela amizade, carinho, dedicação, confiança, ensinamentos e pelos almoços não almoçados devido a seus alunos.

Ao **Prof. Dr. FRANCISCO CARLOS GROPPPO**, pela amizade, carinho, dedicação, confiança, ensinamentos, pelo auxílio na fase experimental desse trabalho e por me ensinar a "Metodologia de Chico Modificada" para viver a minha vida.

A **MARIA ELISA DOS SANTOS, ELIANE MELO FRANCO e JOSÉ CARLOS GREGÓRIO**, pela convivência, carinho, prontidão, e acima de tudo, a amizade.

## Agradecimentos Especiais

Aos meus amigos do **MESTRADO: SIMONE, KARLA, VANESSA, PATRÍCIA, CARINA, MARCELO e FÁBIO**. Obrigado pelos momentos alegres, pelo crescimento que tivemos, pelos ensinamentos e seminários, por agüentarem meus desenhos e minhas piadas, e pela família que vocês foram para mim. Nunca esquecerei **VOCÊS...**

A **ALINE N. B. DIAS PACHECO**, pela amizade e pelo auxílio na fase experimental desse trabalho. A **JULIANA CAMA RAMACCIATO** e **FLÁVIA MARTÃO FLÓRIO**, amigas de todas as horas e eternas "veteranas"....

A **RODRIGO CECANHO**, amigo de todas as horas, pelos ensinamentos e pelos jogos de basquete... Ao **Prof. Dr. REGINALDO BRUNO GONÇALVES**, pela amizade, pelos ensinamentos, pela prontidão e auxílio na identificação dos microrganismos;

Aos meus "amigos-irmãos" farmacológicos: **ANA PAULA, ROBERTA, MARIA DAS GRAÇAS, ELIZABETE, VALDIR, MARCOS, GIOVANA, REGIANE, RODRIGO, RAMIRO, Prof. CARLOS**, e aos não-farmacológicos: **ANDRÉ, LÉO, JÚLIO, RONALDO, PATRIQUE, EDIVANDRO, KÁTIA, LUCIANA, REGIANE, GUTO, MARIA, DEISE, MARCELO, ROSANA, FRANZ, MARLA, CLÉBER, CLEVINHO, DANIEL, RICARDO, JOÃO, GUILHERME, HENRIQUE, NILESH, TAQUEO, PRISCILA, CARLOS, FRUTOSE, GUSTAVO, ANDRÉ, ED, ROGÉRIO, MURILO, NEWTON, FERNANDO, DARCI, DANIEL, ADRIANO, MOLINA, OTÁVIO, ZEZINHO, TÁCIO, SEU LEANDRO**, e tantos outros **AMIGOS**, por toda a ajuda, pelos bons momentos e pela amizade.

A **JORGE VALÉRIO**, pela grande amizade e pelas aulas de Inglês e ao **Prof. Dr. OSVALDO DI HIPÓLITO Jr.**, pela amizade e considerações.

Ao **Prof. Dr. FERNANDO DE SÁ DEL FIOL**, pela amizade e considerações.

A **ILCA GALBIATI** e **CLAUDETE BERGAMASCHI**, pelo exemplo e torcida.

## **Agradecimentos**

À UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, por meio de seu Reitor:  
Prof. Dr. HERMANO DE MEDEIROS FERREIRA TAVARES;

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA, na pessoa de seu Diretor:  
Prof. Dr. ANTÔNIO WILSON SALLUM;

À Profa. Dra. ALTAIR ANTONINHA DEL BEL CURY, coordenadora dos cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba;

Ao Prof. Dr. PEDRO LUIZ ROSALEN, coordenador do curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica;

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro incentivando este trabalho;

Ao Prof. Dr. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING, pela amizade e pelo auxílio sempre presentes. A MARCELO, WAGNER e RAFAEL, alunos da Microbiologia da FOP/UNICAMP, pela amizade, pela prontidão e auxílio na identificação dos microrganismos;

Ao Prof. Dr. ANTONIO FERNANDO MARTORELLI DE LIMA, e ao Prof. Dr. SÉRGIO de TOLEDO, coordenadores da Clínica da FOP na época da realização deste trabalho, pela permissão para a realização do mesmo;

À SÔNIA MARIA LORDELLO ARTHUR e ÉRICA ALESSANDRA PINHO, secretárias da Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pela amizade e pelos auxílios nesses anos;

À HELOÍSA MARIA CECCOTI, pela amizade e preciosa ajuda na correção das referências bibliográficas; à MARILENE GIRELLO, pela amizade e auxílio no preparo da ficha catalográfica; à DORINHA, LUCIANA e todos os funcionários da biblioteca da FOP, pela amizade e pelo auxílio sempre presente;

Aos professores, alunos e funcionários da FOP;

Aos amigos do Amazonas.

***"Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não  
houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas,  
valeu a intenção da semente."***

***Henfil***

## SUMÁRIO

Lista de abreviações e símbolos presentes no texto	1
Resumo	3
Abstract	5
1. Introdução	7
2. Revisão da literatura	9
2.1. Histórico	9
2.2. Disseminação cruzada	15
2.3. Medidas de segurança	22
2.4. Infecções odontológicas	26
2.5. Identificação dos microrganismos	27
2.6. Reações tintoriais das bactérias	32
2.7. Características macroscópicas das colônias	35
2.8. Identificação dos microrganismos	36
2.9. Antimicrobianos	38
2.10. Resistência bacteriana	39
2.11. Sensibilidade antimicrobiana	46
3. Proposição	53
4. Material e Método	55
4.1. Material	55
4.1.1. Meios de cultura	55
4.1.2. Antibióticos	56
4.2. Método	57
4.2.1. Amostras	57
4.2.2. Colheita das amostras	59
4.2.3. Contagem das amostras	59
4.2.4. Identificação dos microrganismos	64
4.2.5. Obtenção da concentração ...	69
4.2.6. Avaliação da resistência aos antimicrobianos	70
4.2.7. Congelamento das colônias	73
4.2.8. Análise Estatística	73
5. Resultados	75
6. Discussão	89
7. Conclusão	105
Referências Bibliográficas	107
Anexos	129

## Lista de Abreviações e Símbolos

%	por cento
&	E
$\beta$	beta
$\mu\text{g}$	micrograma
$\mu\text{L}$	microlitro
Amc30	Amoxicilina + Ácido Clavulânico 20/10 $\mu\text{g}$
Ap10	Ampicilina 10 $\mu\text{g}$
Ax10	Amoxicilina 10 $\mu\text{g}$
Azi15	Azitromicina 15 $\mu\text{g}$
BHI	Brain Heart Infusion (Infusão de cérebro coração)
Ca30	Cefadroxil 30 $\mu\text{g}$
Cl2	Clindamicina 2 $\mu\text{g}$
Cl15	Claritromicina $\mu\text{g}$
cm	Centímetros
Co30	Cloranfenicol 30 $\mu\text{g}$
Eri15	Eritromicina 15 $\mu\text{g}$
Oxa 1	Oxacilina 1 $\mu\text{g}$
Van 30	Vancomicina 30 $\mu\text{g}$
<i>et al.</i>	e outros
g	grama
mg	miligrama
MHA	Mueller Hinton agar (ágar muller hinton)
mL	mililitro
mm	milímetro
°C	graus Celsius
pH	logaritmo negativo da concentração hidrogeniônica
Pn10	Penicilina G 10UI
h	Horas
Ufc	unidades formadoras de colônias
$\alpha$	alfa
ufc/mL	unidades formadoras de colônias por mililitro

## **Resumo**

O correto uso de materiais esterilizados e barreiras de proteção são essenciais para o tratamento odontológico seguro, tanto para o paciente como para o cirurgião-dentista, diminuindo os riscos de contaminação cruzada. O objetivo deste trabalho foi quantificar a prevalência de bactérias no ambiente da Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. Foram realizadas colheitas de bactérias em diferentes locais da Clínica utilizando-se swabs esterilizados, sendo colhidas amostras dos botões das cadeiras odontológicas, canhões de raio-X, luvas de procedimentos, maçanetas da porta de entrada da clínica, alças dos refletores, seringas tríplices e teclas "enter" dos computadores. As amostras foram colocadas em Placas de Petri contendo BHI e encubadas a 37° C, por 24 horas, assim como a 37°C, com 10% CO<sub>2</sub>, por 24 horas. Os períodos de colheitas foram: antes, durante e após o término dos atendimentos da clínica. Foram contadas as unidades formadoras de colônias (ufc), sendo que a identificação presuntiva foi realizada utilizando-se o método de coloração de GRAM. A identificação das espécies foi feita através de testes bioquímicos. As bactérias colhidas foram submetidas ao teste de suscetibilidade antimicrobiana em agar, utilizando-se doze discos de antibióticos: ampicilina/10µg (amp), amoxicilina/10µg (amox), azitromicina/15µg (azi), claritromicina/15µg (cla), eritromicina/15µg (eri), cefadroxil/10µg (cef), clindamicina/2µg (clin), penicilina

G/10u (pen), amoxicilina/20µg + ácido clavulânico/10µg (amox+cla), cloranfenicol/30µg (clo), oxacilina 1µg (oxa) e vancomicina 30µg (van) . As porcentagens de resistência aos antimicrobianos testados foram: amp (62%), amox (68%), azi (35%), clari (58%), eri (42%), cef (56%), clin (51%), pen (71%), amox+ cla (47%), clo (31%), oxa (11%) e van (0%). Os resultados mostraram que as bactérias mais prevalentes foram os *Streptococcus* do grupo *viridans*, seguidas por *Staphylococcus epidermidis*. O botão de acionamento de cadeira foi o local com maior contaminação. O maior número de bactérias foi encontrado durante as atividades clínicas, independente da situação clínica analisada. Com os resultados do trabalho, podemos concluir que: 1) A atividade clínica aumenta a contaminação dos artigos e equipamentos odontológicos; 2) As bactérias encontradas mostraram alta porcentagem de resistência aos antibióticos testados; 3) *Streptococcus* do grupo *viridans* e *Staphylococcus epidermidis* foram os microrganismos mais encontrados.

Palavras-Chave: infecção cruzada; resistência a antimicrobianos e contaminação em equipamentos odontológicos.

## **Abstract**

Nowadays patients' infectious diseases mean serious risks to dentistry professionals. Thus, correct use of sterilized materials, and self-protection equipment is essential. Bioaerosols are an important consideration for infection control and occupational health, since infectious agents could be transmitted via aerosols to patients or staff in the confines of the dental unit. The aim of this study was to identify microorganisms on dental equipment in the undergraduate clinic of Piracicaba Dentistry School. Also, antibiotic susceptibility tests were carried out against all collected microorganisms. Microorganisms were collected from push buttons of dental chairs, air-water syringes, X ray device, gloves, computer keys, doorknobs, reflector handle, and lobby chairs by using sterilized swabs. They were inoculated on BHI agar, and incubated at 37°C/24h. All microorganisms were collected in three different periods, before, during, and after clinical procedures. After counting, microorganisms were classified using Gram staining. Antibiotic susceptibility tests were assayed using commercial paper discs on Mueller-Hinton agar with 5% sheep-blood. Microorganisms were Gram+ cocci (67%), Gram+ bacilli (26%), Gram- cocci (5%), and others (2%). Rate of resistant strains was ampicillin/10µg (62%), amoxicillin/10µg (68%), azithromycin/15µg (35%), clarithromycin/15µg (58%), erythromycin/15µg (42%), cefadroxil/10µg (56%), clindamycin/2µg (51%), penicillinG/10u (71%), amoxicillin/20µg+clavulanic

acid/10µg (47%), chloramphenicol/ 30µg (31%), oxacillin (11%) and vancomycin (0%). Push buttons of dental chairs were the most contaminated ( $p < 0,05$ ), and *S. viridans* were the most prevalent microorganisms. The highest number of microorganisms ( $p < 0,05$ ) was found during clinical procedures. We concluded that: 1) clinical activity increases environmental contamination; 2) environmental microorganisms show high resistance rate against common antibiotics; 3) *S. viridans* and *S. epidermidis* are the most common environmental microorganism.

Key Words: cross infection, antimicrobial resistance and environmental contamination.

## **1. Introdução**

Nas últimas décadas, deter as contaminações nos consultórios odontológicos tem sido um grande desafio. Durante séculos os profissionais de Odontologia realizaram seus trabalhos inconscientes dos riscos de contaminação inerentes à sua prática, até que se compreendeu que as infecções poderiam ser transmitidas no consultório odontológico (SAMARANAYAKE *et al.*, 1995; WARREN *et al.*, 2001).

A recuperação de microrganismos conhecidos no ambiente clínico tem servido de indicador da efetividade do controle preventivo. Cepas de *Serratia marcescens* foram recuperadas a uma distância de até dois metros após o acionamento do motor de alta-rotação em preparos cavitários (COTTONE *et al.*, 1991). Cepas de *Streptococcus viridans* foram propostas como indicadores biológicos da contaminação ambiental em consultórios odontológicos (HACKNEY JR *et al.*, 1998). Uma investigação sobre o grau de contaminação do ar ambiente em clínica odontológica, através da contagem desses estreptococos, mostrou que o número deles na clínica era maior do que na sala de espera, sendo que os sistemas de barreiras reduziam drasticamente a quantidade desses microrganismos (NORO *et al.*, 1998).

As cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente e oxacilina-resistente (KAMIYA, 1997) também são importantes contaminantes biológicos em ambientes clínicos, principalmente ao fato da crescente resistência a antimicrobianos apresentada por esses microrganismos. A literatura relata o isolamento desses microrganismos em hospitais, sendo encontradas cepas resistentes inclusive a vancomicina (TENOVER *et al.*, 2001).

Portanto, em ambientes onde profissionais e pacientes encontram-se envolvidos com trabalhos clínicos simultaneamente, como em Faculdades de Odontologia, o risco de contaminação é alto, sendo extremamente necessárias medidas para o controle de assepsia desses locais (PALENIK *et al.*, 2000).

Desta forma, o presente trabalho pretendeu investigar o grau de contaminação de utensílios, materiais e equipamentos utilizados na clínica de Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP, determinando os locais de maior possibilidade de quebra da cadeia asséptica durante a execução dos procedimentos; determinar quais os microrganismos mais prevalentes, através de coloração de Gram e testes bioquímicos e estudar o grau de resistência bacteriana dos microrganismos que foram encontrados frente aos antibióticos de maior uso em odontologia.

## **2.Revisão da Literatura**

### **2.1.Histórico**

Os povos antigos acreditavam em causas religiosas e metafísicas para a doença infecciosa. Apesar disto, alguns já haviam percebido que algumas doenças podiam ser transmitidas e prevenidas por meios "não religiosos".

Os hindus e chineses antigos sabiam que uma doença contraída sob uma forma atenuada conferia resistência às subseqüentes ocorrências da mesma. Na medicina hindu os médicos tinham que ter as unhas curtas, o máximo de higiene e deveriam usar vestimenta branca.

Os hebreus sabiam que certas doenças eram transmissíveis através de objetos. Em seus antigos escritos haviam relatos que podem se enquadrar perfeitamente nos métodos atuais de biossegurança, entre eles a lavagem das mãos antes das refeições ou após o toque nos órgãos sexuais e a limpeza (descontaminação) de guerreiros e enfermos .

Hipócrates (460 a 370 a C.) recomendava a limpeza das mãos e unhas antes das operações e o uso de água fervente e vinho ou vinagre para limpeza das feridas cirúrgicas (GUIMARÃES JR. , 2001).

Ainda que o homem, desde tempos remotos, estivesse sujeito a enfermidades infecciosas, a constatação biológica desse fato só foi observada em 1546, na cidade de Verona, pelo italiano Giroland Hieronymus Fracastorius (1483-1553), quando referiu-se à infecção como sendo um *contagium vivum*, que ocorria através de "sementes vivas" (*seminarias*), as quais podiam ser transmitidas pelo contágio direto de pessoa para pessoa ou pela respiração, ar, roupas, ou qualquer coisa infectada que ele denominou de "*fomites*" (PIMENTA *et al*, 1999).

Thomas Sydenham (1624-1674), médico inglês, desenvolveu a teoria em que se acreditava que os miasmas, fluxos não bem definidos, se espalhavam pelo ar e, dependendo de condições atmosféricas, espalhavam as doenças contagiosas (GUIMARÃES JR. , 2001).

Com o surgimento de conhecimentos mais elaborados e a busca cada vez mais freqüente por respostas do Homem com o intuito de entender as doenças infecto-contagiosas, surgiu uma nova Ciência: a *Microbiologia* (GUIMARÃES JR. , 2001).

Anton van Leewenhoek (1632- 1723), um holandês autodidata, em 1677 deu grande passo para a Microbiologia com a invenção do microscópio. Embora com instrumentos rudimentares, em 1663 observou a "flora da boca" obtida de um raspado dos seus espaços interdentais. Documentou os resultados obtidos, inclusive com desenhos próprios, detalhando suas observações. Para os

seres em movimento que observou deu a denominação de "animáculos" (LIÉBANA UREÑA, 1996).

Ignaz Philipp Semmelweis (1818-1865), em 1847, em uma Maternidade de Viena, comprovou a possibilidade de transmissão de doenças infecciosas. Observou que o índice de mortalidade das parturientes atendidas pelos estudantes de Medicina era maior que o daquelas atendidas pelas religiosas ("parteiras"). Em 15 de maio de 1847, afixou à porta da Clínica um cartaz que obrigava a todos os estudantes e médicos a lavarem as mãos com água e sabão e uma solução de ácido clórico, numa bacia colocada na entrada das salas da Clínica de Obstetrícia, antes de cuidar dos pacientes. Tal procedimento não era feito na época e não teve a adesão de todos os envolvidos. Embora com dificuldades, com a adoção dessa medida Semmelweis conseguiu reduzir drasticamente o índice de mortes pós-parto de 30% para 3% (PIMENTA *et al.*, 1999; GUIMARÃES JR., 2001).

Louis Pasteur (1822-1895), mostrou que para cada infecção temos um tipo de microrganismo, o que foi chamada de *teoria microbiana das doenças*. Observou que o "infinitamente pequeno" desempenha um papel "infinitamente grande" no desenvolvimento das doenças infecciosas. Foi ele que introduziu o termo micróbio. No estudo das fermentações Pasteur concluiu que algumas ocorriam na ausência completa do ar. Os microrganismos que assim procediam foram chamados de anaeróbios, em contraposição os aeróbios, que vivem na

presença de Oxigênio. Pasteur também provou que os microrganismos podem ser transmitidos pelo ar (ITO *et al.*, 1998; GUIMARÃES JR., 2001).

John Tyndall (1820-1883), físico inglês, descobriu que alguns microrganismos tinham uma forma vegetativa e outra esporulada muito mais resistente à ebulição. Desta forma, introduziu em 1877, a *técnica de esterilização descontínua*, hoje chamada de tindalização, que consistia no aquecimento do meio entre 80° e 100°C, que matava as formas vegetativas, e sua incubação por poucas horas para que as formas esporuladas resistentes assumissem a forma vegetativa, para novamente expor estas últimas formas a um novo ciclo entre 80° e 100°C, quando são destruídas (GUIMARÃES JR., 2001).

Robert Koch (1843-1910), estabeleceu definitivamente o papel das bactérias como principais agentes etiológicos das infecções. Seus estudos foram de extrema importância para a Microbiologia, introduzindo inclusive o meio sólido de cultura e analisando a eficácia de produtos como timol e cloro como agentes desinfetantes. Um colaborador de seus estudos, Julius Richard Petri, criou a placa de vidro que leva seu nome (GUIMARÃES JR., 2001). Robert Koch, juntamente com Pasteur, estabeleceu o conceito de *germe específico*, tendo deixado trabalhos importantíssimos (Ciclo de Pasteur e Postulado de Koch), iniciando assim a Era Bacteriológica (PIMENTA *et al.*, 1999).

Joseph Lister (1827-1912), um médico inglês, instituiu a prática da cirurgia anti-séptica, ao preconizar a desinfecção do instrumental pela fervura do campo cirúrgico e do ambiente pela pulverização com fenol, além da lavagem das mãos, reduzindo a incidência de infecção pós-cirúrgica. (PACHECO, 2000). Embora considerados ultrajantes para a época, esses procedimentos foram os precursores da cadeia e cirurgia asséptica (ITO *et al.*, 1998).

Com o descobrimento das bactérias presentes na saliva e no material depositado nos dentes, denominado matéria alba por Leeuwenhoek, teve início a Microbiologia Oral, cujo verdadeiro pai foi Willoughby Dayton Miller (1890), um químico Norte Americano, que trabalhou com Koch em Berlim e conseguiu demonstrar a presença de microrganismos na polpa necrosada e nos túbulos dentinários. De volta ao seu país publicou o trabalho intitulado "The microorganism of human mouth", onde expôs sua teoria quimicoparasitária da cárie dentária. Foi ele também quem recomendou que a Microbiologia fizesse parte do currículo do Curso de Odontologia (ITO *et al.*, 1998).

As aplicações das medidas de saneamento, desinfecção e anti-sepsia reduziram, consideravelmente, a taxa de mortalidade. Entretanto, o processo da cura da infecção foi acelerado, na década de 30, pela introdução de um quimioterápico, a sulfonamida e, posteriormente, de um antibiótico, a penicilina, descoberto por Alexander Fleming, em 1928, e introduzida no arsenal terapêutico

a partir de 1942. Infelizmente, a confiança depositada nos antimicrobianos levou os clínicos a negligenciarem as técnicas assépticas (PELCZAR *et al.*, 1996).

Nas duas últimas décadas, o controle de infecção tornou-se um grande desafio, em virtude da freqüência com que os Cirurgiões Dentistas e seus pacientes estão expostos a inúmeros agentes microbianos capazes de desencadear patologias, tais como, endocardite, sífilis, tuberculose, difteria, escarlatina, meningite, pneumonia, herpes simplex, hepatites, AIDS, catapora, sarampo, caxumba, rubéola, coqueluxe, etc. (MOLINARI & COTTONE, 1997; XIAOJING LI *et al.*, 2000). Estas e outras novas doenças infecciosas reforçam a necessidade de uma prática de controle de infecção sempre vigilante.

## **2.2. Disseminação Cruzada**

Na clínica odontológica, a maior fonte de infecção é a boca do paciente (MILLER & COTTONE, 1993). Já foram identificadas na boca 509 espécies de microrganismos, pertencentes a 30 gêneros diferentes, constituindo uma microbiota diversificada e que sobrevive normalmente em equilíbrio. O dorso da língua, o periodonto, o sulco gengival e a placa dental constituem locais adequados para a proliferação e conseqüente manutenção da microbiota (BURNETT *et al.*, 1970).

Esse ambiente altamente colonizado, com a atuação dos Cirurgiões Dentistas com instrumentos rotatórios de baixa e alta velocidade, freqüentemente acoplados a sistemas de jatos de água/ar resultam na produção de aerossol (ITO *et al.*, 1998). MICIK *et al.*, 1969, conceituam o aerossol odontológico como sendo partículas menores de 50 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), sendo essas partículas as que representam grande risco de infecção, pois são capazes de penetrar na árvore respiratória, atingindo os alvéolos pulmonares.

A introdução de instrumentos de alta rotação e ultra-sônicos, na década de 50, contribuiu significativamente para que os consultórios fossem contaminados por aerossóis (COTTONE *et al.*, 1991). Nas clínicas das escolas de Odontologia, onde profissionais e pacientes encontram-se envolvidos com trabalhos clínicos

simultaneamente, este risco assume um significado especial (MILLER *et al.*, 1990; MATTOS-FILHO *et al.*, 1997).

Segundo KEDJARUNE *et al.* (2000), os aerossóis constituem-se de partículas as quais têm massa e energia cinética suficiente para realizarem longas trajetórias no ambiente de clínica odontológica, contaminando objetos e equipamentos mesmo que distantes da cadeira odontológica. As infecções por aerossóis em clínicas odontológicas podem ser causadas por várias fontes, incluindo pacientes, profissionais, visitantes, ventilação e sistema de ar-condicionado, ou pelo próprio ambiente contaminado (LEGGAT & KEDJARUNE, 2001).

BENTLEY *et al.*, (1994) relatam que a distribuição dos aerossóis contaminados por bactérias é extremamente variada e pode estar influenciada por diferentes fatores, tais como os níveis de microrganismos na boca do paciente (higiene bucal adequada), a posição de trabalho do profissional em relação ao paciente, o tipo de procedimento realizado, a posição do dente que está sendo tratado, a movimentação de pessoas dentro do ambiente de clínica, entre outros. Segundo LEGGAT & KEDJARUNE, 2001, essa distribuição também pode ser influenciada pela umidade, temperatura e o tamanho das partículas geradas. Além desses fatores, os autores relatam que o período do dia pode influenciar a contaminação dos aerossóis.

Em outro estudo avaliou-se, através da determinação do número de unidades formadoras de colônia (ufc), a dispersão de partículas produzidas durante o uso das peças de mão com *spray* de água, pela seringa ar/água e pelo disco de polimento, acionados durante 30 segundos. Observou-se que todos os procedimentos geraram partículas viáveis, dispersas até cerca de 3, 0 metros da boca do paciente para todas as direções, e em número decrescente de ufc à medida que se afastava da fonte (MILLER *et al.*, 1971).

Segundo CRAWFORD (1983), as partículas produzidas pelo uso de equipamentos rotatórios permanecem viáveis no ambiente (Quadro.1). GUIMARÃES JR. (1992) apresenta dados importantes a respeito da sobrevivência de alguns microrganismos sobre superfícies, mostrando que uma grande variedade deles consegue sobreviver por tempo prolongado em diversos materiais de uso rotineiro em odontologia, como fichas clínicas, peças de mão, papel, gaze, pele e luvas.

QUADRO 1 - Distribuição do microrganismo, fonte/procedência e viabilidade no ambiente.

<b>Microrganismo</b>	<b>Fonte/Procedência</b>	<b>Viabilidade</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Saliva, pele, exsudato	5 dias
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Saliva, secreções	2 dias
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Escarro	2 Semanas
Vírus Herpes simplex	Saliva, vesícula	Minutos
Vírus Herpes zoster	Saliva, vesícula	Horas
Vírus Caxumba	Saliva	Horas
Vírus Influenza (gripe)	Saliva, secreções	12 horas
Vírus Hepatite A	Saliva, sangue, urina	Semanas
Vírus Hepatite B	Saliva, sangue	Semanas
Vírus HIV – AIDS	Sangue	Minutos
Grupo mutans – cárie	Saliva	Horas

FONTE – PIMENTA *et al.*, 1999

A recuperação de microrganismos conhecidos no ambiente clínico tem servido de indicador da efetividade do controle de infecção preventivo. Cepas de *Serratia marcescens* foram recuperadas a uma distância de até dois metros após o acionamento do motor de alta-rotação (COTTONE *et al.*, 1991). Cepas de *Streptococcus viridans* foram propostas como indicadores biológicos da contaminação ambiental (HACKNEY JR *et al.*, 1998). Uma investigação sobre o grau de contaminação do ar ambiente em clínica odontológica, através da contagem desses estreptococos, mostrou que o número deles na clínica era maior do que na sala de espera, sendo que os sistemas de barreiras reduziam drasticamente a quantidade desses microrganismos (NORO *et al.*, 1998).

Os aerossóis gerados por procedimentos odontológicos são predominado por *Streptococcus* e *Staphylococcus spp* (OSORIO *et al.*, 1995). HORIBA *et al.*, 1995, relataram o isolamento de *Staphylococcus* resistentes à metilina em consultórios odontológicos. Os mesmos autores verificaram, através de padrões de eletroforese, uma relação entre *Staphylococcus epidermidis* isolados em dentistas e isolados em componentes clínicos, tais como a cadeira odontológica, demonstrando o possível risco de contaminação cruzada.

WHITE & GLAZE (1978) avaliaram a contaminação microbiológica de pacientes após exames radiográficos. Constataram que foram possíveis as transferências de *Streptococcus pyogenes*, *S.aureus* e *Diplococcus pneumoniae* para pacientes na ordem de 77%. Os fatores de contaminação incluíram o

equipamento utilizado e as mãos dos operadores (AUTIO *et al.*, 1980; CARVALHO & PAPAIZ, 1999). Em outro estudo, *Streptococcus sanguis* aderidos aos dedos polegar e indicador das luvas do profissional foram transferidos para o papel de anotações esterilizado, sendo que esses microrganismos permaneceram viáveis até 72 horas depois da transferência (CROMPTON *et al.*, 1994).

Outro importante fator relacionado à transmissão de doenças infecto-contagiosas é a má qualidade da água utilizada em equipamentos médico-odontológicos (CLEGG, 1996). O Council on Dental Materials and Devices and Council on Dental Therapeutics (1978), mostrou a possibilidade de contaminação dos pacientes por agentes causadores das pneumonias e hepatite B, através dos aerossóis expelidos pelas turbinas e seringas tríplexes. Em 1987, MARTIN, descreveu dois casos de pacientes infectados por *Pseudomonas aeruginosa* originária dos reservatórios de água do equipo odontológico.

Em 1963, BLAKE observou a presença de bactérias nos reservatórios de água que supriam as turbinas de alta rotação e as seringas de ar/água dos equipos odontológicos. ABEL *et al.* (1973) detectaram bactérias da cavidade oral presentes nos aerossóis do sistema de refrigeração das turbinas de alta rotação após o seu uso. PUTNINS *et al.*, em 2001, com métodos microbiológicos analisaram o biofilme existente na água de motores de alta-rotação e seringa tríplex com outras amostras de água, recomendando o acionamento prévio desses equipamentos por

5 a 10 minutos antes do início do tratamento para a redução da contaminação da água em seu interior.

Um estudo onde foram analisados 37 equipos odontológicos mostrou que 70,2% apresentavam contaminação dos reservatórios de água e 92,3% das seringas utilizavam água cujos padrões não corresponderam aos exigidos pela legislação vigente. (AGUIAR & PINHEIRO, 1999).

Em outro estudo visando avaliar o grau de contaminação existente na água utilizada para a refrigeração de brocas nas canetas de alta rotação, foram observadas, através de método presuntivo, colônias de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, difteróides; *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Bacillus*, *Listeria*, *Nocardia*, *Actinomyces*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Sarcina*, bacteróides; *Fusobacterium*, *Veilonella*, *Propioniumbacterium*, Leptotriquia; *Wollinella* (CARDOSO *et al.*, 1999)

Locais despercebidos também podem proporcionar riscos de contaminação para pacientes em consultórios odontológicos. Em brinquedos oferecidos às crianças durante consulta odontológica foi observada contaminação com bactérias da microbiota bucal, intestinal e do ambiente (solo, ar), tanto em clínicas particulares como em públicas, sendo observados diferentes microrganismos como *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. aureus* (BARBIERI *et al.*, 1999). RICE *et al.*, em 1990, observaram o contaminação por bactérias aeróbicas em diferentes materiais dentários.

MATTOS FILHO *et al.* (1997<sub>a</sub>), realizaram um estudo com o intuito de observar se existiam diferenças de crescimento de microrganismos no ambiente clínico de uma Faculdade de Odontologia em períodos distintos de atividades clínicas. Foi analisado o crescimento dos microrganismos tanto na presença como na ausência de atividade clínica. KEDJARUNE *et al.*, 2000 e BENNETT *et al.*, 2000 observaram uma maior contaminação do ar de clínicas odontológicas durante atividades clínicas quando comparadas com os períodos antes e depois dos atendimentos. Outro estudo foi realizado visando a identificação desses microrganismos, onde foi observada prevalência de cocos, bacilos e fungos, respectivamente, no ambiente de clínica odontológica (MATTOS FILHO *et al.*, 1999). LEGGAT & KEDJARUNE, 2001, também relatam a maior contaminação ambiental em clínicas odontológicas (em consultórios e em clínicas) principalmente durante as atividades clínicas, sendo essa contaminação influenciada pelos tipos de procedimentos clínicos realizados.

Para avaliar a contaminação-cruzada dentro de uma clínica odontológica foi realizado um estudo onde foram isolados 8 organismos potencialmente patogênicos (*Candida albicans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces sp*, *Bacteroides sp*, *Hemophyllus sp*, *Streptococcus mutans*, *Enterococci*). Observou-se a transferência dos 8 microrganismos das bocas dos pacientes para os dedos do estudante e dessa forma a contaminação se propagou para as torneiras das pias e para os botões da cadeira, podendo-se concluir que

patógenos potenciais são transmitidos do paciente para o Cirurgião Dentista e do Cirurgião Dentista para o meio ambiente, comprovando-se, assim, a possibilidade de contaminação-cruzada.(AUTIO *et al.*, 1980).

### **2.3. Medidas de Segurança**

De acordo com os Centers for Disease Control and Prevention (CDC), todos os recursos disponíveis têm sido empregados para impedir a contaminação em consultórios odontológicos. O problema é que qualquer tipo de descuido pode intensificar o ciclo de infecções cruzadas (AUTIO *et al.*, 1980; CRAWFORD & BRODERIUS, 1988; PALENIK *et al.*, 2001; WARREN *et al.*, 2001).

Os aspectos do controle de infecção que devem ser analisados nas formulações de um programa de controle de infecção efetivo são: (1) técnicas de assepsia; (2) avaliação dos pacientes; (3) proteção pessoal; (4) esterilização do instrumental; (5) desinfecção de superfícies; (6) assepsia dos equipamentos e (7) assepsia laboratorial (MOLINARI *et al.*, 2000).

Para a proteção pessoal dos profissionais de odontologia são indicados o uso de avental, gorros, óculos de proteção, máscaras e luvas descartáveis, durante um tratamento odontológico (RUSSO *et al.*, 1998).

MATTOS-FILHO *et al.*, 1997<sub>b</sub>, apresentam sugestões detalhadas de padronização de procedimentos, mostrando condutas adequadas para se evitar a

quebra de cadeias asséptica, principalmente em clínicas com muitos atendimentos simultâneos, como as clínicas de faculdades de odontologia.

Foi realizado um trabalho mostrando que, eventualmente, mesmo utilizando máscara de proteção, o profissional pode se contaminar, estando essa possibilidade vinculada ao tipo de máscara utilizada, confirmando a importância das medidas preventivas (RANALI *et al.*, 1992). Além do risco dos aerossóis contaminados ultrapassarem a máscara, as mesmas ficam molhadas e em constante contato com a pele do rosto do profissional tornando-se um veículo para a contaminação cruzada (WOOD, 1993).

A contaminação do ambiente pelo aerossol proveniente do sistema de refrigeração é inevitável. Contudo, é possível amenizar a situação por meio do emprego de dique de borracha e sugador de alta potência (MILLER *et al.*, 1971; COCHRAN *et al.*, 1989).

As canetas de alta e baixa rotação são autoclaváveis, o que permite uma esterilização correta. Para os profissionais que não dispõem desses equipamentos, uma alternativa pode ser a utilização da "camisinha" da caneta, que é uma luva descartável de látex que evita o contato direto do instrumento com a boca do paciente. Esse recurso foi criado na tentativa de se evitar a contaminação cruzada entre os pacientes, uma vez que sua eficácia é de 99,6% quando comparado ao não uso da mesma. Além disso, é importante que, antes do uso, o

profissional acione a caneta durante trinta segundos, possibilitando a limpeza da mesma (FERREIRA, 1995).

Tem sido aceito que os instrumentos cirúrgicos utilizados para invadir o tecido além da pele ou membranas mucosas - bisturis, fórceps, agulhas e suturas, por exemplo - podem criar portas de entrada ideais para microrganismos potencialmente patogênicos (HARDIE, 1992). Em 1992, LEWIS & BOE publicaram evidências sugerindo uma forte possibilidade de transmissão de infecção através de instrumentais odontológicos contaminados. Na mesma publicação recomendavam a esterilização dos instrumentos entre os atendimentos (WOOD, 1993).

Porém, de todo o instrumental utilizado pelos Cirurgiões Dentistas, os instrumentos cortantes rotatórios estão entre os itens que merecem maiores atenções. Como estão em contato com a saliva e, muitas vezes, com sangue, exigem uma esterilização rigorosa (SANCHES & MACDONALD, 1995). Para avaliar se os profissionais estão esterilizando corretamente seus instrumentos rotatórios foi realizado um estudo envolvendo 106 instrumentos cortantes rotatórios prontos para uso em consultório particular da cidade de São Paulo. Esse estudo verificou que 74,53% não apresentavam crescimento de microrganismos. Em 11, 32%, houve um crescimento pequeno (correspondendo entre 1 e 100 ufc). Porém, em 14, 15%, constatou-se um crescimento de mais de 100 ufc, representando alta contaminação. Esse resultado é preocupante, especialmente se considerarmos que

apenas um item foi avaliado. Os achados sugerem negligência nas técnicas de esterilização por parte de um número expressivo de profissionais, que dessa forma estariam colaborando com a contaminação cruzada. (RUSSO *et al.*, 1998).

Assim sendo, organizações de saúde, como o CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) e a AMERICAN DENTAL ASSOCIATION (ADA), têm elaborado normas de assepsia, desinfecção e esterilização, preconizando a utilização de um protocolo de controle de infecção, para tentar evitar a contaminação cruzada durante o tratamento odontológico (RUSSO *et al.*, 1998).

Além disso, os pacientes que outrora não tinham interesse pela higiene na clínica dental, agora estão muito mais conscientes sobre as doenças infecciosas em geral e sobre a possibilidade de contaminação cruzada durante os procedimentos odontológicos. Cada vez mais, as pessoas que procuram tratamento estão questionando a qualidade do atendimento que estão recebendo e sobre o modo como este é executado (TEIXEIRA, 1998).

Outras medidas de segurança que devem ser seguidas são (FANTINATO, 1994) :

- a) Anamnese rigorosa, principalmente quando há suspeita de doença infecto-contagiosa;

- b) Ambiente de clínica bem ventilado, com ar condicionado e dispositivo de renovação do ar, para facilitar a dispersão das partículas aero-suspensas;
- c) Utilização de filmes plásticos para cobertura de superfícies.

## **2.4. Infecções Odontológicas**

Infecção é o depósito de microrganismo nos tecidos, cujo aumento poderá, dependendo da resposta orgânica, causar colonização. O número de microrganismos necessários para causar infecção pode ser denominado "dose infecciosa". A dose infecciosa depende de fatores como a virulência do microrganismo e a saúde do hospedeiro. Por exemplo, podem ser aplicadas grandes quantidades de *Staphylococcus aureus* à pele intacta, sem causar uma infecção clínica; contudo, na presença de uma sutura, até 100 células podem ser suficientes para iniciar uma infecção clínica (SAMARANAYAKE *et al.*, 1995).

A contaminação cruzada pode ser definida como a transmissão de agentes infecciosos entre pacientes e equipe, dentro de um ambiente clínico. A transmissão pode ocorrer de pessoa para pessoa ou através de objetos contaminados, que são denominados "agentes". Na odontologia a fonte de infecção pode compreender os pacientes que sofrem de doenças infecciosas, os que estão no período prodrômico de certas infecções e os portadores saudáveis de patógenos. No caso de pessoas em período prodrômico, embora o paciente pareça

saudável neste estágio, sua saliva e sangue podem estar contaminados. Há ainda os casos de portadores convalescentes, que também podem abrigar patógenos no sangue e secreções, servindo como reservatórios. Nos casos de portadores assintomáticos, o indivíduo não apresenta história progressiva de infecção; no entanto, esse indivíduo pode possuir microrganismos infecciosos na saliva e no sangue (SAMARANAYAKE *et al.*, 1995).

A maior parte das infecções bacterianas associadas ao meio bucal, mais especificamente relacionada aos procedimentos odontológicos, diz respeito à possibilidade de bacteremia durante intervenções odontológicas. Como consequência temos a escarlatina, a endocardite bacteriana e a febre reumática. Na verdade, qualquer microrganismo presente na microbiota bucal normal é capaz de causar infecções quando estes se disseminam na corrente sanguínea (SAMARANAYAKE *et al.*, 1995; TEIXEIRA, 1998).

## **2.5. Identificação dos microrganismos**

Para uma correta identificação das bactérias são necessárias as descrições de algumas de suas características importantes (BIER, 1982. e KONEMAN *et al.*, 2001). As bactérias apresentam-se em diferentes formas, sendo

aqui destacados dois tipos morfológicos fundamentais: pequenas esferas – cocos e bastonetes retos – bacilos.

- a) **COCOS:** Os cocos tomam denominações diferentes de acordo com o seu agrupamento: esférulas agrupadas em forma de cacho de uva constituem um estafilococo, se formam cadeias, estreptococos, e quando se agrupam dois a dois, diplococos.
- b) **BACILOS:** Em sentido amplo, dá-se o nome de bacilo às bactérias em forma de bastonetes retos; mais restritamente, porém chamam-se bacilos aos bastonetes cujas extremidades são cortadas em ângulo reto. Quando as extremidades são arredondadas, de tal maneira que o bastonete sendo curto, toma configuração oval, tem-se o tipo morfológico denominado *bacterium*.

### **2.5.1. Estreptococos**

Os estreptococos são bactérias Gram-positivas em forma de cocos que se dividem em apenas um plano. Como as bactérias não se separam facilmente após o plano de divisão, estas tendem a formar cadeias e, assim, podem diferenciar-se dos estafilococos, que comumente se dividem em diferentes planos,

formando ramificações ou grupamentos de cocos semelhantes a cachos de uva. São catalase-negativos, o que também os diferencia dos estafilococos, que são catalase-positivos. Constituem a principal população de microrganismos da cavidade oral, com muitas espécies distintas associadas a diferentes nichos ecológicos da boca. *Streptococcus sanguis* e *S. mutans* são encontrados em placa dental, enquanto *S. mitis* em outros tecidos mucosos e *S. salivarius* na língua, sendo o microrganismo predominantemente encontrado na saliva. Devido a esta razão, a detecção de *S. salivarius* é uma indicação de contaminação salivar (KONEMAN *et al.*, 2001).

Quanto ao *S. sanguis*, está entre as espécies mais freqüentemente isoladas de pacientes com endocardite bacteriana, sendo de extrema importância um conhecimento da relação estrutura-função deste microrganismo para melhor compreender a formação e maturação da placa dental bem como a patogênese da endocardite bacteriana.

Com exceção do *S. salivarius*, muitas das cepas dessas espécies produzem uma zona esverdeada de  $\alpha$ -hemólise ao redor das colônias em ágar sangue, sendo referidos na literatura como *S. viridans*.

Estudos recentes dividiram esses microrganismos em uma variedade de espécies. *S. mutans* foi subdividido em muitas espécies: *S. mutans* e *S. sobrinus* (cepas humanas) e *S. rattus*, *S. cricetus* e *S. ferus* (comumente encontrados em roedores). Dentre as outras espécies de estreptococos, destacam-se *S.*

*pneumoniae*, responsável pela pneumonia pneumocócica, *S. pyogenes*, dentre outras (NISENGARD & NEWMAN, 1997).

### **2.5.2. Estafilococos**

Apesar de similares aos estreptococos na morfologia, os estafilococos são grupos de cocos Gram-positivos similares a cachos de uvas, surgindo portanto o seu nome derivado do grego *staphylos*, que significa cacho de uva. Os cachos são o resultado da divisão dos membros deste gênero em diferentes planos, a qual não ocorre desta forma nos estreptococos, ou seja, em um único plano. Podem causar confusão quando comparados pela Coloração de *Gram*, sendo facilmente eliminada adicionando-se algumas gotas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% sobre a colônia (desde que ela não seja semeada em agar sangue). Se forem detectadas bolhas de O<sub>2</sub>, a catalase está presente e o microrganismo deve ser *Staphylococcus*; a ausência de bolhas indica que o microrganismo deve pertencer ao gênero *Streptococcus* (KONEMAN *et al.*, 2001).

As principais espécies de estafilococos encontrados em seres humanos são o *Staphylococcus aureus* e o *Staphylococcus epidermidis*. Como o último nome indica, esta espécie é encontrada primariamente como residente da pele, não sendo considerada como patogênica. Ao contrário, o *S. aureus* é um patógeno potencial e pode estar presente na nasofaringe de até 40% dos indivíduos. É

provavelmente a partir desse sítio que tal espécie alcança a cavidade oral onde ocasionalmente pode ser detectada. Essa espécie não possui um papel significativo nas infecções intra-orais, porém podem causar infecções sérias associadas com feridas cirúrgicas acidentais. Além disso, algumas cepas são capazes de produzir uma enterotoxina que causa um tipo de intoxicação alimentar (NISENGARD & NEWMAN, 1997).

### **2.5.3. Bacilos**

Muitos dos microrganismos do gênero *Bacillus* são bastonetes Gram-positivos, aeróbios obrigatórios e produtores de esporos. Algumas espécies ou cepas são Gram-negativas ou anaeróbias facultativas (KONEMAN et al., 2001). Eles são intimamente relacionados ao gênero *Clostridium*, sendo que os últimos são caracteristicamente anaeróbios obrigatórios. As espécies de *Bacillus* podem ser diferenciadas umas das outras com base em suas características morfológicas e bioquímicas, porém a definição da espécie não é uma característica importante na rotina de laboratório clínico, com exceção do *B.anthraxis*, o agente etiológico do antrax. Muitas das espécies de *Bacillus* formam colônias com morfologia característica, grandes, lisas e beta-hemolíticas (NISENGARD & NEWMAN, 1997).

## **2.6. Reações Tintoriais das Bactérias** (BIER, 1982)

As bactérias têm afinidade para grande número de corantes, em particular aos derivados básicos da anilina (azul de metileno, violeta de genciana, tionina, fucsina básica, etc.).

Estudando o comportamento das bactérias em relação a certos corantes após a ação de diferenciadores, verificou-se empiricamente que há reações corantes características para determinados grupos de bactérias.

### **2.6.1. Coloração de Gram** (BIER, 1982)

O método de Gram (1884) baseia-se no fato de que, quando certas bactérias são coradas pela violeta de genciana (ou por outros derivados próximos da rosanilina, como o cristal-violeta, metil-violeta, etc.) e depois tratadas pelo iodo (solução iodo-iodetada dita "Lugol"), forma-se um composto de coloração escura entre o iodo e o corante (iodo pararrosanilina), o qual é fortemente retido pelas bactérias e não pode ser facilmente removido pelo tratamento subsequente com álcool: são as bactérias gram-positivas. As bactérias gram-negativas se deixam descorar facilmente pelo álcool.

Assim sendo, se após a ação do álcool, fizermos uma coloração de fundo pela fucsina, as bactérias gram-negativas aparecerão vermelhas, ao passo que as gram-positivas se apresentarão roxas, pois conservam a cor da violeta.

Duas regras gerais podem ser formuladas com relação as bactérias gram-positivas e gram-negativas:

- a) Os cocos são geralmente gram-positivos, com exceção dos pertencentes ao gênero *Neisseria* (gonococo e meningococo).
  
- b) Os bacilos são geralmente gram-negativos, com exceção dos pertencentes aos gêneros *Corynebacterium* (bacilo diftérico), *Bacillus* (bacilo do carbúnculo) e *Clostridium* (bacilo do tétano). O gênero *Bacillus* compreende os bastonetes esporulados aeróbios, ao passo que o gênero *Clostridium* engloba os bastonetes esporulados anaeróbios.

A coloração de Gram deve ser observada com o auxílio de uma lente objetiva de pouco aumento (10x) para a observação global da coloração, espessura, e para a avaliação de células somáticas; os microrganismos devem ser observados sob lente objetiva de imersão em óleo (100x). (DE LA MAZA *et al.*, 2001).

O mecanismo da coloração de *Gram* não está ainda totalmente esclarecido, porém, se relaciona à diferença de composição da parede celular nas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BIER, 1982).

A parede celular é um reforço externo da membrana citoplasmática das bactérias, cuja principal função é manter a morfologia e proteger contra a hipertonicidade do meio, atuando como barreira osmótica, e legando à bactéria a propriedade de manter elementos essenciais à sua sobrevivência em seu interior (MIMS *et al.*, 1995; CALDWELL, 1995). Sua constituição varia de espécie para espécie e entre Gram positivos e negativos, porém é comum a todas a presença de um mucopeptídeo, o peptidoglicano, formado por açúcares aminados.

Nos microrganismos Gram-positivos, o mucopeptídeo corresponde a 40-90% da composição da parede celular, enquanto que nos negativos, 4 a 10% (GEORGOPAPADAKOU, 1980). Então, nos microrganismos Gram-positivos a parede celular apresenta uma espessa lâmina mucopeptídica, que retém o complexo l-proteína no interior do corpo bacteriano, e é composta, em seguida, pela membrana plasmática. Nos Gram-negativos, a célula é recoberta por uma membrana externa e mais internamente apresenta o espaço periplásmico, seguido da parede celular, e por fim, a membrana citoplasmática (FIG. 1) (MANDELL & PETRI, 1996). Nestas bactérias o tratamento com álcool aumenta consideravelmente a permeabilidade do invólucro externo que circunda a fina

camada mucopeptídica, possibilitando a remoção da iodopararrosanilina (BIER, 1982).

Além desta diferença de composição da parede celular, outras propriedades da célula bacteriana se relacionam ao comportamento da mesma à respeito da coloração de Gram, tais como: estrutura da parede celular, ação de enzimas e antibióticos, sensibilidade a outros corantes, etc.

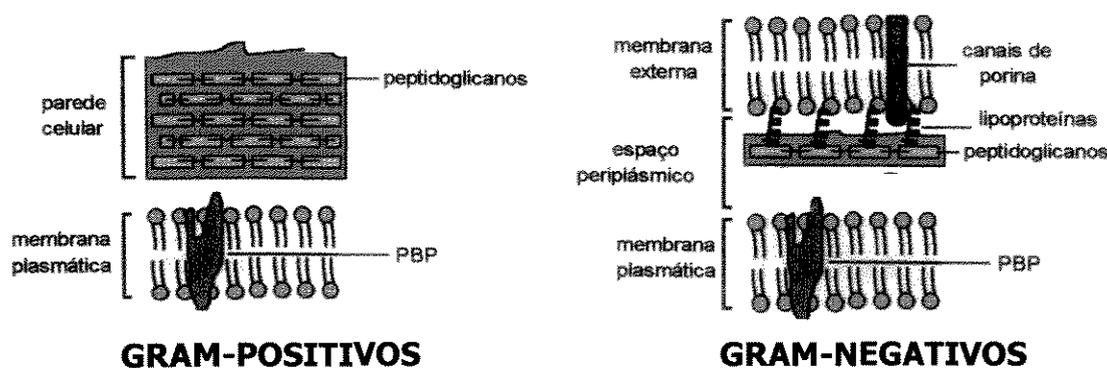


FIGURA 1 – Esquema da parede celular de bactérias.

FONTE – Adaptado de MIMS *et al.*, 1995.

## 2.7. Características macroscópicas das colônias

A avaliação das características macroscópicas das colônias é usualmente realizada por meio de inspeção visual do crescimento na superfície de placas de Petri contendo meios de cultura. Cada placa deve ser estudada minuciosamente, pois as bactérias inicialmente isoladas das amostras com frequência estão em

cultivo misto e pode haver uma variedade de tipos de colônias. As colônias puntiformes de bactérias que crescem lentamente podem passar despercebidas entre colônias maiores, em particular se estas últimas têm tendência a disseminar-se sobre a superfície da placa.

Durante o exame, as placas devem ser inclinadas em diversas direções sob uma iluminação direta e brilhante, de modo que a luz seja refletida a partir de vários ângulos. As placas de Agar sangue também devem ser examinadas por transiluminação de uma luz brilhante emanada por detrás da placa, para detectar as reações hemolíticas no Agar, auxiliando desta forma na identificação presuntiva dos microrganismos. O quadro a seguir fornece informações úteis para a descrição das colônias bacterianas.

## **2.8. Identificação dos microrganismos**

A maioria das provas utilizadas para avaliar a atividade bioquímica ou metabólica de bactérias, por meio das quais se pode fazer uma identificação final de espécie, é realizada mediante subcultivos do isolado primário em uma série de meios diferenciais, cujos resultados podem ser interpretados após um dia ou mais de incubação adicional (KONEMAN *et al.*, 2001)

As observações e interpretações iniciais das placas devem ser utilizadas para determinar se os microrganismos recuperados devem ser identificados ainda

mais, sendo importante a utilização de meios seletivos e a correta análise das características macroscópicas das colônias, assim como a Coloração de Gram (DE LA MAZA *et al.*, 2001).

Entretanto, as reações à coloração podem ser variáveis, sobretudo com colônias muito jovens ou muito velhas. A morfologia da maioria das bactérias coradas com Gram é mais característica quando os esfregaços são preparados a partir de um subcultivo com 18 a 24 horas, período na qual as células bacterianas se encontram na fase logarítmica de crescimento (KONEMAN *et al.*, 2001).

Podem ser efetuadas certas observações preliminares ou provas diretas rápidas em colônias selecionadas. Em muitos casos, um isolado pode ser identificado em um nível clinicamente útil com base apenas nessas avaliações. Por exemplo, a propriedade de bacilos gram-negativos de utilizar lactose pode ser avaliada de modo direto em agar MacConkey, observando a coloração vermelha da colônia; o crescimento de *S.aureus* pode ser detectado em meios cromogênicos *Chromagar*<sup>®</sup>, sendo caracterizado pela coloração roxa da colônia (CARRICAJO *et al.*, 2001).

Para a identificação de bactérias, inúmeros testes podem ser utilizados, tais como provas de catalase, provas de coagulase, hidrólise de hipurato, hidrólise de arginina, fermentação de Lactose, entre outros, sendo necessárias a utilização de tabelas padronizadas para a comparação dos resultados, até determinar a

espécie do microrganismo estudado (KONEMAN *et al*, 2001; DE LA MAZA *et al*, 2001).

## **2.9. Antimicrobianos**

A eficácia de um tratamento com qualquer antimicrobiano depende da correta identificação do microrganismo infectante e da escolha da droga mais eficaz através de testes exatos de susceptibilidade antimicrobiana (JACOBS & MYERS, 1983).

Os antimicrobianos devem ser escolhidos baseados na sua eficácia contra os patógenos presentes. Antes de iniciar a terapêutica antimicrobiana, o cirurgião-dentista precisa de informações para certificar se realmente existe uma infecção, e se ela é causada por bactérias, vírus ou fungos. Sinais clássicos de infecção, tais como eritema superficial, sudorese, trismo, febre ou linfadenopatia devem estar presentes (HANDAL *et al*, 2000).

Outro fator importante na escolha de um antimicrobiano é seu espectro de ação. De um modo geral podem ser divididos em antimicrobianos de pequeno espectro, ou seja, que são eficazes contra microrganismos gram-positivos ou negativos, mas não genericamente contra ambos e de amplo espectro, que são aqueles eficazes contra gram-positivos ou negativos, e também contra outros microrganismos (MONTGOMERY, 1991).

Porém, os antimicrobianos sozinhos não erradicam uma infecção. Eles devem ser considerados apenas como auxiliares importantes na terapêutica das infecções, destruindo os microrganismos (ação bactericida) ou apenas impedindo sua reprodução ou crescimento (ação bacteriostática). Quaisquer destas ações irão somente limitar o processo, criando condições para que o hospedeiro possa eliminar os agentes causais de uma maneira mais rápida e eficaz, através de seus mecanismos de defesa imunológica (ANDRADE, 1999).

Em relação à resistência das bactérias aos antimicrobianos, a literatura mostra que essa vem aumentando ao longo do tempo (MCLAUGHLIN *et al.*, 1998; LIVERMORE, 2000 e MATSUMOTO *et al.*, 2000) e isso ocorre principalmente quando esses microrganismos são coletados em ambientes clínicos hospitalares, conforme pode se observar em estudos recentes de LATORRE (1998), PRADO *et al.* (1998), DOERN *et al.* (1999) e CHAN-TACK (2001).

## **2.10. Resistência bacteriana**

De acordo com CARVALHO (1993) é possível estabelecer algumas correlações entre o uso de antimicrobianos e resistência bacteriana:

- a) A Antibioticoterapia pode predispor o indivíduo a infecções por cepas resistentes;

- b) Quanto mais antibióticos são usados, mais se selecionam cepas resistentes;
- c) Resistência bacteriana, de maneira geral, é muito mais freqüente em hospitais, pela presença de pacientes debilitados e em ambientes correlatos do que na comunidade;
- d) Antibioticoterapia altera a microbiota endógena e exerce "pressão seletiva" em favor de microrganismos resistentes.

Uma das mais importantes funções da microbiologia diagnóstica é a determinação da susceptibilidade dos patógenos aos agentes antimicrobianos. Alguns microrganismos são naturalmente resistentes aos agentes antimicrobianos, enquanto que outros são capazes de desenvolver ou de adquirir resistência (JACOBS & MYERS, 1983). Com a introdução dos primeiros quimioterápicos em terapêutica adveio também a resistência a eles. Paul Ehrlich, em 1907, descobriu a atividade antimicrobiana de um composto do arsênico, o atoxil. Neste mesmo momento ele observou e relatou o fato de que alguns microrganismos de uma mesma espécie eram resistentes ao tratamento (MEDEIROS *et al.*, 1987).

Com o descobrimento da penicilina por Alexander Fleming, houve o primeiro relato de resistência natural dos microrganismos aos antibióticos. Observou-se que a inibição na atividade da penicilina era promovida por uma enzima, dando a ela o nome de penicilinase (MEDEIROS *et al.*, 1987). Observou-se ainda que estafilococos anteriormente sensíveis tornaram-se resistentes à

penicilina, devido à produção de penicilinasas, caracterizando o primeiro relato de resistência adquirida à quimioterápicos (STRYNADKA *et al.*, 1994).

Define-se como resistente um microrganismo que não será inibido ou destruído por um agente antibacteriano em concentrações alcançadas *in vivo* após administração de doses terapêuticas (MIMS *et al.*, 1995). A resistência de microrganismos à quimioterápicos pode ser dividida em natural, quando há ausência de receptores para as drogas nas células ou impermeabilidade do mesmo (BERGOGLIO, 1993), ou adquirida, quando há o aparecimento de resistência a um ou mais antibióticos em uma população bacteriana originalmente sensível (TRABULSI, 1991).

Como a resistência bacteriana ocorre em consequência de alterações genéticas da célula bacteriana, quaisquer dos processos pelos quais a composição genética das bactérias é alterada podem ser envolvidos. Nas bactérias, essas alterações ocorrem: por mutação espontânea, transformação, transdução, transposição e conjugação cromossômica (MONTGOMERY, 1991).

a) **Mutação:** alteração que pode ocorrer de maneira espontânea ou não e que acontece no cromossomo bacteriano, levando à mudanças nas propriedades bioquímicas ou estruturais da bactéria (BERGOGLIO, 1993). Tal mecanismo é transmitido verticalmente, ou seja, da célula genitora às células filhas (TAVARES, 1996).

- b) **Transformação:** captação de fragmentos de DNA liberados de células rompidas e incorporados ao cromossomo da célula receptora, em uma região com uma seqüência básica semelhante (MONTGOMERY, 1991). Ocorre somente em bactérias da mesma espécie, além de ser incomum e de pouca importância (CALDWELL, 1995).
- c) **Transdução:** recurso de intercâmbio genético caracterizado pela transferência do material de uma bactéria à outra por meio de bacteriófagos, que utilizam o DNA da bactéria para sua multiplicação. Nesse processo podem incorporar ao genoma das novas partículas virais, fragmentos de DNA cromossômico ou plasmídeo da bactéria parasitada, que contenham genes de resistência sendo que ao parasitarem outras bactérias irão transferir esse gene (PAYNE *et al.*, 1992; PELCZAR *et al.*, 1996).
- d) **Transposição:** permite o intercâmbio do material genético, que pode ocorrer de um plasmídeo a outro, de um plasmídeo a cromossoma ou ainda de cromossoma a plasmídeo, tudo dentro de uma mesma bactéria. Essa transferência ocorre através dos transposons, ou seja, seqüências de DNA carregando genes de resistência (CARVALHO, 1993). São segmentos curtos de DNA e, assim sendo, carregam apenas pequena quantidade de informação, codificando resistência para duas ou no máximo três drogas (CALDWELL, 1995; PELCZAR *et al.*, 1996).

e) **Conjugação:** necessita da presença, em uma das bactérias, de um plasmídeo codificante de Fator F (fertilidade). Esse fator F proporciona à bactéria que o possui, a possibilidade de estabelecer um contato físico com outras bactérias e através de pilis ou fímbrias transfere material genético com o gene determinante de resistência (Fator R). Esse fenômeno é denominado conjugação. O plasmídeo de resistência, ou fator R, carrega genes de resistência múltipla, não somente a um antibiótico, mas a diversas drogas. Dessa forma, a pressão genética exercida por uma só droga pode levar um microrganismo a desenvolver resistência a outro grupo de drogas. Este processo de transferência de resistência é o mais freqüente, pois é favorecido pela pressão seletiva causada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos (REESE & BETTS, 1993).

As bactérias podem desenvolver resistência através de vários mecanismos, sendo que o mais conhecido é a produção de enzimas, das quais a produção de  $\beta$ -lactamase merece posição de destaque. É o mecanismo mais comum, altamente estável e da maior importância. Inativação enzimática é também um dos mecanismos de resistência aos aminoglicosídeos, sendo que esse é conferido pela produção de enzimas catalisadoras, tanto por fosforilação, como por acetilação ou adenilação. Também fazem parte dos mecanismos de resistência

bacteriana uma mudança na parede celular da bactéria, podendo alterar a aderência ou a permeabilidade dessa (JACOBS & MYERS, 1983).

Os organismos são descritos como susceptíveis quando, *in vitro*, são inibidos por uma concentração de um agente antimicrobiano que seja mais baixa do que as concentrações daquele agente no sangue dos pacientes tratados com doses usuais do agente. Os organismos resistentes não são inibidos, ou são inibidos em concentrações acima daquelas que são atingíveis clinicamente. Em alguns casos, os microrganismos são considerados com relativa ou parcialmente resistentes quando são mais susceptíveis a um agente antimicrobiano do que a maioria dos outros isolados semelhantes (JACOBS & MYERS, 1983).

A resistência aos antibióticos vem aumentando ao longo do tempo, conforme se observa em trabalhos recentes de BRANDILEONE *et al.* (1998), LATORRE (1998), MCLAUGHLIN *et al.* (1998), PRADO *et al.* (1998), DOERN *et al.* (1999), KRISTENSEN *et al.* (1999), PALENIK (2000).

Para relatar esse aumento no percentual de resistência com o passar dos anos podemos citar o trabalho de DOERN *et al.* (1999) onde isolados clínicos de *Streptococcus pneumoniae* foram colhidos de 34 centros médicos dos Estados Unidos, sendo que 24 desses centros já haviam participado de um estudo similar três anos antes. Foi observado que em 19 desses 24 centros médicos, o percentual de resistência à penicilina aumentou de 2, 9% para 39, 2%, quando comparados

com o estudo de 1999. E aumentos similares do percentual de resistência foram observados também para outros antimicrobianos pesquisados.

LATORRE (1998), realizou um estudo comparando a resistência de *Streptococcus pneumoniae* de cepas isoladas entre 1984 e 1985 com àquelas obtidas em 1994 e 1995, e observou 51% de resistência no primeiro período contra 61% durante o segundo, para a penicilina, enquanto que, para a eritromicina, o percentual de resistência foi de 6% contra 36%, respectivamente.

O percentual de resistência a um ou mais antibióticos também tem sido relatado na literatura. Para ADESIYUN *et al.* (1995), esse percentual foi de 75, 6% (de nove antimicrobianos testados), enquanto que para LILENBAUM *et al.* (1998) foi de 58, 2% (de sete antibióticos analisados). Em outro estudo, apenas 26,5% dos microrganismos foram resistentes a um ou mais antimicrobianos (FRICK *et al.*, 1998). HUEBNER *et al.*, 1998, isolaram *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* e observaram que 50% de cada microrganismos se mostrou resistente a pelo menos um antibiótico. Resistência a três ou mais antibióticos foi encontrada em menos que 10% por HUEBNER *et al.* (1998) e em 13% por DAGAN *et al.* (1998). Resistência múltipla, ou seja, microrganismos resistentes a duas ou mais classes de antibióticos, foi relatada por SKULL *et al.*, 1999, (17%), NASRIN *et al.*, 1999, (19%) e TURNIDGE *et al.*, 1999, (21, 2%).

## **2.11.Sensibilidade antimicrobiana**

FLEMING, em 1928, foi o primeiro a realizar um teste de sensibilidade antimicrobiana para o *Staphylococcus aureus* frente ao *Penicillium notatum*, embora a ação de um organismo inibindo o crescimento de outro fosse primeiramente observada por Van LEEUWENHOEK, em 1676 (BALOWS, 1974).

Muitos procedimentos, baseados na possibilidade de um agente antimicrobiano difundir-se por meio do ágar e inibir o crescimento de uma bactéria, foram descritos. CHAIN *et al.*, em 1940, sugeriram pela primeira vez o uso dos halos de inibição, inclusive em bases quantitativas, para medir a eficácia da penicilina. Em 1944, VINCENTE & VINCENTE usaram discos de papel de filtro impregnados com penicilina. Discos de papel, de 6, 35 mm de diâmetro, como os usados hoje, foram preconizados primeiramente por BONDI *et al.*, em 1947.

No passado os testes de sensibilidade bacteriana não eram padronizados. Em 1952, GOULD & BOWIE compararam os diâmetros dos halos produzidos com várias concentrações de agentes antimicrobianos incorporados aos discos de papel, em placas contendo meio de cultura semeados com microrganismos controle.

O desenvolvimento de um segundo microrganismo foi então examinado, em presença de um disco contendo uma única concentração de antibiótico, sendo

o diâmetro do halo de inibição desse grupo comparado com aquele produzido nas cepas controle.

STOKES, em 1955, descreveu um procedimento de difusão por meio do qual o diâmetro do halo de inibição produzido por um antimicrobiano em disco, sobre dois organismos puderam ser comparados na mesma placa com ágar. Em 1966, BAUER *et al.* propuseram o uso de um único disco de alta concentração para determinar a sensibilidade bacteriana, uma vez que, até então, os resultados obtidos com os métodos existentes geravam resultados discrepantes, não só pela metodologia usada como também pelas concentrações antibacterianas contidas nos discos.

Os primeiros trabalhos com o objetivo de padronizar a metodologia do antibiograma foram desenvolvidos pelo FDA (US-Food and Drug Administration)<sup>1</sup> e WHO (World Health Organization)<sup>2</sup>. Posteriormente uma padronização de consenso foi adotada entre as entidades anteriormente mencionadas e o NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards – USA), o qual à atualiza periodicamente.

---

<sup>1</sup> Federal register 1972. Rules and Regulations. Antibiotic susceptibility discs. Fed Regist. 37:20525-9 (Erratum, 38:2756, 1973).

<sup>2</sup> World Health Organization Expert Committee on Biological Standartization, 1977. Technical Report Series 610. WHO, Geneva.

### **2.11.1. Testes de Sensibilidade em Meio Sólido**

O agente geleificador do meio sólido usualmente empregado para o teste de sensibilidade é o ágar, ao qual são adicionados nutrientes selecionados dependendo das exigências nutricionais da espécie bacteriana que crescerá. O ágar é um complexo de substâncias naturais derivado de algas marinhas, que contém dois tipos de polissacarídeos - agarose e agarpectina - uma variedade de cátions metálicos, além outros elementos. É um gel composto primariamente de água, permitindo assim a difusão de substâncias das áreas de alta para baixas concentrações (KONEMAN *et al.*, 2001).

Para determinar a atividade de um agente antimicrobiano, muitos laboratórios fazem testes de difusão em ágar. O antibiótico pode ser aplicado à placa de Petri contendo o meio semeado, através de discos de papel, preparados e secos, contendo uma quantidade precisa da droga (PIDDOCK, 1990).

O antimicrobiano difunde-se de forma centrífuga, causando um gradiente com menor concentração à medida que se afasta do centro, onde está posicionado o disco, até ser insuficiente para inibir o crescimento. Este gradiente é afetado pela capacidade da droga se difundir no ágar e pela taxa de crescimento da bactéria, sendo que no limite do halo de inibição formado encontra-se uma população crítica de células bacterianas (PIDDOCK, 1990; KONEMAN *et al.*, 1992).

Devido à natureza do teste de difusão, são vários os fatores que o afetam. Tanto a concentração da droga no disco como o tamanho do inóculo, influenciarão na área final do halo de inibição (PIDDOCK, 1990).

Um inóculo de  $10^5$  unidades ufc/mL é usualmente empregado para o teste em caldo, enquanto que  $10^6$  ufc/mL é empregado para meio sólido, no Reino Unido. Na prática o inóculo deve ser preparado de uma cultura em caldo, que tenha sido incubada por 4 a 6 horas, dependendo do microrganismo, quando o crescimento é considerado como sendo de fase exponencial (PIDDOCK, 1990).

Para o teste de BAUER-KIRBY a densidade da suspensão é ajustada para cerca de  $10^8$  ufc/mL por comparação com padrão 0, 5 de McFARLAND (KONEMAN *et al.*, 2001). Os halos de inibição são medidos em milímetros (mm), em testes onde a profundidade ótima do ágar é de cerca de 4mm (BARRY & FAY, 1973).

O meio de crescimento empregado influencia profundamente a inibição. Para a maioria dos testes de sensibilidade tem-se usado o ágar Mueller Hinton ou outro especialmente formulado, que pode ser suplementado, quando necessário, com sangue ou produtos do sangue, os quais não tem efeito na atividade da maioria dos agentes antimicrobianos (BRENNER & SHERRIS, 1972).

No método de difusão em disco, usado para bactérias aeróbias de crescimento rápido, um inóculo padrão é distribuído sobre a superfície de uma

placa de Agar Mueller Hinton. Discos de papel impregnados com agentes antimicrobianos são colocados sobre a placa de Agar. Após incubação, a zona de inibição de crescimento ao redor de cada disco é medida e os resultados são comparados com os guias publicados pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS* (DE LA MAZA *et al.*, 2001).

Todos os meios são afetados pela sua composição, pH, temperatura e duração da incubação. A temperatura de incubação para a maioria dos testes é de 35-37°C, por 18 a 24 horas, propiciando um crescimento ótimo para a maior parte dos patógenos humanos (PIDDOCK, 1990).

Os diâmetros dos halos de inibição de cada agente são usualmente interpretados como "sensíveis", "resistentes" ou "intermediários". O termo "sensível" implica num organismo que responderá ao antibiótico teste, "resistente" aquele no qual a terapia será provavelmente ineficiente e "intermediário", aquele onde o organismo provavelmente responderá apenas quando altas concentrações do agente forem alcançadas (PIDDOCK, 1990).

Alguns erros comuns em testes de sensibilidade a antibióticos são (AMATO-NETO *et al.*, 1994):

- a) Não utilização do meio de ágar Mueller-Hinton;
- b) A preparação inadequada deste meio, principalmente falha no ajuste do pH;
- c) Temperatura inadequada tanto do meio como da atmosfera;

- d) Contaminantes externos;
- e) Erros na diluição e manuseio dos discos e/ou do meio;
- f) Demora entre a padronização da cultura e o inóculo no ágar;
- g) Erros na incubação e manuseio das placas;
- h) Erros na interpretação dos halos de inibição.

Finalmente, considerando que as clínicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba adotam a cadeia asséptica proposta por MATTOS FILHO *et al.*, 1997<sup>b</sup>, a importância e a abrangência do assunto demonstradas nesta revisão, fica claro que, indubitavelmente, o aproveitamento das metodologias apresentadas respaldadas pelas descobertas científicas que hoje se tem acesso, propiciaram a realização deste trabalho, com o intuito de trazer mais uma contribuição aos aspectos abordados, além de importante avaliação das condições de trabalho na clínica de Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP.

## **6. Proposição**

O trabalho teve por objetivos:

- a) Investigar o grau de contaminação de utensílios, materiais e equipamentos utilizados nas clínicas desta Faculdade;
- b) Determinar os locais de maior possibilidade de quebra da cadeia asséptica durante a execução dos procedimentos;
- c) Estudar o grau de resistência bacteriana dos microrganismos que forem encontrados, frente aos antibióticos de maior uso em odontologia.
- d) Determinar as espécies dos microrganismos mais prevalentes através de coloração de Gram , meios de cultura seletivos e testes bioquímicos.

## **4. Material e Método**

### **4.1. Material**

#### **4.1.1. Meios de Cultura**

Foram utilizados os seguintes meios de cultura:

- a) BHI<sup>1</sup> – Para a semeadura dos microrganismos totais e isolamento das unidades formadoras de colônias (ufc);
- b) MHA<sup>2</sup> – Para a realização dos testes de sensibilidade;
- c) Agar Saboraund<sup>3</sup> - Para crescimento de fungos;
- d) Salt Manitol agar<sup>4</sup> - Para crescimento de estafilococos;
- e) Mitis Salivarius agar<sup>5</sup> - Para crescimento de estreptococos;
- f) Chromagar<sup>6</sup> - Meio cromogênico para isolamento de *S. aureus*.

---

<sup>1</sup> B.H.I. – Infuso de Cérebro Coração – DIFCO

<sup>2</sup> M.H.A. – Ágar Muller Hinton – OXOID®

<sup>3</sup> Agar Saboraund – Merck®

<sup>4</sup> Salt Manitol Agar – Merck®

<sup>5</sup> Mitis Salivarius Agar – Merck®

<sup>6</sup> Chromagar Aureole – Meio cromogênico importado pela Probac

#### **4.1.2. Antibióticos**

Foram adquiridos discos de papel<sup>7</sup> para antibiograma, impregnados com os seguintes antimicrobianos :

- 1) Ampicilina 10 µg;
- 2) Amoxicilina 10 µg;
- 3) Amoxicilina (20 µg) + Ácido Clavulânico (10 µg);
- 4) Azitromicina 15 µg;
- 5) Cefadroxil 10 µg;
- 6) Claritromicina 15 µg
- 7) Clindamicina 2 µg;
- 8) Cloranfenicol 10 µg.
- 9) Eritromicina 15 µg ,
- 10) Penicilina G 10 unidades;
- 11) Oxacilina 1 µg
- 12) Vancomicina. 30 µg

---

<sup>7</sup> Discos de Papel para Antibiograma de 6, 35 mm de diâmetro – SENSIFAR-CEFAR®

## **4.2. Método**

### **4.2.1. Amostras**

O estudo foi realizado na Clínica Integrada de Graduação do 4º ano da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, Piracicaba, São Paulo. Os seguintes grupos envolvendo a superfície externa de utensílios, materiais e equipamentos foram constituídos para avaliação:

1. Grupo 1 - botões de acionamento da cadeira odontológica (n=10);
2. Grupo 2 - alça do refletor (n=10);
3. Grupo 3 - seringa tríplice da cadeira odontológica (n=10)
4. Grupo 4 - alça do aparelho raio X (n=02)
5. Grupo 5 - maçaneta da porta principal da clínica (n=02);
6. Grupo 6 - tecla "Enter" dos computadores (n=04).
7. Grupo 7 - luvas de látex utilizadas durante os trabalhos clínicos por docentes por dia (n=10);
8. Grupo 8 - luvas de látex utilizadas durante os trabalhos clínicos por alunos por dia (n=10).

Foram realizadas 6 colheitas de amostras, em duplicatas, sendo cada uma constituída por 3 colheitas em 3 períodos distintos do dia: antes do início de qualquer procedimento clínico (6h30 min), durante os procedimentos clínicos (14h)

e 1 hora após o término dos procedimentos clínicos, antes da entrada da equipe de limpeza da Clínica (18 h 30 min). Foram considerados três diferentes ambientes clínicos: clínica de atendimento a adultos, clínica de atendimento a pacientes infantis (Odontopediatria) e plantão de urgência.

Para os grupos 4 e 5 foram considerados apenas dois locais: Clínica de Adulto e Clínica de Odontopediatria. Isso ocorreu devido ao fato de que os locais analisados nesses grupos (canhões de raio-X e maçaneta da porta) são partes comuns da Clínica para uso simultâneo dos alunos do Serviço de Plantão e das Clínicas já referidas. Entretanto, quanto aos períodos de atividade clínica, esses grupos foram comparados igualmente aos demais.

Em relação ao grupo 6, foram colhidas amostras das teclas "Enter" dos computadores usados pelos alunos. Essas teclas foram escolhidas devido ao fato de que os alunos, após a realização dos atendimentos, registram os procedimentos realizados no dia nesses computadores. Após cada procedimento processado, as teclas "Enter" são acionadas para o processamento final desses procedimentos, portanto, sendo obrigatório o acionamento dessas teclas pelos alunos.

Para os grupos 7 e 8, as colheitas antes da atividade clínica foram realizadas quando os alunos e professores colocavam as luvas, e as colheitas após a atividade clínica foram realizadas antes do descarte das mesmas. Quanto ao período durante a atividade clínica, as colheitas foram realizadas juntamente com as colheitas dos demais grupos. As cadeiras odontológicas analisadas neste

trabalho obedeceram a uma distribuição a mais simétrica possível em relação aos aparelhos de ar-condicionado da Clínica, conforme figura 2.

#### **4.2.2. Colheita das Amostras**

As amostras foram colhidas através da técnica de esfregação utilizando swabs esterilizados (HORIBA *et al.*, 1995) embebidos em 0,1 mL de solução de Cloreto de Sódio a 0,9% estéril (NaCl 0,9%). Estes foram friccionados nos locais mencionados anteriormente através de movimentos padronizados (vai e vem em uma única vez). Após este procedimento, as pontas dos swabs eram cortadas com tesouras esterilizadas e colocadas em tubos tipo Eppendorf, contendo 0,9 mL de NaCl 0,9% estéril, sofrendo portanto uma diluição de 10x.

#### **4.2.3. Contagem das Amostras**

Cinco minutos após a colheita, as amostras foram sonicadas<sup>8</sup> com amplitude de 5%, em intervalos de 5 segundos durante 59 segundos. Uma

---

<sup>8</sup> Vibracell Co. <sup>8</sup> Brain Heart Infusion – Difco Co..



alíquota de 10 µL foi retirada do Eppendorf com 1, 0 mL da amostra (diluição de 100x) e distribuída em placas de Petri com 15 cm de diâmetro contendo 10 mL de meio BHI ágar<sup>9</sup>. As placas foram incubadas em estufa de aerobiose a 37°C, durante 24 horas e, outras placas com o mesmo material colhido foram incubadas em estufa com CO<sub>2</sub> a 10%, a 37°C, durante 48 horas. Para cada colheita realizada, 10 tubos com 1, 0 mL de solução de Cloreto de Sódio a 0, 9% estéril foram submetidos aos mesmos procedimentos citados anteriormente (grupo controle).

Os resultados encontrados referentes aos números de colônias foram expressos em ufc x 10<sup>3</sup> /mL, devido à amostra ter sofrido uma diluição de 1000x (primeiramente uma diluição de 10x na colheita da amostra, e posteriormente uma diluição de 100x na distribuição da amostra nas Placas de Petri para incubação).

Após o período de incubação, realizou-se a leitura do número total de colônias (ufc) e a fotografia das placas. Para a quantificação foi utilizada a técnica da contagem manual auxiliada por uma lupa estereoscópica<sup>10</sup>. As características macroscópicas foram anotadas e cada colônia diferenciada foi fotografada. Para a análise morfológica das colônias foram avaliadas as seguintes características:

---

<sup>10</sup> Lupa Estereoscópica - 4 a 32 vezes de aumento –Stemi SV6, ZEISS®

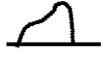
1. *Tamanho*: diâmetro em milímetros;
2. *Cor*: branca, amarela, negra, marrom, alaranjada, etc.;
3. *Superfície*: brilhante, opaca, rugosa, lisa, etc.;
4. *Densidade*: opaca, translúcida, transparente, etc.;
5. *Consistência*: butirosa, viscosa, membranosa, quebradiça, etc.

(KONEMAN *et al.*, 2001)

O quadro a seguir demonstra outras características que foram utilizadas para a análise morfológica das colônias bacterianas encontradas.

QUADRO 2

Características macroscópicas utilizadas para a descrição de colônias bacterianas

FORMA	Puntiforme		Irregular	
	Circular		Rizóide	
	Filamentosa		Fusifforme	
ELEVAÇÃO	Plana		Monticular	
	Elevada		Umbiliforme	
	Convexa		Umbilicada	
MARGEM	Inteira		Crenada	
	Ondulada		Filamentosa	
	Lobada		Ondeada	

Adaptado de KONEMAN *et al.*, 2001

Com o auxílio de alça de platina flambada, retirou-se uma amostra de cada colônia diferente, que foi inoculada em um tubo de ensaio contendo 10mL de BHI e submetido às mesmas condições de cultura descritas anteriormente.

Decorrido o período de incubação, os microrganismos desenvolvidos no caldo de BHI, provenientes das colônias, foram inoculados em estrias em Placas de Petri contendo BHI, e submetidos novamente às mesmas condições de cultura, obtendo-se assim, cultura pura . Uma alçada de cada colônia foi depositada sobre uma gota de água destilada estéril que havia sido previamente colocada em lâmina histológica. O esfregaço foi fixado pelo calor com o auxílio do Bico de Bunsen, submetida à Técnica de Coloração de Gram, e examinada ao microscópio<sup>11</sup> com aumento de 1000 vezes.

#### **4.2.4. Identificação dos Microrganismos**

A identificação presuntiva dos microrganismos segundo KONEMAN 2001, é baseada nas análises das características de crescimento das colônias, da sua morfologia e da análise citológica através da técnica de Coloração de Gram (CARDOSO *et al.*, 1999).

---

<sup>11</sup> Microscópio Óptico, com aumento de 10x100 – OLYMPUS® (CBA) 10X100 - ZEISS®

Uma vez realizada a coloração de Gram, os microrganismos foram observados ao microscópio, separados em grupos de acordo com o gênero e fotografados<sup>12</sup>.

Após a realização da Técnica de Gram, os microrganismos foram novamente inoculados em tubos de ensaio contendo BHI caldo, e incubados a 37°C por 24 horas. De acordo com os gêneros obtidos através da Coloração de Gram, foram submetidos aos testes bioquímicos para a identificação das diferentes espécies, de acordo com KONEMAN *et al*, 2001 e DE LA MAZA *et al*, 2001.

Foram utilizados diferentes testes e materiais para a identificação, tais como:

1. Teste de Catalase: para identificação presuntiva de estreptococos e estafilococos;
2. Teste de Coagulase: para diferenciação entre estafilococos;
3. Crescimento em Salt Manitol Agar: para diferenciação de *S.aureus*;
4. Teste de Fosfatase: para diferenciação de *S. epidermidis*;
5. Teste de Hidrólise de Arginina: para diferenciação entre estreptococos;
6. Teste de Hidrólise de Esculina: para diferenciação entre estreptococos e bacilos;

---

<sup>12</sup> Huper HAD. Color Video Câmara Digital - SONY® SSC – DC 54, acoplada a um microscópio óptico

7. Teste de Lactose: para diferenciação entre estreptococos e bacilos;
8. Teste de sensibilidade a Bacitracina: para diferenciação entre estreptococos e estafilococos;
9. Crescimento em Meio enriquecido com peróxido de Hidrogênio: para diferenciação entre estreptococos;
10. Prova de Hemólise: para diferenciação dentro dos próprios gêneros;
11. Teste de solubilidade da Bile: para identificação de *S.pneumoniae*;
12. Tese de Hidrólise do Hipurato: : para diferenciação entre estreptococos e bacilos;
13. Teste de Hidrólise de Uréia: para diferenciação de bacilos;
14. Teste de sensibilidade à novobiocina: para diferenciação de estafilococos coagulase-negativos.

Para a identificação de *S. aureus* também foram utilizadas placas de Petri contendo meio cromogênico *Chromagar*<sup>®</sup>. Nesse meio, o crescimento positivo de *S. aureus* é indicado pela coloração roxa da colônia. Após a realização de todos os testes, foram anotados os resultados e comparados para a descrição final das espécies de microrganismos encontradas (KONEMAN *et al.*, 2001 e DE LA MAZA *et al.*, 2001). Para os testes em meio sólido, foi utilizado um Replicador de *Stears*.

A Figura 3, mostra esquematicamente os procedimentos descritos anteriormente.

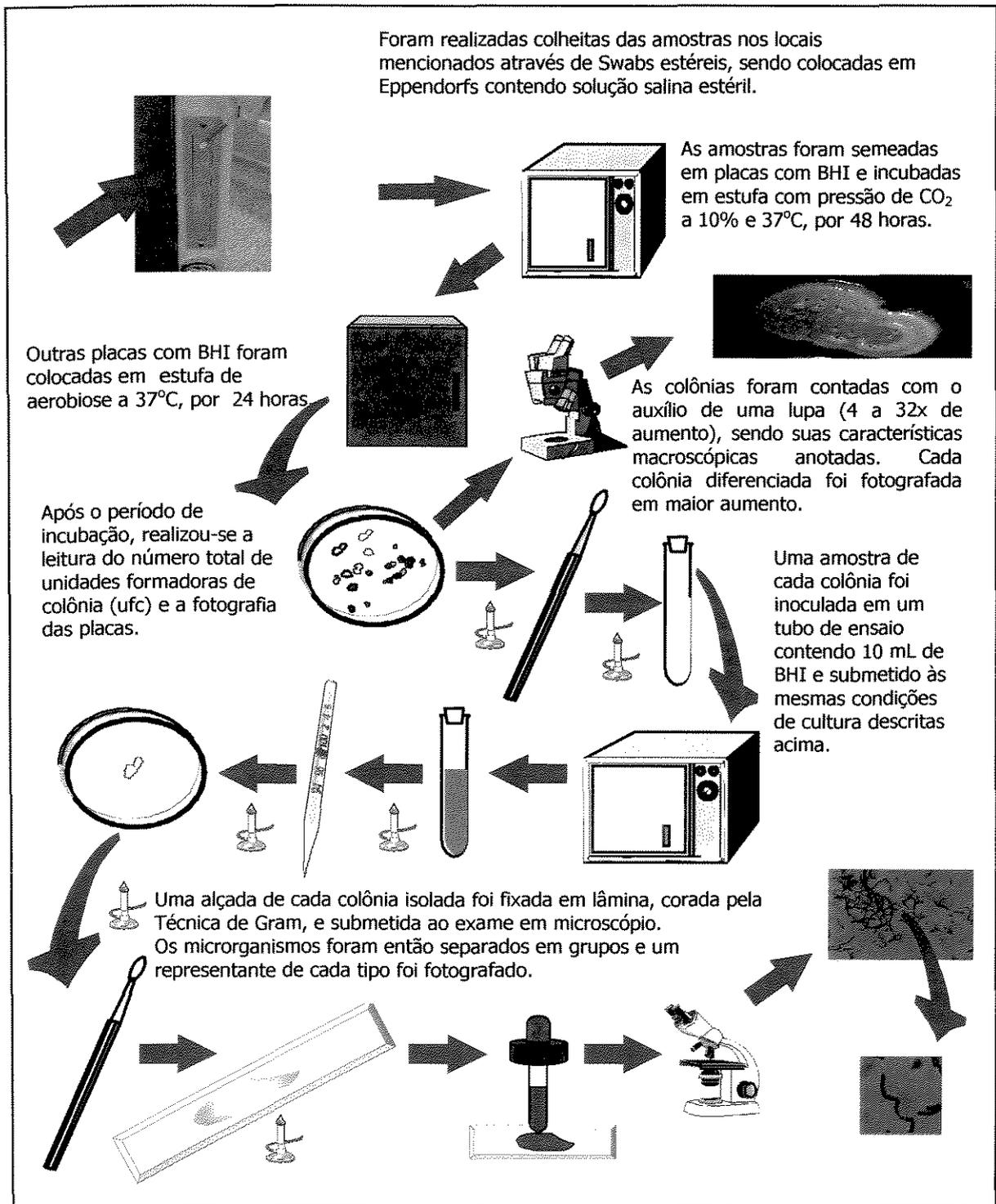


Figura 3 – Esquema da metodologia de colheita e manutenção das cepas. Identificação presuntiva dos microrganismos.

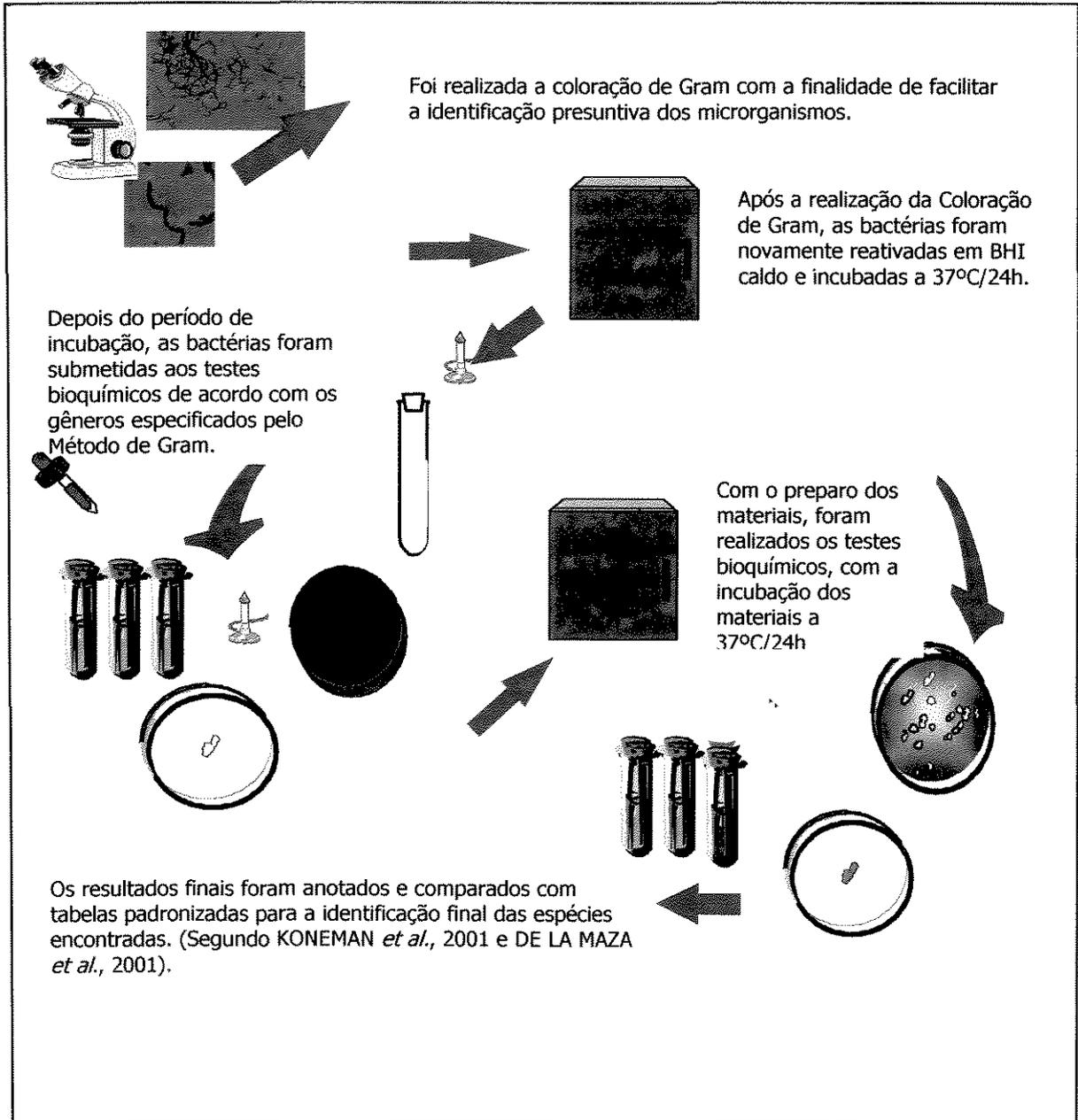


Figura 4 – Esquema da metodologia para a identificação das espécies dos microrganismos.

#### **4.2.5.Obtenção da concentração de $10^8$ ufc/mL das cepas**

Para a obtenção da concentração de  $10^8$  ufc/mL das cepas e realização dos antibiogramas, foram seguidas as seguintes etapas:

- a) Com o auxílio da alça de platina, foi retirada uma alçada das placas que continham cada colônia e foi depositada em um tubo com 5mL de solução de cloreto de sódio a 0, 9% até obtenção de uma suspensão bacteriana com densidade óptica de 60% de transmitância, com o espectrofotômetro<sup>13</sup> previamente zerado com água destilada e deionizada, ajustado para 800nm de comprimento de onda. O padrão de sulfato de bário, de 0, 5 na escala de MacFARLAND (correspondente à densidade de  $10^8$ ) deve proporcionar uma leitura de 80% de transmitância quando seguidos estes ajustes (adaptado de GROPPPO, 1996).
- b) Foi colocada uma alíquota de 0, 1mL da amostra de  $10^{10}$  ufc/ml em frascos estéreis, com tampa, contendo 22mL de MHA também esterilizado e adicionado de 1, 5% de sangue de carneiro desfibrinado e estéril, com temperatura de 45°C, o qual foi, após agitação, distribuído em placas de Petri de 15cm de diâmetro.
- c) Aguardou-se a completa geleificação do meio em temperatura ambiente, e então, na superfície do meio, foram depositados com o auxílio de uma pinça

---

<sup>13</sup> Espectrofotômetro – Spectronic 20 – Bausch & Lomb

estéril, os discos de papel contendo os antimicrobianos. Foi necessário fazer uma leve pressão sobre eles para uma boa aderência ao meio e manter uma distância entre os discos com no mínimo 24mm de centro a centro.

- d) Após a colocação dos discos, as placas fechadas foram colocadas em estufa de aerobiose a 37°C, durante 24 horas.
- e) Passado esse período foi realizada a leitura dos halos de inibição com o auxílio de um paquímetro<sup>14</sup>. A leitura foi feita medindo-se o diâmetro da zona de inibição, incluindo o diâmetro do disco. O limite final da zona de inibição foi considerado quando nenhum crescimento visível a olho nu foi observado. Colônias grandes que cresceram dentro dos halos de inibição foram novamente cultivadas, identificadas e testadas.

#### **4.2.6. Avaliação da Resistência aos Antimicrobianos**

Para avaliação da resistência foram comparados os diâmetros das zonas de inibição àqueles especificados na Tabela do fabricante (SENSIFAR-CEFAR®) sendo utilizada a classificação: sensível, intermediário ou resistente. O Quadro 3 e a Figura 4 mostram os padrões interpretativos dos halos de inibição e a metodologia utilizada para a realização do antibiograma, respectivamente.

<sup>14</sup>Starret

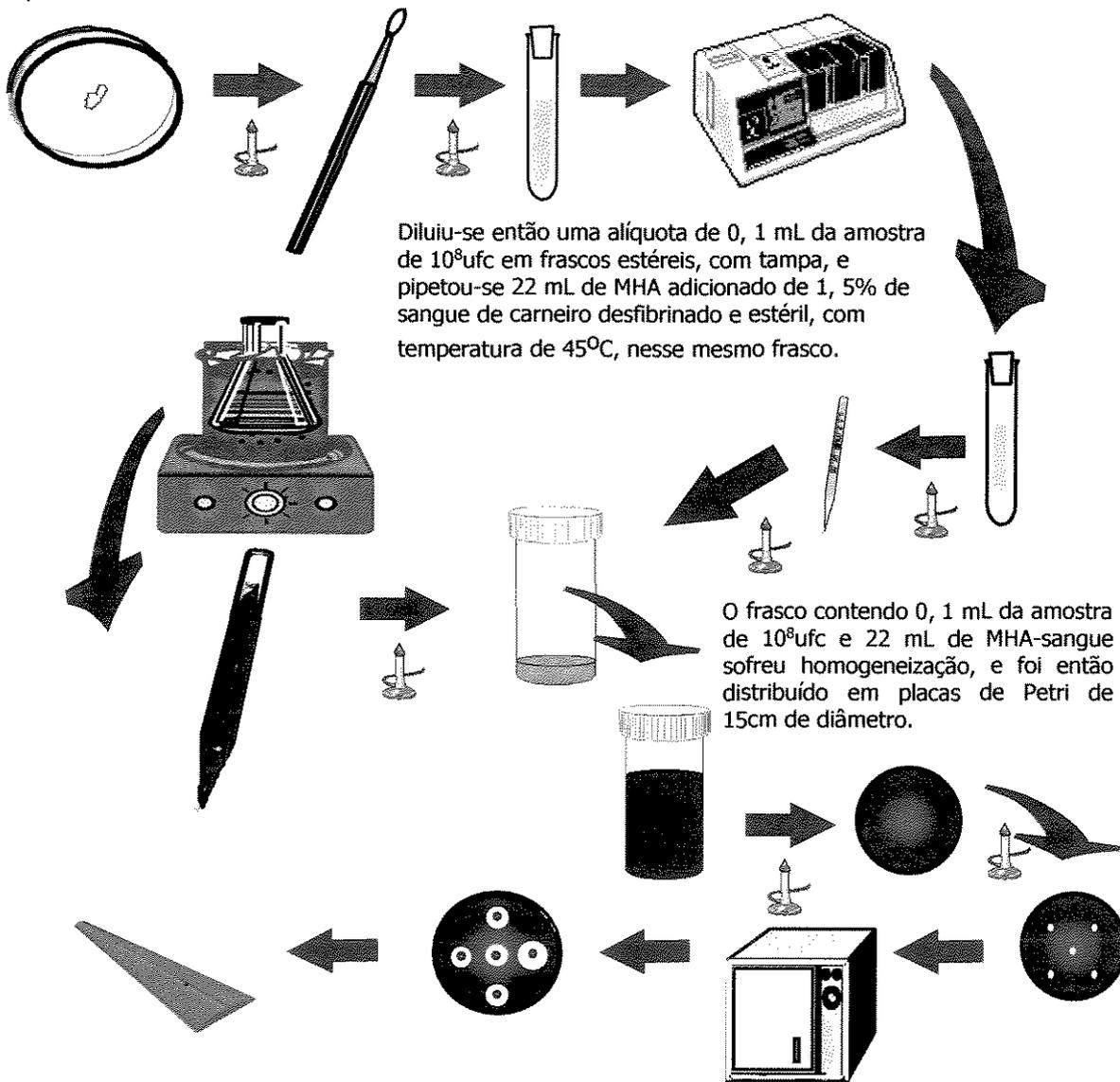
QUADRO 03

Padrões Interpretativos das medidas dos Halos de Inibição (em mm).

Antibacterianos	Padrão Interpretativo Zona de Inibição em mm		
	Resistente	Intermediário	Sensível
<b>Amoxicilina + Ácido Clavulânico 20/10 µg</b>			
Estafilococos	≤ 19	-	≥ 20
Outros Organismos	≤ 13	14-17	≥ 18
<b>Ampicilina 10 µg</b>			
Estafilococos	≤ 28	-	≥ 29
Outros Organismos	≤ 21	22-29	≥ 30
<b>Azitromicina 15 µg</b>	≤ 13	14-17	≥ 18
<b>Claritromicina 15 µg</b>	≤ 13	14-17	≥ 18
<b>Clindamicina 2 µg</b>	≤ 14	15-20	≥ 21
<b>Cefadroxil 30 µg</b>	≤ 14	15-17	≥ 18
<b>Cloranfenicol 30 µg</b>	≤ 12	13-17	≥ 18
<b>Eritromicina 15 µg</b>	≤ 13	14-22	≥ 23
<b>Penicilina G 10UI</b>			
Estafilococos	≤ 28	-	≥ 29
Outros Organismos	≤ 21	20-27	≥ 28
<b>Amoxicilina 10 µg</b>			
Estafilococos	≤ 28	-	≥ 29
Outros Organismos	≤ 21	22-29	≥ 30
<b>Oxacilina 1 µg</b>			
Estafilococos	≤ 10	11-12	≥ 13
Outros	≤ 19		≥ 20
<b>Vancomicina 30 µg</b>	≤ 9	10-11	≥ 12

FONTE – SENSIFAR-CEFAR®; NCCLS 1999.

Foi colhida uma alçada de cada colônia e diluída em um tubo contendo 5 ml de solução de cloreto de sódio a 0, 9% até a obtenção de uma suspensão bacteriana com densidade óptica de 60% de transmitância, com o espectrofotômetro previamente zerado com água destilada e deionizada, ajustado para 800 nm de comprimento de onda.



Diluiu-se então uma alíquota de 0, 1 mL da amostra de  $10^8$ ufc em frascos estéreis, com tampa, e pipetou-se 22 mL de MHA adicionado de 1, 5% de sangue de carneiro desfibrinado e esteril, com temperatura de 45°C, nesse mesmo frasco.

O frasco contendo 0, 1 mL da amostra de  $10^8$ ufc e 22 mL de MHA-sangue sofreu homogeneização, e foi então distribuído em placas de Petri de 15cm de diâmetro.

Aguardou-se a completa solidificação do meio em temperatura ambiente, e então foram depositados com o auxílio de pinça estéril, discos de papel impregnados com concentrações conhecidas de antibióticos. Após a colocação dos discos, as placas fechadas foram invertidas e colocadas em estufa de aerobiose a 37°C, durante 24 horas. Passado esse período foram medidos os halos com o auxílio de um paquímetro, e os resultados foram anotados.

Figura 5 – Esquema da metodologia utilizada para a realização do Antibiograma

#### **4.2.7. Congelamento das Colônias**

Após a contagem do número de colônias e anotadas suas características macroscópicas, cada colônia foi congelada. Do tubo de BHI caldo, contendo o microrganismo, após agitação em agitador tipo Vortex, foi retirado 500  $\mu$ L para ser depositado em um Eppendorf contendo 500  $\mu$ L de Glicerol 40%. De cada colônia foram feitas pelo menos 5 amostras para o congelamento.

#### **4.2.8. Análise Estatística**

As contagens do número de microrganismos ( $\text{ufc} \times 10^3/\text{mL}$ ) obtidas nos períodos de estudo (antes, durante e após os procedimentos) em cada ambiente (clínica de adulto, infantil e plantão) e dentro de cada grupo, foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis e comparações múltiplas (nível de significância = 5%).

O grau de sensibilidade para cada antimicrobiano, bem como os gêneros e espécies das bactérias encontradas foram expressos em porcentagem.

## **5. Resultados**

Em todos os grupos, independentemente dos períodos ou dos ambientes clínicos analisados, houve crescimento de microrganismos. Fungos foram observados, principalmente nas colheitas realizadas nos canhões de raio-x, em todas as situações (antes, durante ou depois dos procedimentos clínicos). Porém, como não foi objetivo desse trabalho identificá-los, eles serão apenas mencionados em porcentagem de placas de Petri em que se desenvolveram.

No total das colheitas realizadas, houve o crescimento de 21.682 ufc. Destas, foram agrupadas 1.071 ufc diferentes, após análise das características morfológicas das colônias obtidas e Coloração de Gram, das quais foram retiradas amostras que foram submetidas ao Teste de sensibilidade bacteriana. Após esses procedimentos, as colônias puderam ser separadas em grupos de acordo com suas características (para posterior identificação bioquímica), obtendo assim um total de cada gênero de microrganismo que cresceu, nos diferentes períodos de atendimento, conforme Gráficos 1, 2 e 3.

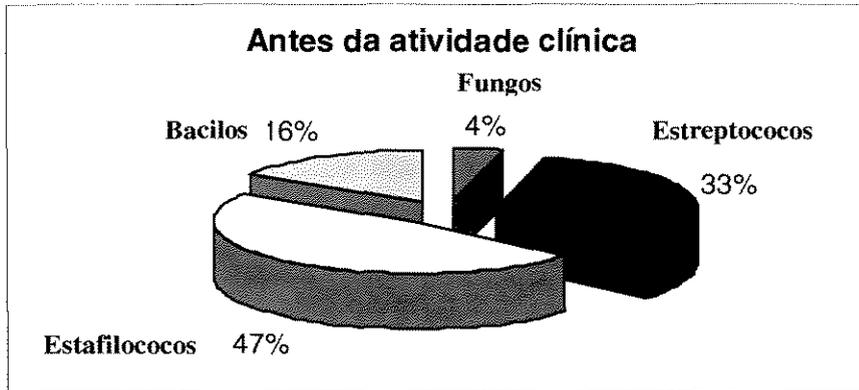


GRÁFICO 1 – Porcentagem de gêneros de microrganismos colhidos antes da atividade clínica.

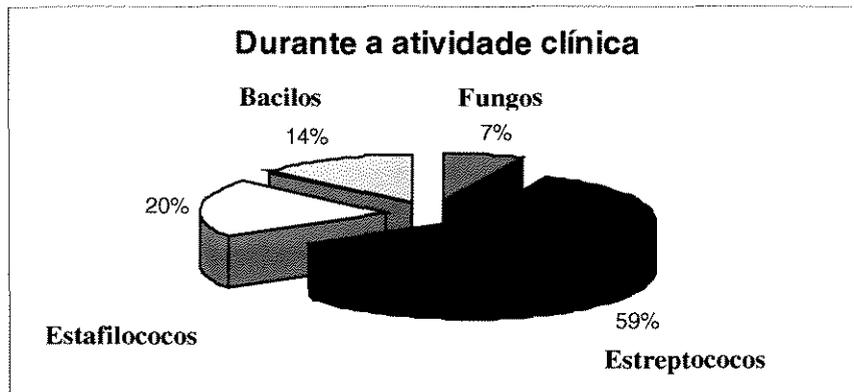


GRÁFICO 2 – Porcentagem de gêneros de microrganismos colhidos durante a atividade clínica.

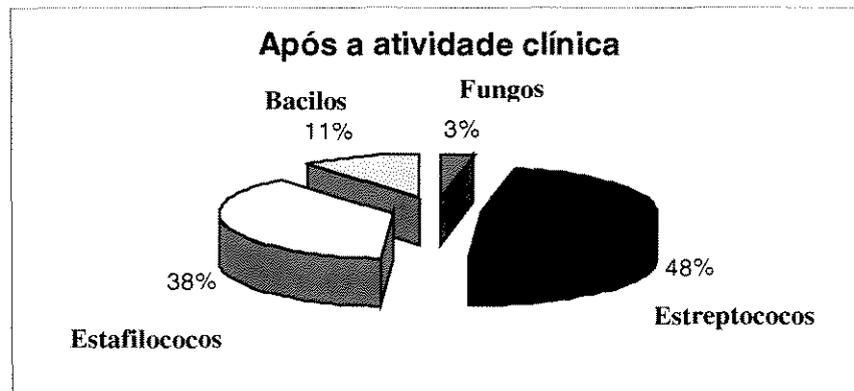


GRÁFICO 3 – Porcentagem de gêneros de microrganismos colhidos após a atividade clínica.

## Resultados

Quando observadas separadamente as situações clínicas, foi notado um maior crescimento de microrganismos durante a atividade clínica, independentemente dos locais analisados. A seguir são representadas as médias obtidas nas colheitas dos diversos locais e materiais analisados, sendo comparados entre si os diferentes períodos (antes, durante e depois das atividades clínicas).

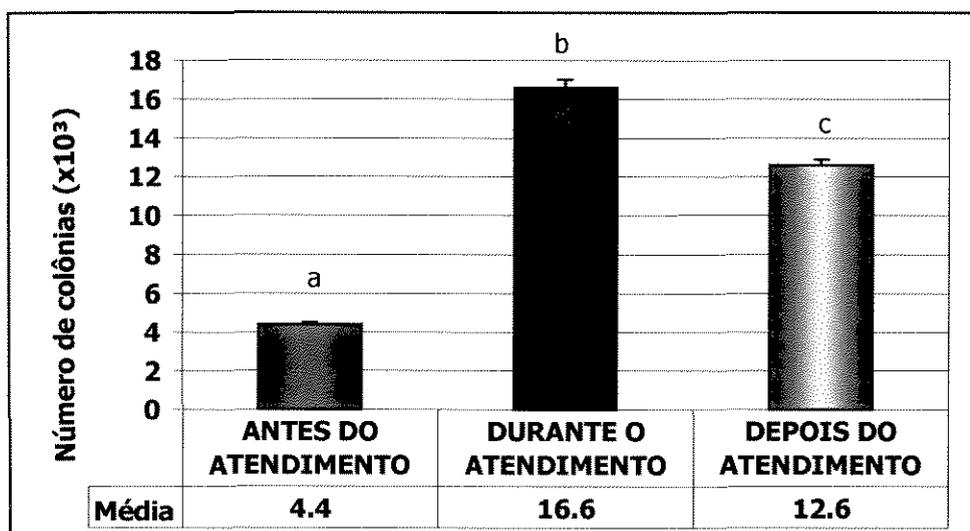


GRÁFICO 4 – Médias obtidas do crescimento dos microrganismos, por situação. Letras distintas (a,b,c) indicam diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Dentre os grupos analisados, em todos foi observado crescimento de microrganismos, principalmente no período durante a atividade clínica (com exceção do grupo 5, que teve uma distribuição mais homogênea dos resultados). O grupo que apresentou maior contaminação (número de colônias) foi o Grupo 1 (Botão da Cadeira Odontológica), principalmente no serviço de plantão de urgência, sendo estatisticamente significativa, quando comparado aos demais,

## Resultados

como pode ser observado no gráfico a seguir, com as médias obtidas para esse grupo ( $p < 0,05$ ).

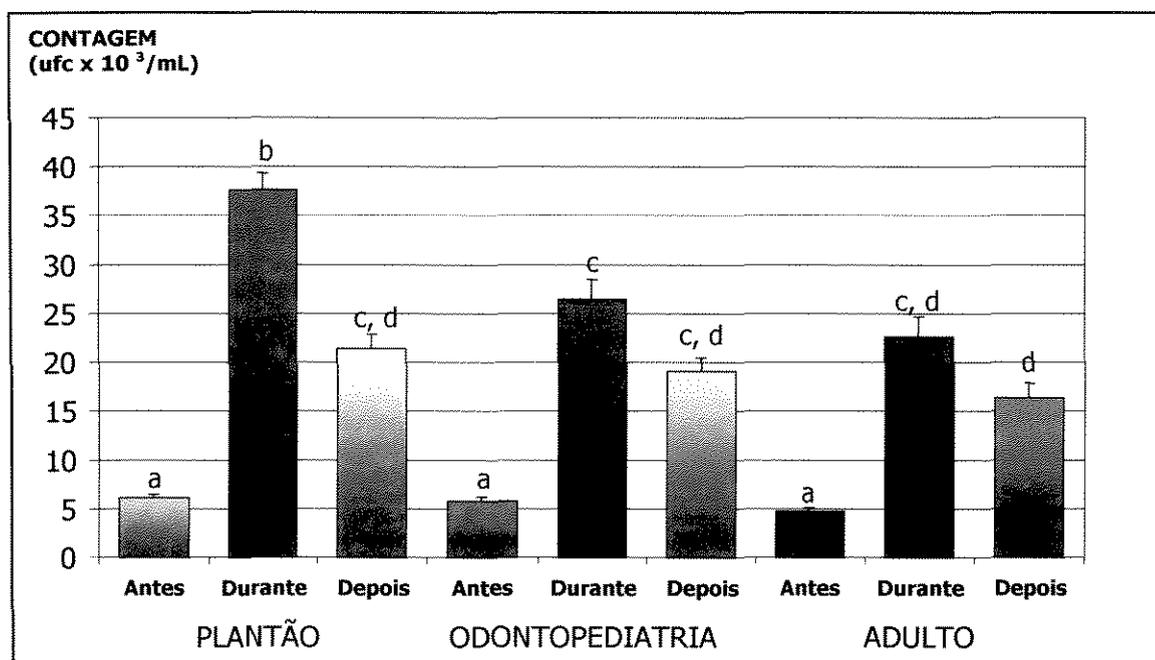


GRÁFICO 5 – Médias das colônias obtidas dos botões de cadeira odontológica (Grupo 1).

Os grupos 2 e 3 também apresentaram uma acentuada quantidade de colônias, principalmente nas colheitas realizadas durante a realização das atividades clínicas. Em ambos foi observado um maior crescimento de microrganismos no serviço do plantão de urgência assim como não houve diferença estatisticamente significante quando comparados os períodos antes das atividades clínicas. Os Gráficos a seguir (6 e 7) mostram os resultados obtidos nesses grupos.

## Resultados

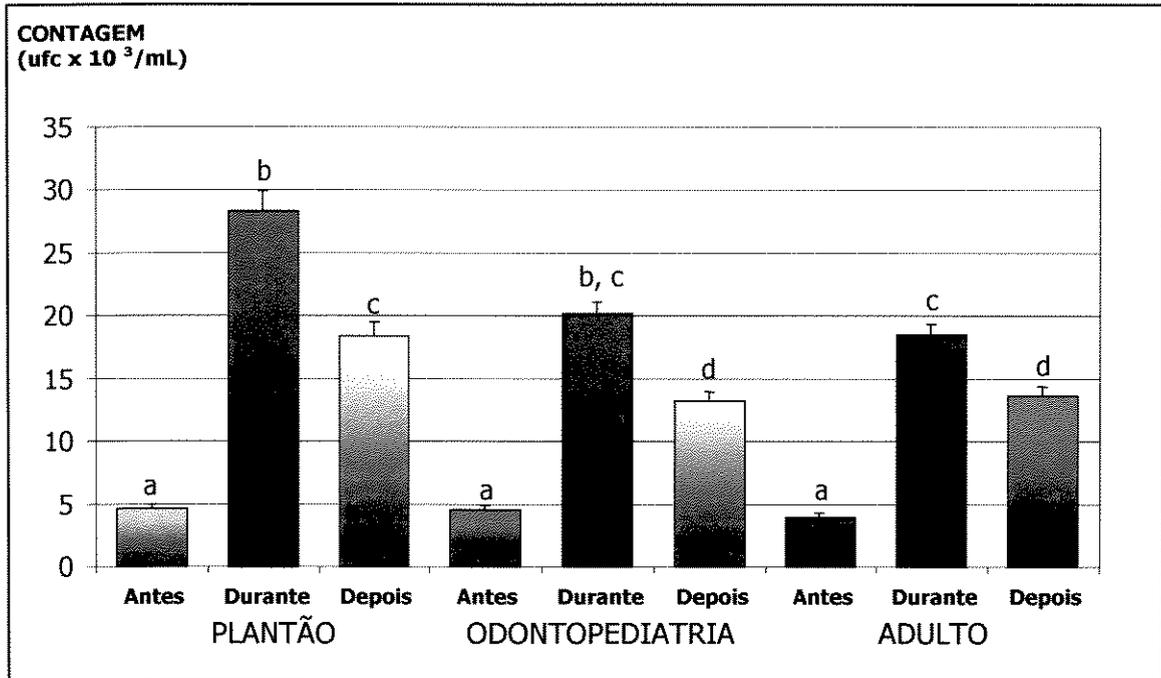


GRÁFICO 6 – Médias das colônias obtidas das alças dos refletores (Grupo 2).

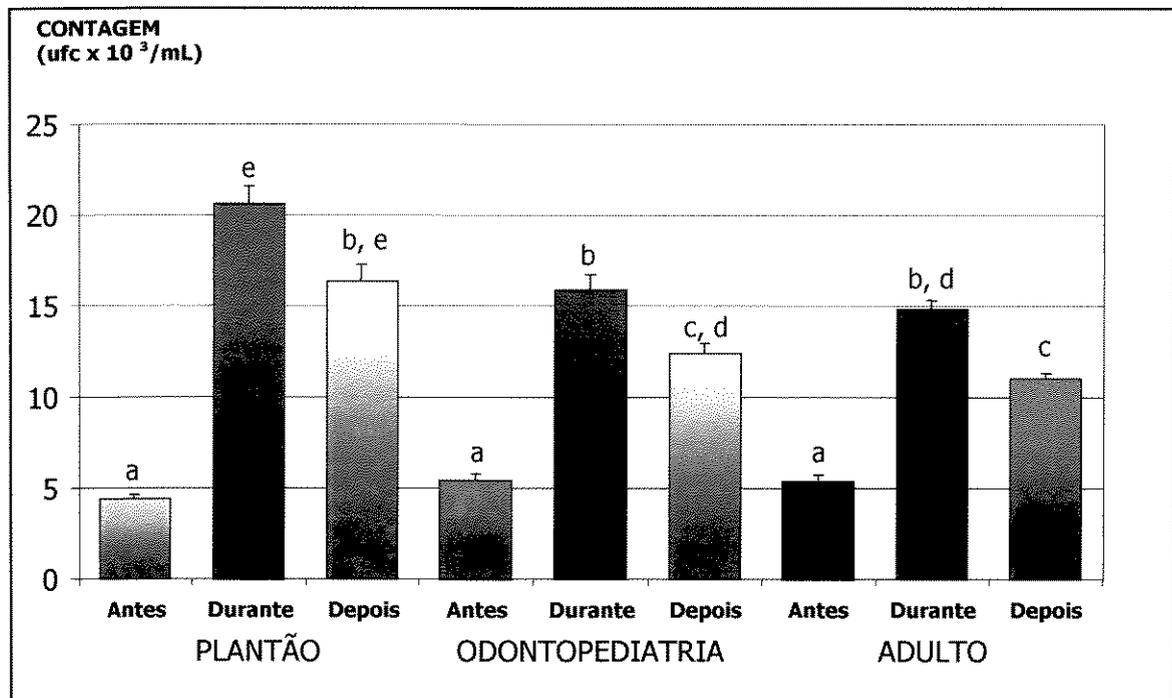


GRÁFICO 7 – Médias das colônias obtidas das seringas tríplexes (Grupo 3).

## Resultados

Como citado anteriormente, para os grupos 4 e 5 foram considerados apenas dois locais: Clínica de Adulto e Clínica de Odontopediatria. Entretanto, quanto aos períodos de atividade clínica, esses grupos foram comparados igualmente aos demais. Para o grupo 4, não houve diferença estatisticamente significativa quando comparado os períodos antes das atividades clínicas, porém este grupo apresentou um aumento acentuado de contaminação nos períodos durante e depois das atividades clínicas, independentemente da clínica estudada. Os gráficos 8 e 9 mostram os resultados obtidos para esses grupos ( $p < 0,05$ ).

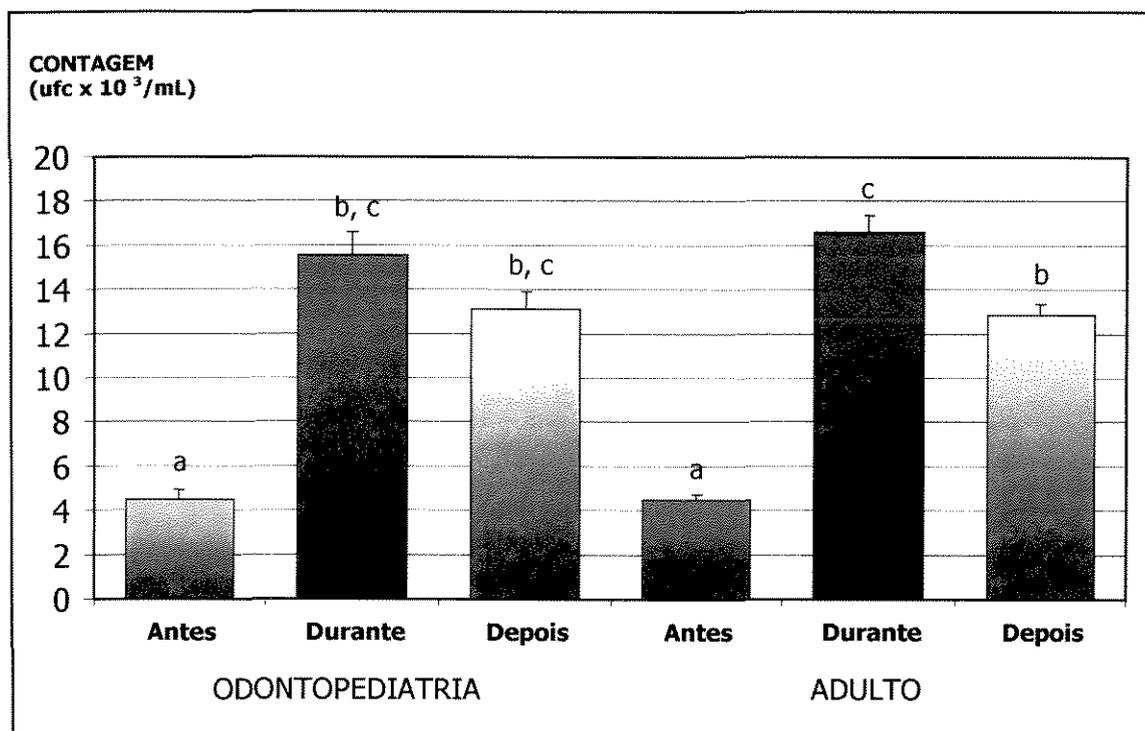


GRÁFICO 8 – Médias das colônias obtidas dos canhões de Raio-x (Grupo 4).

O grupo 5 apresentou distribuição mais homogênea dos resultados obtidos, diferentemente dos demais grupos, que apresentaram um maior

## Resultados

crescimento do número de colônias durante as atividades clínicas. Praticamente não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os períodos entre si, exceção feita ao período antes das atividades clínicas da clínica de atendimento a adultos ( $p < 0,05$ ).

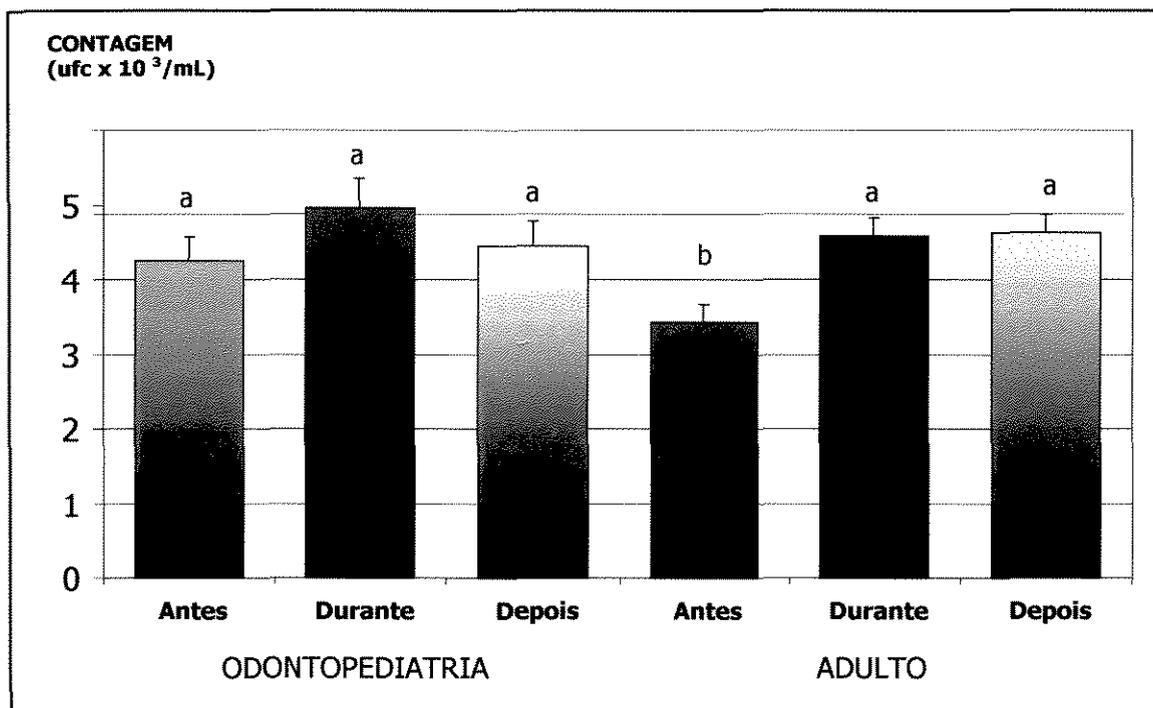


GRÁFICO 9 – Médias das colônias obtidas das maçanetas da porta de entrada principal da Clínica de Graduação (Grupo 5).

Em relação ao grupo 6, foram coletadas amostras das teclas "Enter" dos computadores usados pelos alunos. Nesse grupo, o maior número de colônias foi observado na Clínica de Odontopediatria durante as atividades clínicas. Praticamente não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os períodos antes e durante as atividades clínicas. Além disso, foi

## Resultados

observada durante a realização das colheitas que alguns alunos utilizavam os computadores usando luvas de procedimento, propiciando assim uma maior contaminação aos mesmos.

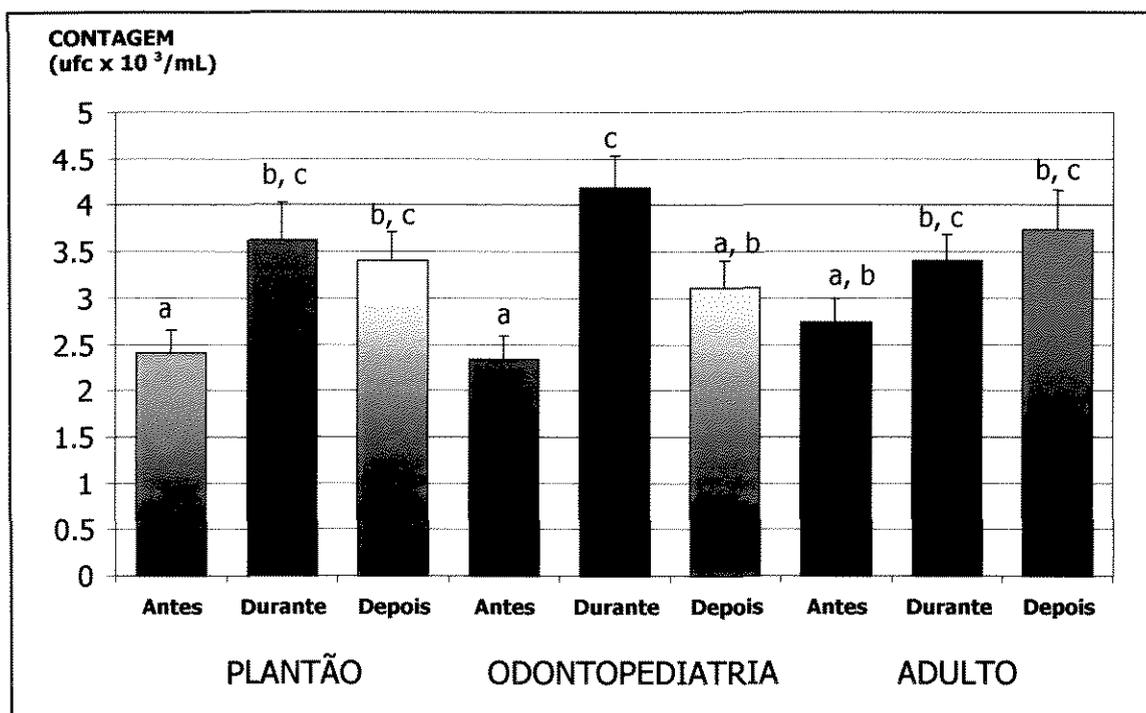


GRÁFICO 10 – Médias das colônias obtidas das teclas "Enter" dos computadores (Grupo 6).

Para os grupos 7 e 8, as amostras foram colhidas das luvas de discentes e docentes. Para ambos os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os períodos antes das atividades clínicas, embora as luvas tenham demonstrado uma pequena contaminação antes do uso das mesmas. A maior contaminação foi observada nas luvas dos docentes durante a atividade clínica na clínica de atendimento a adultos. Os gráficos a seguir (11 e 12), mostram os resultados obtidos para esses grupos.

## Resultados

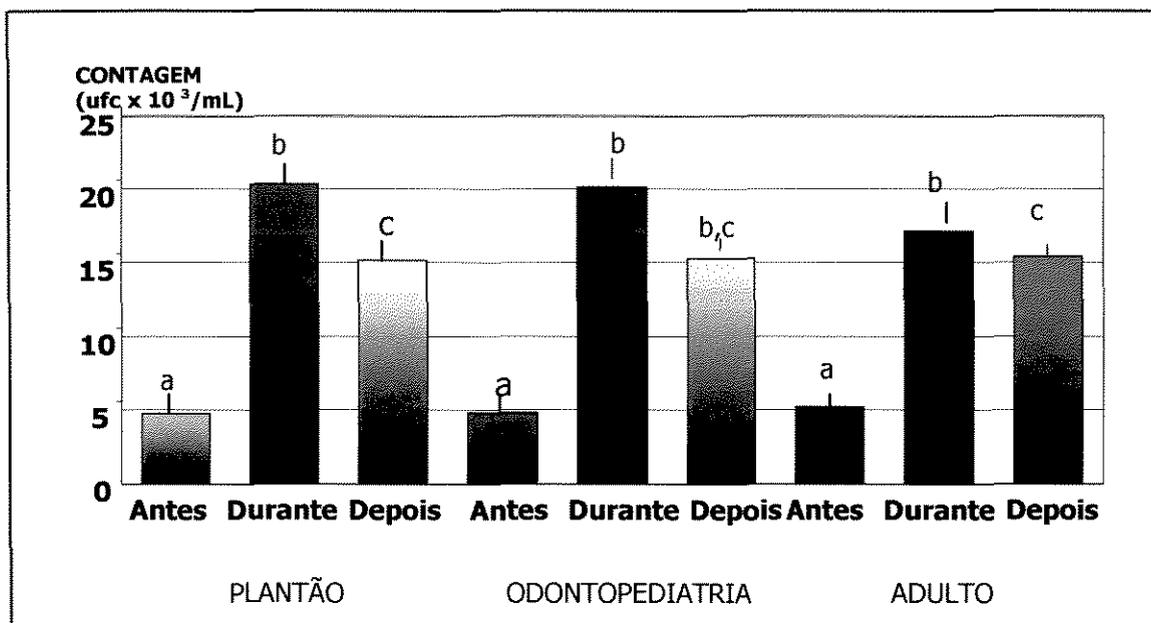


GRÁFICO 11 – Médias das colônias obtidas das luvas dos professores (Grupo 7).

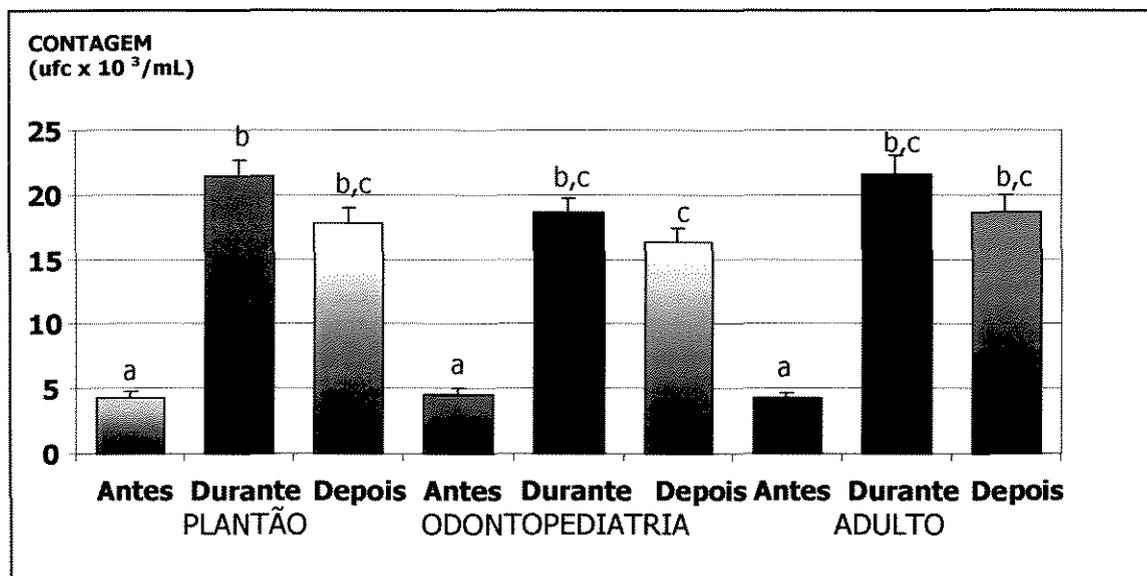


GRÁFICO 12 – Médias das colônias obtidas das luvas dos alunos (Grupo 8).

## Resultados

Quanto à sensibilidade aos antimicrobianos dos microrganismos colhidos, o Gráfico 13 mostra o percentual de resistência bacteriana encontrado para cada antibiótico testado. Dentre os testados, aqueles frente os quais os microrganismos apresentaram maiores resistências foram os antibióticos do grupo da Penicilina, sendo os *Staphylococcus aureus* os microrganismos que apresentaram maior índice, seguidos por *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus pneumoniae*.

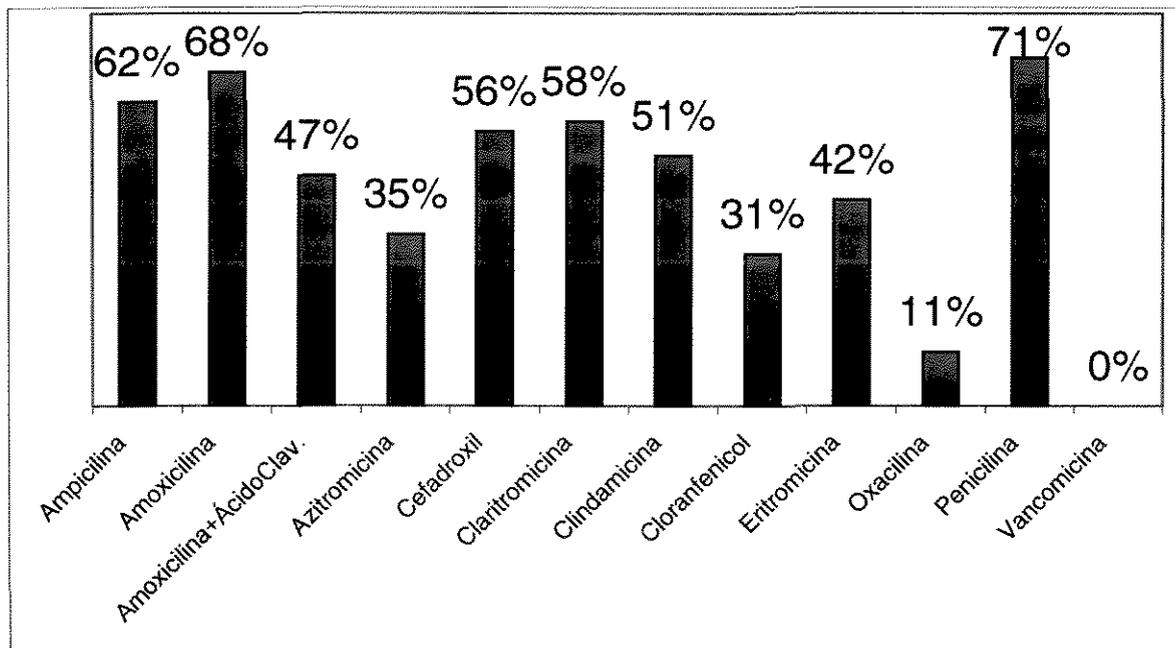


GRÁFICO 13 – Resistência total dos microrganismos encontrada frente aos diversos tipos de antimicrobianos.

## Resultados

Em relação às espécies de microrganismos encontradas, houve maior predominância de *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus* do grupo *viridans*. *Bacillus subtilis* foram os bacilos mais encontrados. Considerando os períodos de atividade clínica, houve maior predomínio de *S.viridans*, principalmente durante a atividade clínica. Em relação à resistência a antibióticos, foram encontradas cepas mais resistentes principalmente no Serviço de Emergência (Plantão) e durante as atividades clínicas, como pode ser observado no gráfico a seguir.

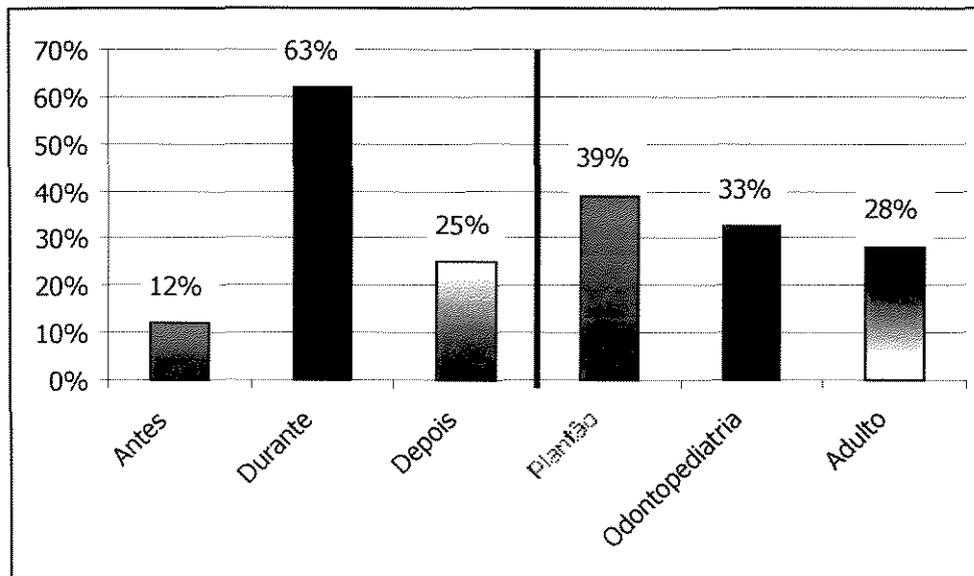


GRÁFICO 14 – Porcentagem dos microrganismos resistentes encontrados nos diferentes períodos e clínicas estudadas.

## Resultados

Os gráficos a seguir mostram os microrganismos encontrados nas três situações clínicas já citadas:

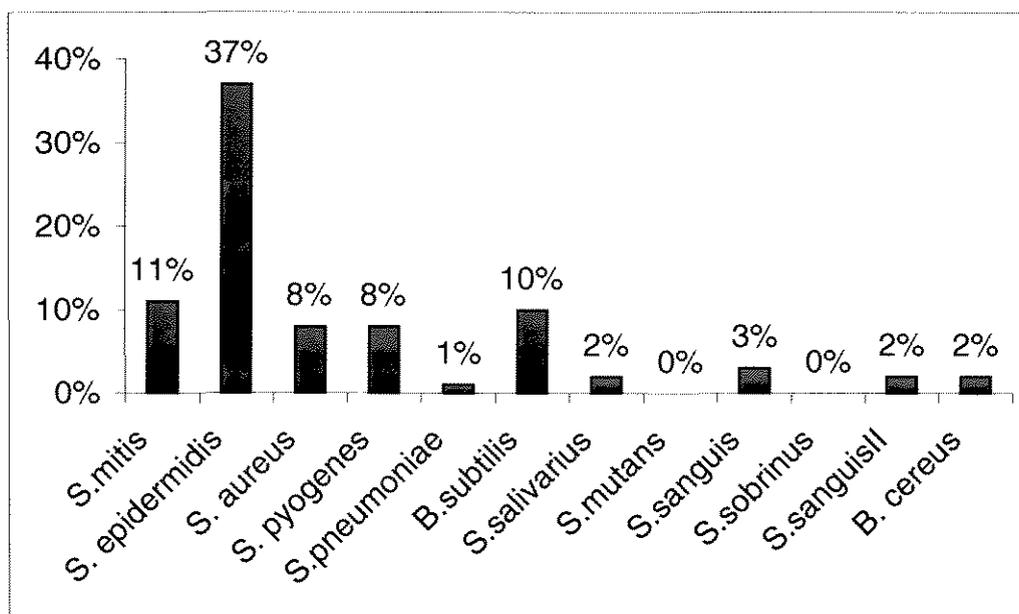


GRÁFICO 15 – Porcentagem total de microrganismos encontrados, dentre as espécies identificadas, antes da atividade clínica.

Nos períodos durante e após a atividade clínica, houve maior predomínio de *Streptococcus sp.* em relação aos *Staphylococcus sp.*, sendo que durante a atividade clínica essa diferença ficou mais evidenciada.

## Resultados

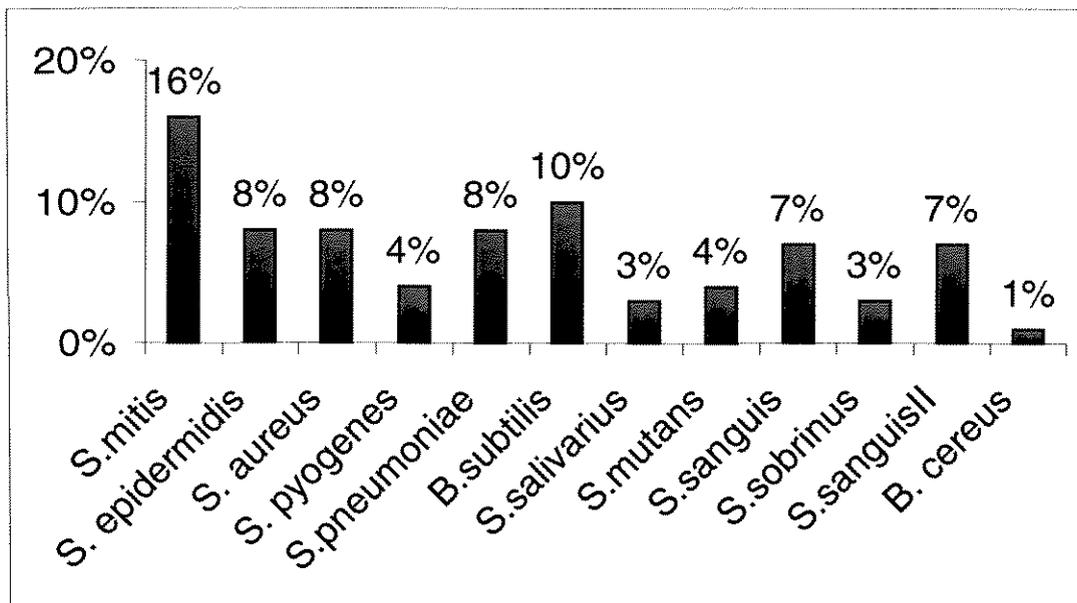


GRÁFICO 16 – Porcentagem total de microrganismos encontrados, dentre as espécies identificadas, durante a atividade clínica.

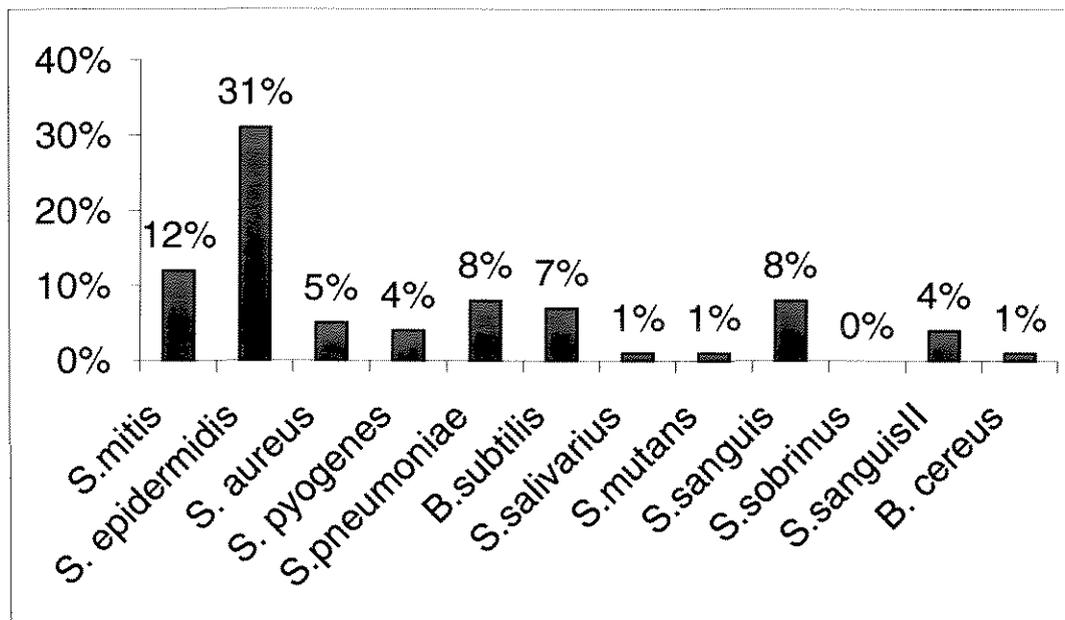


GRÁFICO 17 – Porcentagem total de microrganismos encontrados, dentre as espécies identificadas, após a atividade clínica.

## Resultados

Antimicrobianos	<i>S.aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S.viridans</i>
Penicilina G	82%	79%	71%	48%
Ampicilina	78%	73%	63%	57%
Amoxicilina	74%	71%	66%	59%
Amox. + Ac. Clav.	41%	36%	22%	51%
Cefadroxil	68%	62%	33%	53%
Eritromicina	47%	39%	31%	46%
Claritromicina	48%	57%	15%	56%
Azitromicina	45%	42%	8%	40%
Cloranfenicol	48%	31%	12%	15%
Clindamicina	36%	33%	21%	54%
Oxacilina	3%	5%	2%	42%
Vancomicina	0%	0%	0%	0%

Tabela 1 – Porcentagem de resistência a antimicrobianos das diferentes espécies encontradas.

## **6. Discussão**

Os resultados obtidos quanto a prevalência de microrganismos no ambiente clínico foram concordantes com o trabalho de MATTOS FILHO *et al.*(1999), uma vez que foi observado um maior crescimento de cocos, seguido por bacilos e fungos.

No presente estudo foi encontrado um maior crescimento bacteriano nas colheitas realizadas durante as atividades clínicas, quando comparado aos demais períodos. O aumento de crescimento bacteriano decorrente da atividade clínica também foi observado por LEGNANI *et al.* (1994), MATTOS FILHO *et al.* (1999) e KEDJARUNE *et al.* (2000). Estes autores correlacionaram um maior grau de contaminantes bacterianos durante a execução de procedimentos clínicos.

A higiene bucal dos pacientes, a emissão de aerossóis e a grande circulação de pessoas podem ter colaborado para os resultados do presente estudo, como observado previamente (BENTLEY *et al.*, 1994; OSORIO *et al.*, 1995; KEDJARUNE *et al.*, 2000; KEDJARUNE *et al.*, 2001).

BENTLEY *et al.*, 1994, relatam que a posição de trabalho do profissional em relação ao paciente, assim como a própria posição do dente que está sendo tratado, podem influenciar na maior contaminação do ambiente odontológico.

Em relação aos grupos analisados, o que apresentou maior crescimento bacteriano foi o Grupo 1 (Botão da cadeira odontológica), principalmente no período durante as atividades clínicas e no local do Serviço de Plantão de Urgência. Este fato ocorreu provavelmente devido ao um maior número de pessoas circulando nesse local, assim como o maior número de atendimento de pacientes pelos alunos (em média, 12 pacientes por período, enquanto a média de atendimento na clínica é de 3 pacientes por período), sendo portanto mais vezes acionados os botões das cadeiras. WARREN *et al*, (2001) demonstra que o maior manuseio de equipamentos pelos profissionais tende a aumentar a contaminação dos equipamentos, aconselhando aos dentistas que façam procedimentos mais rápidos e evitem acionamentos desnecessários da cadeira odontológica. Além disso, outro fator relacionado é o tipo de tratamento executado, pois no Serviço de Plantão de Urgência, os alunos realizam procedimentos mais invasivos nos pacientes (drenagens de abscessos, entre outros), o que segundo BENTLEY *et al.* (1994) , CHECCHI *et al.* (1998) e BENNETT *et al.* (2000), podem influenciar na maior contaminação dos aerossóis emitidos, e, conseqüentemente, aumentando ainda mais a contaminação do local.

Foi observado também que a maioria dos alunos não efetuou a proteção dos botões de cadeira com películas de PVC (*Magipack*<sup>®</sup>), pois segundo FANTINATO, 1994 e PAPAIZ *et al.*, 1999, o uso dessas películas pode auxiliar na diminuição de contaminação de ambientes clínicos odontológicos.

Quanto aos grupos 2 e 3, foi também observada grande quantidade de colônias, principalmente durante as atividades clínicas, indicando uma grande contaminação nesses locais estudados. Esses resultados concordam com McCOLL *et al.*, 1994, que observaram grande prevalência de contaminação em seringas tríplex e alças de refletores, sendo que nas seringas tríplex foram observados os maiores índices de contaminação dentre os grupos analisados. VICKERY *et al.*, (2000), analisando a descontaminação de seringas tríplex, enfatiza a importância da desinfecção e esterilização desses equipamentos, devido a grande contaminação que eles são submetidos durante os trabalhos clínicos odontológicos.

Em relação ao grupo 4, observou-se maior quantidade de colônias nos períodos durante e após as atividades clínicas, independentemente da Clínica considerada. Esses resultados concordam com AUTIO *et al.*, 1980, que relatam a possibilidade de contaminação cruzada mesmo durante a execução de procedimentos de tomadas radiográficas. Também foi observado nesse grupo um grande crescimento de fungos, independente do período analisado. Segundo MATTOS FILHO *et al.*, 1999, e PACHECO, 2000, a temperatura pode influenciar na quantidade de microrganismos em ambientes clínicos. Neste caso, devido ao maior isolamento do local, assim como o revestimento de paredes de chumbo, as salas de radiografia da Clínica geralmente ficam mais frias e úmidas em relação às outras partes da Clínica, o que pode ter influenciado o maior crescimento fúngico

nesse local. O grupo 5 foi o grupo que apresentou uma maior homogeneização dos resultados, quando comparados os períodos entre si. Também foi observada uma maior contaminação na maçaneta interna da clínica, o que concorda com LEGGAT & KEDJARUNE, 2001, que relatam uma maior contaminação de equipamentos do ambiente clínico, quando comparados a outros ambientes, como a sala de espera.

Quanto ao grupo 6, observou-se também uma distribuição mais homogênea dos resultados, não havendo uma grande diferenciação entre os diferentes períodos de atividade clínica analisados. Mesmo que em menor quantidade, houve crescimento bacteriano nas amostras coletadas desses locais, indicando a necessidade de maior controle de assepsia. Além disso, foi observada durante a realização das colheitas que alguns alunos utilizavam os computadores usando luvas de procedimento, propiciando assim uma maior contaminação aos mesmos.

Os grupos 7 e 8 demonstram resultados semelhantes, indicando porém uma alta quantidade de microrganismos, principalmente durante as atividades clínicas, demonstrando a necessidade do uso correto desses materiais. MOLINARI (2000), relata que, quando ocorre uma perfuração na luva lesionando a pele, a integridade epitelial é comprometida, possibilitando a entrada para bactérias, vírus e fungos. AVERY *et al.*, 1998, relatam que o índice de perfuração de luvas pode estar relacionado com o tipo de procedimento realizado. Procedimentos mais trabalhosos, tais como exodontias de dentes inclusos podem favorecer a

perfuração das luvas, o que em ambientes mais contaminados como demonstrou ser o Serviço de Plantão de Urgência, requerem mais cuidados para evitar uma contaminação.

Além disso, TUCCI *et al.*, (1996) relatam a alta incidência de falhas na textura de luvas de diferentes marcas, ressaltando a importância do descarte das mesmas após cada atendimento realizado. MORGAN & ADAMS, (1989), também verificaram falhas em diversas luvas quando estas foram submetidas a diferentes testes de qualidade, seguindo as instruções do *British Standards Institute*, indicando a necessidade dos descartes das mesmas após cada procedimento.

Quanto aos microrganismos mais prevalentes, foram observadas maiores quantidades de *S.epidermidis*, *S. mitis* e *B.subtilis*, dentro dos respectivos gêneros. Também ficou evidenciado o maior crescimento de *Streptococcus* do grupo *viridans*, principalmente durante as atividades clínicas. Esses resultados concordam com HACKNEY JR.*et al.*, 1998., que propuseram cepas de *S.viridans* como indicadores biológicos da contaminação ambiental em consultórios odontológicos devido a maior incidência dessas bactérias.

Em relação à resistência das bactérias aos antimicrobianos, a literatura mostra que essa vem aumentando ao longo do tempo (MCLAUGHLIN *et al.*, 1998; LIVERMORE, 2000 e MATSUMOTO *et al.*, 2000) e isso ocorre principalmente quando esses microrganismos são coletados em ambientes clínicos hospitalares,

conforme pode se observar em estudos recentes de LATORRE (1998), PRADO *et al.* (1998), DOERN *et al.* (1999) e CHAN-TACK (2001).

Com relação à sensibilidade dos microrganismos encontrados, iremos apresentá-la na forma de porcentagem de resistência (média) para cada espécie de microrganismo frente aos diferentes tipos de antimicrobianos testados.

Considerando o total de microrganismos isolados frente aos 12 antimicrobianos testados, a porcentagem de resistência dos microrganismos foi maior (78%) frente aos antibióticos do grupo das Penicilinas (Penicilina G, Amoxicilina e Ampicilina) principalmente por parte dos *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* tendo obtido um percentual de resistência de 82%, 74% e 78%, respectivamente. Esses resultados causam preocupação, uma vez que os antibióticos do grupo das Penicilinas são utilizados como primeira opção no tratamento das infecções odontológicas leves ou moderadamente severas (EPSTEIN *et al.*, 2000).

Dessa forma, neste trabalho foi encontrado 82% de *S. aureus* resistentes à Penicilina G, um percentual elevado, mas já relatado na literatura por KRUSZYNSKA *et al.*, 1997 (82, 5%) e muito próximo àquele obtido por ADJEI & BRENYA, 1997 (80%) e KAKAR *et al.*, 1999 (85,9%). Inferior a esse percentual temos 74,5% de resistência encontrada por ADESIYUN *et al.*, 1995, enquanto ROHANI *et al.*, 2000, e TENSSAY, 2000, obtiveram, respectivamente, 94,1% e 95% de resistência do *S. aureus*.

## **Discussão**

---

Com relação aos *Streptococcus pneumoniae*, encontrou-se 71% de resistência à penicilina G, semelhante ao obtido por LEIBOVITZ *et al.*, 1998 (72%). No entanto, há percentual de resistência superior (JOLOBA *et al.*, 2001 - 83,5%) e inferior (FUNG *et al.*, 2000 - 56, 4%; OTEO *et al.*, 2001 - 65, 6%) na literatura, mostrando que os valores obtidos neste trabalho são condizentes com a literatura. Além desses microrganismos, obteve-se 79% de *Streptococcus epidermidis* resistentes a esse antibiótico, enquanto BARELLI *et al.* (1999) obtiveram 88,6% de resistência para esse microrganismo.

Para a Ampicilina, 78% de *S. aureus* foram resistentes neste trabalho, enquanto SHOPOVA & ZHEKOVA (1995), TENSSAY (2000) e ORRET *et al.* (2001) obtiveram, respectivamente, 85%, 85, 5% e 93% de *S. aureus* resistentes a esse antibiótico. Por outro lado, frente à Amoxicilina, foi encontrada 74% de resistência, sendo um percentual maior do que aquele relatado na literatura por LILENBAUM *et al.*, 1998 (50%).

A resistência bacteriana à penicilina, causada pela produção de beta-lactamase, pode ser evitada pela co-administração de um inibidor de beta-lactamase do tipo ácido clavulânico. (MOTTI, 1990)

O clavulanato de potássio, sal potássico do ácido clavulânico, possui fraca atividade antibacteriana. Na prática, a formulação da amoxicilina com o clavulanato de potássio protege a amoxicilina da degradação das enzimas  $\beta$ -lactamases e estende de forma efetiva seu espectro de ação antibiótica por incluir

muitas bactérias normalmente resistentes à amoxicilina e a outros antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. (ANDRADE, 1999). Sua atividade como inibidor de  $\beta$ -lactamases é eficaz, atuando contra enzimas produzidas por bacilos Gram-negativas, gonococos e estreptococos, o que consagrou seu uso como inibidor de  $\beta$ -lactamases associado às penicilinas. (CHARDON *et al.*, 1995).

Neste trabalho, foi demonstrado esse fato uma vez que, considerando todos os microrganismos que cresceram, 74% foram resistentes à Amoxicilina e esse percentual diminuiu significativamente quando a mesma foi testada associada ao Ácido Clavulânico (47%), mostrando que essa associação propiciou uma maior ação sobre os microrganismos encontrados, principalmente frente aos cocos Gram +. Entretanto, neste trabalho, obteve-se 51% de estreptococos do grupo viridans resistentes à Amoxicilina associada ao Clavulanato de Potássio, um percentual bastante elevado quando comparado com aquele relatado na literatura por SAMSYGINA *et al.*, 2000 (7%).

Para as cefalosporinas, não foi encontrado na literatura nenhum percentual de resistência ao antibiótico estudado neste trabalho (cefadroxil). Entretanto, BARRY & JONES (1989), analisaram 30 discos de cefadroxil e 30 de cefalotina por testes de difusão em ágar. Para ambos foram consideradas as mesmas zonas interpretativas (menor ou igual a 14 mm para resistência e maior ou igual a 18mm para susceptibilidade) e observou-se que qualquer um dos dois antibióticos pode ser utilizado para analisar a susceptibilidade ou resistência,

## Discussão

obtendo o mesmo resultado. KAWAGUSHI *et al.* (1996) obtiveram 86, 9% de resistência à cefalotina em isolados de *S. aureus* enquanto, neste trabalho, a resistência obtida para esse microrganismo frente o cefadroxil foi de 68%. Para *S. epidermidis* este trabalho encontrou 62% de resistência.

Com relação aos macrolídeos, foi estudada a resistência dos microrganismos frente a três antibióticos desse grupo: eritromicina, claritromicina e azitromicina.

A eritromicina apresenta espectro de ação antibacteriana semelhante, mas não idêntico, àquele da penicilina G. Embora geralmente considerado um antibiótico de pequeno espectro, a eritromicina apresenta atividade contra vários microrganismos que não são afetados pela penicilina G. (MONTGOMERY, 1991), além de apresentar excelente atividade contra as espécies mais comuns de estreptococos (NEU *et al.*, 1988). Neste trabalho, 46% dos *Streptococcus viridans* foram resistentes à Eritromicina, um percentual bastante inferior àquele obtido pelos estreptococos (71% de *S. pneumoniae* e 79% de *S. epidermidis* resistentes) frente a Penicilina G. Entretanto, embora inferior ao percentual encontrado frente à Penicilina, o percentual encontrado neste trabalho para *Streptococcus* do grupo *viridans* resistentes à Eritromicina foi similar àquele relatado na literatura (DIEKEMA *et al.*, 2001 - 40%; IOANNIDOU *et al.*, 2001 - 38, 5% e WISPLENGHOFF *et al.*, 1999 - 32%).

## Discussão

Para *S. aureus*, a resistência encontrada neste trabalho frente à Eritromicina (47%) foi semelhante à obtida para esse mesmo antibiótico por ROHANI *et al.*, 2001 (45, 9%) e COUPPIE *et al.*, 1998 (41%), mas inferior àquela obtida por PANIAGUA *et al.*, 1998 (68, 6%) e muito superior àquelas encontradas por KRUSZYNKA *et al.*, 1997 (16, 5%) e KRISTENSEN *et al.*, 1999 (32%), mostrando uma grande variação da resistência dos *S. aureus* frente à Eritromicina.

Quanto a azitromicina, um antibiótico com atividade semelhante à da eritromicina contra muitas espécies Gram-positivas, entre elas *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus sanguis*, porém não inibe os estreptococos resistentes à eritromicina (NEU *et al.*, 1988). Neste trabalho, 42% dos *Staphylococcus epidermidis* e 40% dos *Streptococcus viridans* foram resistentes à azitromicina, um percentual de resistência semelhante àquele obtido frente à Eritromicina (47% para *Staphylococcus aureus* e 46% para *Streptococcus viridans*). A resistência obtida pelos *S. aureus* frente à Claritromicina, 48%, também foi bastante semelhante àquela obtida por esse mesmo gênero de microrganismos frente aos outros antibióticos macrolídeos testados (eritromicina – 47% e azitromicina – 42%), conferindo um total de 45, 6% de estafilococos resistentes aos macrolídeos.

Os espectros antibacterianos das lincosaminas correspondem àquele da eritromicina, com as seguintes exceções: possuem melhor atividade contra a maioria das cepas de *S. aureus*, são mais ativas contra a maioria dos anaeróbios

Gram-positivos e Gram-negativos e possuem espectro antibacteriano mais restrito que não incluem *Chlamydia*, *Rickettsia*, *Mycoplasma* ou a maioria dos aeróbios Gram-negativos. (MONTGOMERY, 1991). A clindamicina, um derivado semi-sintético da lincomicina (droga padrão do grupo), apresentou 36% de *S aureus* resistentes à ela, mostrando sua melhor atividade contra *S. aureus* quando comparada com a Eritromicina (47%). Além disso, neste estudo, obteve-se 21% de estreptococos resistentes à clindamicina, um percentual semelhante àqueles obtidos por LIMIA *et al.* (1999), que estudaram a susceptibilidade de 180 cepas de estreptococos a 17 diferentes antibióticos, obtendo 16, 6% de resistência a esse antibiótico, e PACHECO (2001), que encontrou 20% de estreptococos, coletados do ambiente clínico, resistentes à clindamicina.

Já o cloranfenicol é um antibiótico de amplo espectro com atividade dirigida contra vários organismos Gram-negativos e alguns estreptococos e estafilococos. (MONTGOMERY, 1991). Neste trabalho, foi encontrado 48% de *S. aureus* resistentes ao Cloranfenicol, um percentual inferior àquele relatado na literatura por TENSSAY (2000), que obteve 66% de *S. aureus* resistentes a esse antibiótico.

As bactérias, principalmente os estafilococos, desenvolvem resistência às penicilinas principalmente através da produção de enzimas beta-lactamases. A meticilina foi o primeiro derivado semi-sintético a ser introduzido que se mostrou estável na presença de beta-lactamase. Subseqüentemente, foram comercializados

a nafcilina, e três derivados isoxazolídicos (oxacilina, cloxacilina e dicloxacilina). O mecanismo de ação desses fármacos é o mesmo que aquele da penicilina G. O espectro antibacteriano também é semelhante, exceto os derivados penicilinases resistentes que são altamente eficazes contra o *S. aureus* produtor de penicilinase, sendo menos ativos contra os microrganismos Gram-negativos. Logo, seu principal uso é o tratamento das infecções causadas pelos estafilococos resistentes à penicilina G.(MONTGOMERY, 1991).

Neste trabalho, os *S. aureus* se mostraram em sua maioria sensíveis à oxacilina e bastante resistentes à penicilina G. Com relação aos *S. viridans*, encontrou-se 42% de resistência à oxacilina, um percentual bastante semelhante àquele relatado na literatura por SAMYGINA *et al.*, 2000 (41, 5%). Do total de microrganismos isolados neste trabalho, 11% se mostraram resistentes à oxacilina.

A Vancomicina é um antibiótico glicopeptídico, introduzido para uso clínico em 1956 e usado na medicina apenas para o tratamento de infecções causadas por microrganismos Gram-positivos sensíveis a ela, mas resistentes a outras drogas antimicrobianas mais comumente usadas e menos tóxicas. Talvez devido ao seu uso pouco freqüente, vários microrganismos Gram-positivos que se tornaram resistentes a vários outros antibióticos permanecem sensíveis à vancomicina. A droga possui pequeno espectro antibacteriano, sendo eficaz principalmente contra estreptococos, pneumococos, estafilococos e alguns anaeróbios. A maioria das cepas de *S. aureus*, incluindo as cepas resistentes à

meticilina, permanecem sensíveis à vancomicina, assim como a maioria das cepas de estreptococos viridans e *S. pyogenes*. (MONTGOMERY, 1991)

Neste trabalho, nenhuma cepa dos microrganismos obtidos demonstrou-se resistente em relação à vancomicina, embora a taxa de resistência aos demais antimicrobianos tenha sido relativamente alta. Tal fato pode ser observado em muitos relatos recentes da literatura, como nos trabalhos de DIEKEMA *et al.* (2001); IOANNIDOU *et al.* (2001); KENNEDY *et al.* (2001); SADER *et al.* (2001); ALGHAITHY *et al.* (2000); CRITCHLEY *et al.* (2000); LUH *et al.* (2000); ROHANI *et al.* (2000); BARELLI *et al.* (1999); GIGLIO *et al.* (1999); WISPLINGHOFF *et al.* (1999); MARTINEZ HORNOS *et al.* (1998); SENER & GUNALP (1998) e KRUSZYNSKA *et al.* (1997), que também observaram 100% de sensibilidade para diversas espécies de microrganismos frente a Vancomicina.

De todos os microrganismos isolados neste trabalho, 80,8 % foram resistentes a pelo menos um tipo de antibiótico, enquanto ROUSE *et al.* (1998) obtiveram 100%; ADESIYUN *et al.* (1995) 75,6% e LILENBAUN *et al.* (1998) encontraram 58,2% dos microrganismos isolados resistentes a pelo menos um antibiótico. HUEBNER *et al.* (1998) isolaram *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* e observaram que 50% de cada microrganismo se mostrou resistente a pelo menos um antibiótico.

Resistência a três ou mais antibióticos também é relatada na literatura. Essa resistência é bastante variada, tendo sido encontrada em diversos

percentuais: em menos que 10% (HUEBNER *et al.*, 1998), em 13% (DAGAN *et al.*, 1998), em 31,6% (PACHECO, 2001), em 52,2% (SADOYAMA *et al.*, 2000), em 54,1% (BIEL *et al.*, 1998 e SADOYAMA & GONTIJO FILHO, 2000), em 75,9% (DAVID *et al.*, 1996), em 84% (TENSSAY, 2000) e em 100% (PANIAGUA *et al.*, 1998). Neste trabalho obteve-se 78% de microrganismos resistentes a três ou mais antibióticos.

Resistência múltipla, ou seja, microrganismos resistentes a 2 ou mais classes de antibióticos, foi relatada por SKULL *et al.*, 1999, (17%), FRICK *et al.*, 1998, (17,1%), NASRIN *et al.*, 1999, (19%), PACHECO, 2001, (20,1%), TURNIDGE *et al.*, 1999, (21,2%), ARAJ *et al.*, 1999, (44%), BIEL *et al.*, 1998 e SADOYAMA *et al.*, 2000, (54,1%). Neste trabalho obteve-se 50,1% de resistência múltipla. NONOGUCHI *et al.*, 1984 e HORIBA *et al.*, 1995, relatam que a resistência múltipla a antimicrobianos em *S. epidermidis* é muito mais freqüente do que em outros estafilococos coagulase-negativos. Os resultados encontrados neste trabalho condizem com esse estudo.

Embora o grau de contaminação tenha sido diferente quando consideramos os diferentes períodos de atividades clínicas (antes, durante e após), o isolamento de diferentes tipos de microrganismos resistentes no ambiente clínico odontológico é preocupante, pois os pacientes, e principalmente os profissionais, estão expostos a eles durante as atividades clínicas (HORIBA *et al.*, 1995). Sabendo que a virulência dos microrganismos está geralmente associada à

oportunidade de contágio, considerando aqui as condições imunológicas das pessoas e os riscos a que estão expostas, o uso de equipamentos de proteção é imprescindível, assim como a obediência a uma cadeia asséptica criteriosa e fundamentada (MATTOS FILHO *et al.*, 1997, WARREN *et. al*, 2001).

A ausência de procedimentos adequados para o controle de infecção pode propiciar, nas cadeiras odontológicas, a transmissão de agentes causadores de doenças a pacientes sadios subseqüentes ao tratamento de pacientes com infecções (HACKNEY *et al*, 1998).

Portanto, a adoção de medidas de segurança como o uso rotineiro de luvas, aventais, gorros, óculos de proteção e máscaras, o uso de protetores para canetas de alta rotação e alças de refletores, a assepsia do campo operatório, a limpeza e desinfecção de equipamentos, e esterilização dos materiais, e principalmente, a conscientização dos profissionais quando ao controle de infecção são extremamente necessárias para a segurança de pacientes e profissionais no consultório odontológico.

## **7. Conclusão**

- a) O local que apresentou maior contaminação foi o botão de acionamento da cadeira odontológica, mostrando que esse é o local de maior risco para a quebra de cadeia asséptica na Clínica estudada;
- b) A atividade clínica favoreceu a contaminação dos artigos e equipamentos pesquisados;
- c) As bactérias colhidas foram mais resistentes à Penicilina, sendo que nenhuma apresentou resistência à vancomicina. Porém, foi observado um alto índice de resistência pelas bactérias encontradas;
- d) Predominaram estreptococos, seguidos por estafilococos, bacilos e fungos; os microrganismos mais prevalentes foram estreptococos do grupo *Viridans*;
- e) De todas as bactérias colhidas, 80,8% foram resistentes a pelo menos um tipo de antibiótico testado.

## **Referências Bibliográficas\***

1. ABEL, L.C. *et al.* Studies on dental aerobiology IV. Bacterial contamination of water delivered by dental units. J Dent Res, Washington, v.50, n.6, p.1567-1569, Nov./Dec. 1971.
2. ADESIYUN, A.A. *et al.* Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains Isolated from clinical and non-clinical human sources in Trinidad: susceptibility to bacteriophages and antimicrobial agents, and toxigenicity. Zentralbl Bakteriol, Stuttgart, v.282, n.4, p.519-532, Oct. 1995.
3. ADJEI, O.; BRENYA, R.C. Secondary bacterial infection in Ghanaian patients with scabies. East Afr Med J, Nairobi, v.74, n.11, p.729-731, Nov. 1997.
4. AGUIAR, C.M.; PINHEIRO, J.T. Avaliação bacteriológica da qualidade de água utilizada nos equipos odontológicos. Rev Assoc Paul Cir Dent, São Paulo, v.53, n.3, p.228-235, maio/jun. 1999.
5. ALGHAITHY, A.A. *et al.* Nasal carriage and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from hospital and non-hospital personnel in Abha, Saudi Arabia. Trans R Soc Trop Med Hyg, London, v.94, n.5, p.504-507, Sept./Oct. 2000.
6. AMATO NETO, V. *et al.* Antibióticos na prática médica. 4.ed. São Paulo: Roca, 1994. 283p.

---

\* De acordo com a NBR 6023: Informação e documentação – Referências - Elaboração, de ago. 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos títulos dos periódicos em conformidade com o Medline

7. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Infection control for the dental office and dental laboratory. J Am Dent Assoc, Chicago, v.123, Suppl., p.1-8, Aug. 1992.
8. ANDRADE, E.D. Uso Clínico dos Antimicrobianos. *In*: \_\_\_\_\_. Terapêutica medicamentosa em odontologia. São Paulo: Artes Médicas, 1999. Cap.8, p.65-92.
9. ARAJ, G.F. *et al.* Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the Lebanon: implications for presumptive therapy. Int J Antimicrob Agents, Amsterdam, v.12, n.4, p.349-354, Aug. 1999.
10. AUTIO, K.L. *et al.* Studies on cross-contamination in the dental clinic. J Am Dent Assoc, Chicago, v.100, n.3, p.358-361, Mar. 1980.
11. AVERY, C.M. *et al.* Glove perforation during surgical extraction of wisdom teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, Saint Louis, v.86, n.1, p.23-25, July 1998.
12. BALOWS, A. Current techniques for susceptibility testing. Springfield: C.C. Thomas, 1974. p.3-5.
13. BARBIERI, D.S.V. *et al.* Isolamento e identificação de microrganismos em brinquedos utilizados em consultórios. Rev Assoc Paul Cir Dent, São Paulo, v.53, n.3, p.238-248, maio/jun. 1999.
14. BARELLI, C. *et al.* Evaluation of the antimicrobial susceptibilities of coagulase-negative staphylococci by E-test. Rev Latinoam Microbiol, México, v.41, n.2, p.67-72, abr./jun. 1999.

15. BARRY, A.L.; FAY, G.D. The amount of agar in antimicrobial disc susceptibility test plates. Am J Clin Pathol, Philadelphia, v.59, p.196-198, 1973. *Apud* PIDDOCK, L.J.V. *Op. cit.* Ref. XX.
16. BARRY, A.L.; JONES, R.N. Comparison of cefadroxil and cephalothin disk susceptibility test results. J Clin Microbiol, Washington, v.27, n.7, p.1460-1463, July 1989.
17. BAUER, A.W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disc method. Am J Clin Pathol, Philadelphia, v.45, n.4, p.493-496, Apr. 1966.
18. BENNETT, A.M. *et al.* Microbial aerosols in general dental practice. Br Dent J, London, v.189, n.12, p.664-667, Dec. 2000.
19. BENTLEY, C.D.; BURKHART, N.W.; CRAWFORD, J.J. Evaluating spatter and aerosol contamination during dental procedures. J Am Dent Assoc, Chicago, v.125, n.5, p.579-584, May 1994.
20. BIEL, M.A. *et al.* Evaluation of the microbiology of chronic maxillary sinusitis. Ann Otol Rhinol Laryngol, Saint Louis, v.107, n.11 pt.1, p.942-945, Nov. 1998.
21. BIER, O. Bacteriologia e imunologia. 22.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1982. 1062p.
22. BLAKE, G.C. The incidence and control of bacterial infection in dental spray reservoirs. Br Dent J, London, v.115, p.413-446, 1963.
23. BONDI, A. *et al.* Routine method for rapid determination of susceptibility to penicillin and other antibiotics. Am J Med Sci, Philadelphia, v.213, n.2,

p.221-225, 1947.

24. BRANDILEONE, M.C. *et al.* Geographic distribution of penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* in Brazil: genetic relatedness. Microb Drug Resist, Larchmont, v.4, n.3, p.209-217, Fall 1998.
25. BRENNER, V.C.; SHERRIS, J.C. Influence of different media and blood on the results of diffusion antibiotic susceptibility tests. Antimicrob Agents Chemother, Washington, v.1, n.2, p.116-122, Feb. 1972.
26. BURNNET, G.W. The microbiology of dental infections. Dent Clin North Am, Philadelphia, v.14, n.4, p.681-695, Oct. 1970.
27. CALDWELL, D.R. Microbiol physiology & metabolism. Dubuque: Wm.C. Brown Publishers, 1995.
28. CARDOSO, M.L. *et al.* Qualidade microbiológica da água utilizada em turbinas de alta rotação em três condições clínicas diferentes. Rev Assoc Paul Cir Dent, São Paulo, v.53, n.5, p.387-393, set./out. 1999.
29. CARRICAJO, A. *et al.* Performance of the chromogenic medium CHROMagar Staph Aureus and the Staphychrom coagulase test in the detection and identification of *Staphylococcus aureus* in clinical specimens. J Clin Microbiol, Washington, v.39, n.7, p.2581-2583, July 2001.
30. CARVALHO, L.H.F.R. Resistência bacteriana e suas implicações na prática clínica. Âmb Hosp, São Paulo, v.9, p.5-16, 1993.
31. CARVALHO, P.L.; PAPAIZ, E.G. Controle de infecção em Radiologia Odontológica. Rev Assoc Paul Cir Dent, São Paulo, v.53, n.3, p.202-204, maio/jun. 1999.

32. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Update: recommended infection-control practices for dentistry. Morb Mortal Wkly Rep, Atlanta, v.142, RR8, p.1-12, 1993.
33. CHAIN, E. *et al.* Penicillin as a chemotherapeutic agents. Lancet, London, v.1, p.226-228, 1940.
34. CHAN-TACK, K.M. Changing antibiotic sensitivity patterns at a university hospital, 1992 through 1999. South Med J, Birmingham, v.94, n.6, p.619-620, June 2001.
35. CHARDON, H. *et al.* Analysis of  $\beta$ -lactamases produced by cephalotin susceptible *Escherichia coli* clinical isolates resistant to co-amoxiclav and ticarcilin clavulanic acid. J Antimicrob Chemother, London, v.36, n.1, p.267-269, July 1995.
36. CHARTERIS, W.P. *et al.* Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. J Food Prot, Ames, v.61, n.12, p.1636-1643, Dec. 1998.
37. CHECCHI, L. *et al.* Contamination of the turbine air chamber: a risk of cross infection. J Clin Periodontol, Copenhagen, v.25, n.8, p.607-611, Aug. 1998.
38. CHEN, G. *et al.* Occurrences of penicillin-binding protein 2B gene in clinically isolated penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Rinsho Byori, Tokyo, v.46, n.9, p.948-953, Sept. 1998.
39. CHENG, A.F.B. *et al.* The antimicrobial activity and  $\beta$ -lactamase stability of cefpirome, a new fourth generation cephalosporin in comparison with other agents. J Antimicrob Chemother, London, v.31, n.5, p.699-709, May 1993.

40. CLEGG, M. Dental unit waterlines in media spotlight. Comuniqué, v.12, n.2, p.3, June 1996.
41. COCHRAN, M.A. *et al.* The efficiency of the rubber dam as a barrier to the spread of microorganisms during dental treatment. J Am Dent Assoc, Chicago, v.119, n.1, p.141-144, July 1989.
42. CONTRERAS, R.A. Oríem y evolución de la Microbiología. Rev Estomatol, Cali, v.2, p.37-39, 1992.
43. COTTONE, J.A.; TEREZHALMY, G.T.; MOLINARI, J.A. Practical infection control in dentistry. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 286p.
44. COUPPIE, P. *et al.* L`impetigo en Guyane Francaise. Estudos clinique, bacteriologique, toxinologique et de sensibilite aux antibiotiques. Ann Dermatol Venereol, Paris, v.125, n.10, p.688-693, Oct. 1998.
45. CRAWFORD, J.J. Sterilization, disinfection, and aseps in dentistry. *In*: BLOCK, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 3.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983. p.505-523.
46. CRAWFORD, J.J.; BRODERIUS, C. Control of cross-infection risks in the dental operator: prevention of water retraction by bur cooling spray systems. J Am Dent Assoc, Chicago, v.116, n.6, p.685-687, May 1988.
47. CRITCHLEY, I.A. *et al.* Antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae and Moraxella catarrhalis collected from five centers in Brazil, 1997-98. Clin Microbiol Infect, Oxford, v.6, n.4, p.178-184, Apr. 2000.

48. CROMPTON, N.; GRIFFITHS, B.; WILSON, M. Transfer of oral bacteria to, and survival on, dental notepaper. J Dent Res, Washington, v.73, n.4, p.849, Apr. 1994. [Abstract 500].
49. DAGAN, R. *et al.* Dynamics of pneumococcal nasopharyngeal colonization during the first days of antibiotic treatment in pediatric patients. Pediatr Infect Dis J, Baltimore, v.17, n.10, p.880-885, Oct. 1998.
50. DAVID, E. *et al.* The sensitivity of Salmonella strains in diarrheal disease to new quinolones compared with other antimicrobial substances. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol, Bucuresti, v.41, n.1-2, p.43-46, Jan./June 1996.
51. DE LAMA, L.M. *et al.* Atlas de diagnóstico em microbiologia. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2001. 216p.
52. DIEKEMA, D.J. *et al.* Antimicrobial resistance in viridans group streptococci among patients with and without the diagnosis of cancer in the USA, Canada and Latin America. Clin Microbiol Infect, Oxford, v.7, n.3, p.152-157, Mar. 2001.
53. DOERN, G.V.; BRUEGGEMANN, A.B.; WINGERT, E. Antimicrobial resistance with *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1997-98. Emerg Infect Dis, Atlanta, v.5, n.6, p.757-765, Nov./Dec. 1999.
54. DOERN, G.V. *et al.* Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North America. Clin Infect Dis, Chicago, v.27, n.4, p.764-770, Oct. 1998.
55. ECHANIZ-AVILES, G. *et al.* Predominance of the multiresistant 23F international clone of *Streptococcus pneumoniae* among isolates from

- Mexico. Microb Drug Resist, Larchmont, v.4, n.3, p.241-246, Fall 1998.
56. EPSTEIN, J.B. A survey of antibiotic use in dentistry. J Am Dent Assoc, Chicago, v.131, n.11, p.1600-1609, Nov. 2000.
57. FANTINATO, V. *et al.* Manual de esterilização e desinfecção em odontologia. São Paulo: Santos, 1994. Cap.3, p.21-28.
58. FERREIRA, R.A. ... Barrando o invisível. Rev Assoc Paul Cir Dent, São Paulo, v.49, n.6, p.417-427, nov./dez. 1995.
59. FRICK, P.A. *et al.* Prevalence of antimicrobial drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Washington State. West J Med, San Francisco, v.16, n.6, p.364-369, Dec. 1998.
60. FUNG, C.P. *et al.* Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated in Taiwan: na island-wide surveillance study between 1996 and 1997. J Antimicrob Chemother, London, v.45, n.1, p.49-55, Jan. 2000.
61. GEORGOPAPADAKOU, N.H.; LIU, F.Y. Penicillin bindings proteins in bacteria. Antimicrob Agents Chemother, Washington, v.18, n.1, p.148-157, July 1980.
62. GIGLIO, M.S. *et al.* Surveillance of gram positive cocci susceptibility to betalactams, glycopeptides, and other antimicrobials. Rev Med Chil, Santiago do Chile, v.127, n.8, p.919-925, Aug. 1999.
63. GLASS, B.J.; COTTONE, J.A.; LEUKE, P. Contamination in dental radiology. Annual Meeting of the American Academy of Dental Radiology, 1987.
64. GOULD, J.C.; BOWIE, J.H. The determination of bacterial sensivity to antibiotics. Edinb Med J, Edinburgh, v.59, p.178-179, 1952.

65. GROPPPO, F.C. Influência da evolução do tecido granulomatoso sobre a biodisponibilidade da amoxicilina. Estudo *ex vivo*, em ratos. Piracicaba, 1996. 70p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
66. GUIMARÃES JUNIOR, J. Biossegurança e controle de infecção cruzada em consultórios odontológicos. São Paulo: Santos, 2001. 536p.
67. GUIMARÃES JUNIOR, J. Controle de infecção cruzada no consultório odontológico. Rev Assoc Paul Cir Dent, São Paulo, v.46, n.2, p.711-716, mar./abr. 1992.
68. HACKNEY JUNIOR, R.W.; CRAWFORD, J.J.; TULIS, J.J. Using a biological indicator to detect potencial source of cross-contamination in the dental operatory. J Am Dent Assoc, Chicago, v.129, n.11, p.1567-1577, Nov. 1998.
69. HANDAL, T. *et al.* Antimicrobial resistance with focus on oral beta-lactamases. Eur J Oral Sci, Copenhagen, v.108, n.3, p.163-174, June 2000.
70. HARDIE, J. Concerns reading infection control recommendations for dental practice. J Can Dent Assoc, Ottawa, v.58, n.5, p.377-378, 382-386, May 1992.
71. HORIBA N., YOSHIDA T., SUZUKI K., MAEKAWA Y., Ito M., MATSUMOTO T., NAKAMURA H. Isolation of methicillin-resistant staphylococci in the dental operatory. J Endod., v.21,n.1, p.21-25, Jan. 1995.
72. HUEBNER, R.E. *et al.* Nasopharyngeal carriage and antimicrobial resistance in isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b in children under 5 years of age in Botswana. Int J Infect Dis, Hamilton, v.3,

n.1, p.18-25, July/Sept. 1998.

73. IOANNIDOU, S. *et al.* Antibiotic resistance rates and macrolide resistance phenotypes of viridans group streptococci from the oropharynx of healthy Greek children. Int J Antimicrob Agents, Amsterdam, v.17, n.3, p.195-201, Mar. 2001.
74. ITO, Y.I., SOUZA-GULGEMIM, M.C.M., LIMA, S.N.M. Assepsia e anti-sepsia em endodontia. *In*: LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. Endodontia: tratamento de canais radiculares. 3.ed. São Paulo: Médica Panamericana, 1998. p.261-297.
75. JACOBS, M.R.; MYERS, C. Microbiologia diagnóstica e monitorização de drogas terapêuticas nas doenças infecciosas pediátricas. Simpósio sobre Terapia Antiinfecciosa I. Clin Pediatr North Am, Philadelphia, v.30, n.1, p.143-171, Feb. 1983.
76. JAWETZ, E. Penicillins and cephalosporins. *In*: KATZUNG, B.G. Basic & clinical pharmacology. 7.ed. Conecticut: Appleton & Lance, 1997.
77. JOLOBA, M.L. *et al.* High prevalence of carriage of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in children in Kampala Uganda. Int J Antimicrob Agents, Amsterdam, v.17, n.5, p.395-400, May 2001
78. JONES, R.N.; PFALLER, M.A.; DOERN, G.V. Comparative antimicrobial activity of trovafloxacin tested against 3049 *Streptococcus pneumoniae* isolates from the 1997-1998 respiratory infection season. Diagn Microbiol Infect Dis, New York, v.32, n.2, p.119-126, Oct. 1998.
79. KAKAR, N. *et al.* Clinico-bacteriological study of pyodermas in children. J Dermatol, Tokyo, v.26, n.5, p.288-293, May 1999.

80. KAMIYA, Y. Experiences and studies on antimicrobial resistance in Japan: useful lessons for developing countries. East Afr Med J, Nairobi, v.74, n.3, p.174-176, Mar. 1997.
81. KAWAGUCHI, E. *et al.* The taxonomic distribution, characteristic and susceptibility against antimicrobial agents of methicillin-resistant staphylococci isolated from blood. Kansenshogaku Zasshi, Tokyo, v.70, n.11, p.1147-1153, Nov. 1996.
82. KEDJARUNE, U.; LEGGAT, P.A. Bacterial aerosols in the dental clinic: a review. Int Dent J, London, v.51, n.1, p.39-44, Feb. 2001.
83. KEDJARUNE, U. *et al.* Bacterial aerosols in the dental clinic: effect of time, position and type of treatment. Int Dent J, London, v.50, n.2, p.103-107, Apr. 2000.
84. KENNEDY, H.F. *et al.* Antimicrobial susceptibility of blood culture isolates of viridans streptococci: relationship to a change in empirical antibiotic therapy in febrile neutropenia. J Antimicrob Chemother, London, v.47, n.5, p.693-696, May 2001.
85. KOH, T.H.; SNG, L.H.; NGAN, C.C. Molecular typing of multiresistant *Streptococcus pneumoniae* serogroup 19 in Singapore. Pathology, Abingdon, v.30, n.4, p.395-398, Nov. 1998.
86. KONEMAN, E.W. *et al.* Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4.ed. Philadelphia: J.B. Lippencott Company, 1992.
87. KONEMAN, E.W. *et al.* Diagnóstico microbiológico. 5.ed. São Paulo: Medsi, 2001.1465p.

88. KRISTENSEN, B. *et al.* Antibiotic resistance patterns among blood culture isolates in a Danish county 1981-1995. J Med Microbiol, London, v.48, n.1, p.67-71, Jan. 1999.
89. KRUSZYNSKA, E. *et al.* Susceptibility to antibiotics of *Staphylococcus aureus* strains. Med Dosw Mikrobiol, Warsaw, v.49, n.3/4, p.141-144, 1997.
90. LATORRE, C. *Streptococcus pneumoniae* isolated from a paediatric population: changes in 10 years. Acta Paediatr, Oslo, v.87, n.9, p.940-944, Sept. 1998.
91. LEGNANI, P. *et al.* Atmospheric contamination during dental procedures. Quintessence Int, Berlin, v.25, n.6, p.435-439, June 1994.
92. LEIBOVITZ, E. *et al.* Bacteriologic efficacy of a three-day intramuscular ceftriaxone in nonresponsive acute otitis media. Pediatr Infect Dis J, Baltimore, v.17, n.12, p.1126-1131, Dec. 1998.
93. LEWIS, D.L.; BOE, R.K. Cross-infection risks associated with current procedures for using high speed dental handpieces. J Clin Microbiol, Washington, v.30, n.2, p.401-406, Feb. 1992.
94. LIÉBANA UREÑA, P.P.G. Introducción al estudio de la microbiología oral. *Ir: MICROBIOLOGIA Oral*. México: Interamericana—McGraw-Hill, 1996. p.1-10.
95. LILENBAUN, W.; NUNES, E.L.; AZEREDO, M.A. Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats. Lett Appl Microbiol, Oxford, v.27, n.4, p.224-228, Oct. 1998.
96. LIMIA, A. *et al.* Five-year analysis of antimicrobial susceptibility of the

- Streptococcus milleri* group. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, Wiesbaden, v.18, n.6, p.440-444, June 1999.
97. LIVERMORE, D.M. Antibiotic resistance in staphylococci. Int J Antimicrob Agents, Amsterdam, v.16, Suppl.1, p.S3-S10, Nov. 2000.
98. LUH, K.T. *et al.* Quinupristin-dalfopristin resistance among gram-positive bacteria in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother, Washington, v.44, n.2, p.3374-3380, Dec. 2000.
99. MALATHUM, K. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci: recent advances in genetics, epidemiology and therapeutic options. Drug Resist Updat, Philadelphia, v.2, n.4, p.224-243, Aug. 1999.
100. MARCHESE, A. *et al.* Evolution of antibiotic resistance in gram-positive pathogens. J Chemother, Florence, v.12, n.6, p.459-462, Dec. 2000.
101. MARTIN, M.V. The significance of bacterial contamination of dental unit water system. Br Dent J, London, v.163, p.152-154, n.5, Sept. 1987.
102. MATSUMOTO, M. *et al.* An increase in multi-drug-resistant isolates of *Salmonella typhimurium* from healthy carriers in Aichi, Japan. Jpn J Infect Dis, Tokyo, v.53, n.4, p.164-165, Aug. 2000.
103. MATTOS FILHO, T.R.; PACHECO, A.B.N.D.; GROppo, F.C. Identification and increase pattern of prevalent microorganisms in clinical environment. J. dent. Res., Washington, v.78, n.5, p.1006, May 1999. [Abstract B099].
104. MATTOS FILHO, T.R. *et al.* Contamination level evaluation at Piracicaba School of Dentistry. J Dent Res, Washington, v.76, n.5, p.979, May 1997a. [Abstract 161].

105. MATTOS FILHO, T.R. *et al.* Proposta de cadeia asséptica para uso em clínica odontológica. Rev Flumin Odontol, Niterói, n.6, p.38-41, jul./dez. 1997b.
106. McCOLL, E. *et al.* The detection of blood on dental surgery surfaces and equipment following dental hygiene treatment. Br Dent J, London, v.176, n.2, p.65-67, Jan. 1994.
107. MCLAUGHLIN, V.A.; RILEY, T.V.; ROBERTS, C.L. Penicillin resistance in laboratory isolates of *Streptococcus pneumoniae*, in Western Australia, 1990-1994. Eur J Epidemiol, Dordrecht, v.14, n.6, p.611-615, Sept. 1998.
108. MEDEIROS, A.A. *et al.* Loss of Omp C porin in a strain of *Salmonella typhimurium* causes increase resistance to cephalosporins during therapy. J infect Dis, Chicago, v.156, n.5, p.751-757, Nov. 1987.
109. MICIK, R.E. *et al.* Studies on dental aerobiology. I. Bacterial aerosols generated during dental procedures. J Dent Res, Washington, v.48, n.1, p.49-56, Jan./Feb. 1969.
110. MILLER, C.H.; COTTONE, J.A. The basic principles of infectious diseases as related to dental practice. Dent Clin North Am, Philadelphia, v.37, n.1, p.1-20, Jan. 1993.
111. MILLER, R.C. *et al.* Potential for cross-contamination within a dental school environment. J Dent Educ, Washington, v.54, n.2, p.160-162, Feb. 1990.
112. MILLER, R.L. *et al.* Studies on dental aerobiology. Microbial platters discharged from the oral cavity of dental patient. J Dent Res, Washington, v.50, n.3, p.621-625, May/June 1971.

113. MIMS, C.A. *et al.* Microbiologia Médica. São Paulo: Manole, 1995.
114. MOLINARI, J.A. Dental infection control at the year 2000. Accomplishment recognized. Dent Assist, New York, v.69, n.3, p.26-30, 32, 34, May/June 2000.
115. MOLINARI, J.A.; COTTONE, J.A. Rationale for practical infection control in dentistry. *In*: \_\_\_\_\_.; TEREZHALMY, G.T.; COTTONE, J.A. Practical infection control in dentistry. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997. p.3.
116. MOLINARI, J.A.; MERCHANT, V.A.; GLEASON, M.J. Controversies in infection control. Dent Clin North Am, Philadelphia, v.34, n.1, p.55-69, Jan. 1990.
117. MONTGOMERY, E.H. Antibióticos antibacterianos. *In*: NEIDLE, E.A., YAGIELA, J.A. Farmacologia e terapêutica para dentistas. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.412-446.
118. MORGAN, D.J.; ADAMS, D. Permeability studies on protective gloves used in dental practice. Br Dent J, London, v.166, n.1, p.11-13, Jan. 1989.
119. MOTTI, E.F. Contribuição prática dos novos antibióticos: avanços e perspectivas. Rev Bras Med, São Paulo, v.47, n.6, p.236-244, jun. 1990.
120. NASRIN, D. *et al.* Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolated from children. J Paediatr Child Health, Melbourne, v.35, n.6, p.558-561, Dec. 1999.
121. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100-S9. Ninth Inf Suppl, v.19, p.1, 1999.

122. NEU, H.C. *et al.* Comparative in vitro activity of the new oral macrolide azitromycin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, Wiesbaden, v.7, n.4, p.541-544, Aug. 1988.
123. NORO, A. *et al.* The effectiveness of the "clean-area-system" for infection control in the dental clinic. Bull Tokyo Dent Coll, Tokyo, v.39, n.1, p.15-24, Feb. 1998.
124. ORRETT, F.A.; SHURLAND, S.M. Neonatal sepsis and mortality in a region hospital in Trinidad:aetiology and risk factors. Ann Trop Paediatr, Basingstoke, v.21, n.1, p.20-25, Mar. 2001.
125. OSORIO, R. *et al.* Environmental microbial contamination. Pilot study in a dental surgery. Int Dent J, London, v.45, n.6, p.352-735, Dec. 1995.
126. OTEO, J.; ALOS, J.I.; GOMEZ-GARCES, J.L. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates in 1999 and 2000 in Madrid, Spain: a multicentre surveillance study. J Antimicrob Chemother, London, v.47, n.2, p.215-218, Feb. 2001.
127. PACHECO, A.B.N.D. Avaliação da resistência dos microrganismos colhidos no ambiente de clínica odontológica a diferentes antibióticos. Piracicaba, 2000. 126p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
128. PALENIK, C.J.; BURKE, F.J.; MILLER, C.H. Strategies for dental clinic infection control. Dent Update, London, v.27, n.1, p.7-10, 12, 14-15, Jan./Feb. 2000.
129. PALLASCH, T.J. Pharmacokinetics principles of antimicrobial therapy. Periodontol 2000, Copenhagen, v.10, p.5-11, Feb. 1996.

130. PANIAGUA, G.L. *et al.* Effect of beta-lactamase inhibitors on minimum inhibitory concentration of ampicillin and amoxicillin for *Staphylococcus aureus* strains. Rev Latinoam Microbiol, México, v.40, n.3-4, p.128-134, July/Dec. 1998.
131. PAYNE, D.J.; WOODFORD, N.; AMIYES, S.G.B. Characterization of the plasmid mediated  $\beta$ -lactamase BIL-1. J Antimicrob Chemother, London, v.30, n.2, p.119-127, Aug. 1992.
132. PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2.ed. São Paulo: Makron Books, 1996. v.1.
133. PIDDOCK, L.J.V. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. J Appl Bacteriol, Oxford, v.68, n.4, p.307-318, Apr. 1990.
134. PIMENTA, F.C.; ITO, I.Y.; LIMA, S.N.M. Biossegurança em Endodontia. *In*: ESTRELA, C., FIGUEIREDO, J.A.P. Endodontia: princípios biológicos e mecânicos. São Paulo: Artes Médicas. 1999. p.387-438.
135. PRADO, V. *et al.* Antimicrobial multiresistance of *Shigella* sp strains in a semi rural community of northern Santiago. Rev Med Chil, Santiago do Chile, v.126, n.12, p.1464-1471, Dec. 1998.
136. PUTNINS, E.E. *et al.* Dental unit waterline contamination and its possible implications during periodontal surgery. J Periodontol, Chicago, v.72, n.3, p.393-400, Mar. 2001.
137. RANALI, J. *et al.* Eficiência de máscaras cirúrgicas frente a aspersões produzidas por alta rotação. Rev Bras Odont, Rio de Janeiro, v.49, n.3, p.46-

- 48, maio/jun. 1992.
138. REESE, R.E.; BETTS, R.F. Manual of antibiotics. 2.ed. Dubuque: Litle Brown and Company, 1993.
139. ROHANI, M.Y. *et al.* Susceptibility pattern of Staphylococcus aureus isolated in Malaysian hospitals. Int J Antimicrob Agents, Amsterdam, v.13, n.3, p.209-213, Jan. 2000.
140. ROUSE, D.J. *et al.* Antibiotic susceptibility profile of group B streptococcus acquired vertically. Obstet Gynecol, New York, v.92, n.6, p.931-934, Dec. 1998.
141. RUSSO, E.M.A. *et al.* Análise microbiológica de instrumentos cortantes rotatórios coletados em consultórios particulares. Rev Odont UNICID, São Paulo, v.10, n.2, p.87-93, jul./dez. 1998.
142. SADER, H.S. *et al.* Antimicrobial susceptibility of quinupristin/dalfopristin tested against gram-positive cocci from Latin America: results from the global SMART (GSMART) surveillance study. Braz J Infect Dis, Salvador, v.5, n.1, p.21-31, Feb. 2001.
143. SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Risk factors for methicillin resistant and sensitive Staphylococcus aureus infection in a Brazilian university hospital. Braz J Infect Dis, Salvador, v.4, n.3, p.135-143, June 2000.
144. SAHA, S.K. *et al.* Antimicrobial resistance and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* strains causing childhood infections in Bangladesh, 1993 to 1997. J Clin Microbiol, Washington, v.37, n.3, p.798-800, Mar. 1999.

145. SAMARANAYAKE, L.P., SCHEUTZ, F., COTTONE, J.A. Controle da infecção para a equipe odontológica. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995.
146. SAMPSON, E.; DHURU, V.B. Infection control in North American dental school. J Dent Educ, Washington, v.47, n.5, p.329-335, 1983.
147. SAMSYGINA, G.A. *et al.* The structure and antibiotic sensitivity of causative agents of community-acquired infections diseases of bacterial origin in children. Antibiot Khimioter, Moscow, v.45, n.3, p.15-19, 2000.
148. SANCHES, E.; MACDONALD, G. Decontaminating dental instruments: testing the effectiveness of selected methods. J Am Dent Assoc, Chicago, v.126, n.3, p.359-368, Mar. 1995.
149. SANDE, M.A.; MANDELL, G.L. Fármacos antimicrobianos. *In*: GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. Goodman & Gilman's as bases farmacológicas da terapêutica. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1991, p.727-759.
150. SENER, B.; GUNALP, A. Trends in antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children in a Turkish hospital. J Antimicrob Chemother, London, v.42, n.3, p.381-384, Sept. 1998.
151. SKULL, S. *et al.* *Streptococcus pneumoniae* antibiotic resistance in Northern Territory children in day care. J Paediatr Child Health, Melbourne, v.35, n.5, p.466-471, Oct. 1999.
152. STOKES, E.J. Antibacterial drugs, *In*: STOKES, E.J. Clinical Bacteriology. London: Edward Arnold, 1955. p.157-192.
153. STRYNADKA, N.C. *et al.* Structural and kinetic characterization of a  $\beta$ -

- lactamase- inhibitor protein. Nature, London, v.368, n.6472, p.657-660, Apr. 1994.
154. TENOVER, F.C.; BIDDLE, J.W.; LANCASTER, M.V. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis, Atlanta, v.7, n.2, p.327-332, Mar./Apr. 2001.
155. TEIXEIRA, M. Controle de infecção cruzada. *In*: CORRÊA, M.S.N.P. Odontopediatria na primeira infância, São Paulo: Santos, 1998.
156. TENSAY, Z.W. Staphylococci: frequency of isolation and antibiotic susceptibility patterns in Jimma Hospital, south-west Ethiopia. Ethiop Med J, Ababa, v.38, n.3, p.175-184, July 2000.
157. TRABULSI, L.R. Microbiologia. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1991.
158. TUCCI, M.G. *et al.* Structural features of latex gloves in dental practice. Biomaterials, Oxford, v.17, n.5, p.517-522, Mar. 1996.
159. TUOHY, M. Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococci. Diagn Microbiol Infect Dis, New York, v.29, n.4, p.277-280, Dec. 1997.
160. TURNIDGE, J.D.; BELL, J.M.; COLLIGNON, P.J. Rapidly emerging antimicrobial resistances in *Streptococcus pneumoniae* in Australia. Pneumococcal Study Group. Med J Aust, Sydney, v.170, n.4, p.152-155, Feb. 1999.
161. VICKERY, K. *et al.* Evaluation of the effectiveness of decontamination of dental syringes. Br Dent J, London, v.189, n.11, p.620-624, Dec. 2000.
162. VINCENTE, J.C.; VINCENTE, H.W. Filter paper disc modification of the

- Oxford cup penicillin determination. Proc Soc Exp Biol Med, Cambridge, v.5, p.162-164, 1944.
163. WARREN, D.K.; FRASER, V.J. Infection control measures to limit antimicrobial resistance. Crit Care Med, Philadelphia, v.29, n.4 Suppl, p.N128-N134, Apr. 2001.
164. WHITE, S.C.; GLAZE, S. Interpatient microbiological cross-contamination after dental radiographic examination. J Am Dent Assoc, Chicago, v.96, n.5, p.801-804, May 1978.
165. WISPLINGHOFF, H. *et al.* Molecular relationships and antimicrobial susceptibilities of viridans group streptococci isolated from blood of neutropenic cancer patients. J Clin Microbiol, Washington, v.37, n.6, p.1876-1880, June 1999.
166. WOOD, P. Controversies in cross-infection control. Br Dent J, London, v.17, n.7, p.249-251, Apr. 1993.
167. XIAOJING, L.I. *et al.* Systemic diseases caused by oral infection. Clin Microbiol Rev, Washington, v.13, p.547-558, Oct. 2000.

**Anexo 1**  
Representação fotográfica dos locais das colheitas



Figura 6 – Plantão de Urgência



Figura 7 – Botão da Cadeira Odontológica (1º Botão)

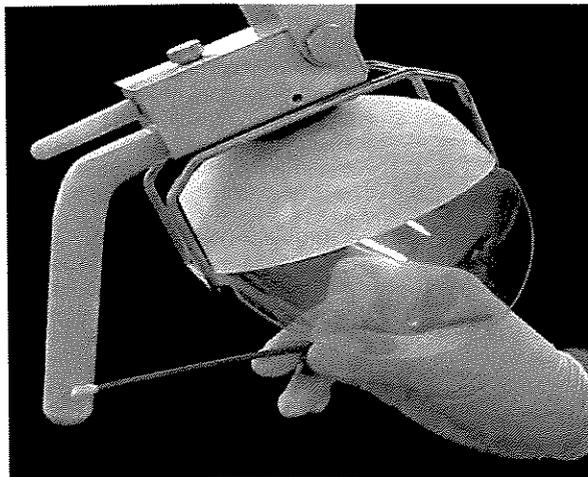


Figura 8 – Alça do Refletor

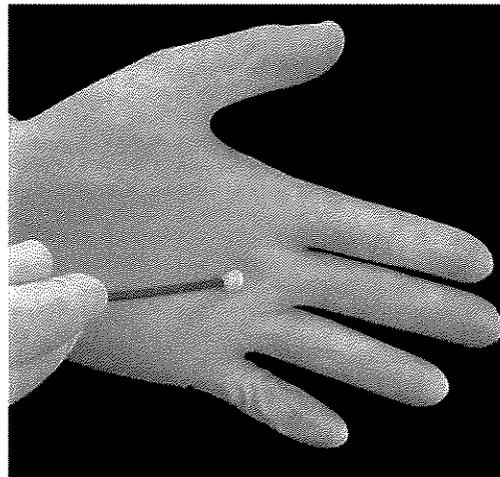


Figura 9 – Luvas

**Anexo 2**

Representação fotográfica dos locais das colheitas

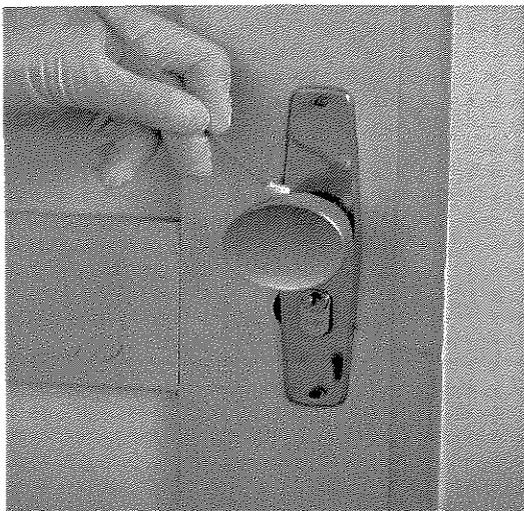


Figura 10 – Maçaneta

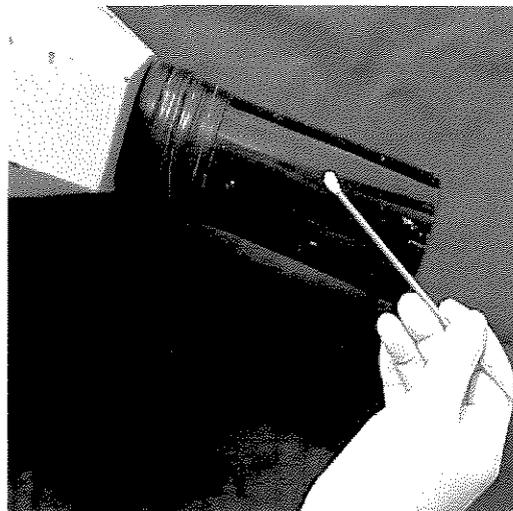


Figura 11 – Canhão do Raio-X

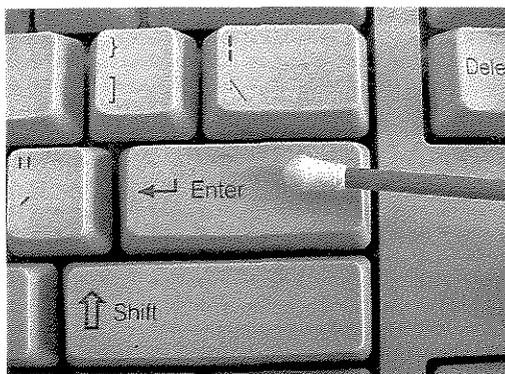


Figura 12 – Tecla "Enter"

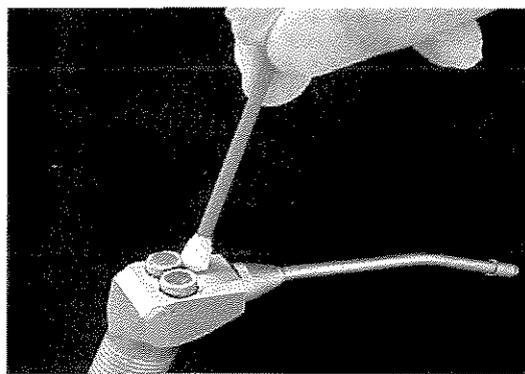


Figura 13 – Tecla Seringa tríplice

]  
**Anexo 3**

Representação fotográfica do crescimento dos microrganismos resultantes das amostras colhidas da Clínica

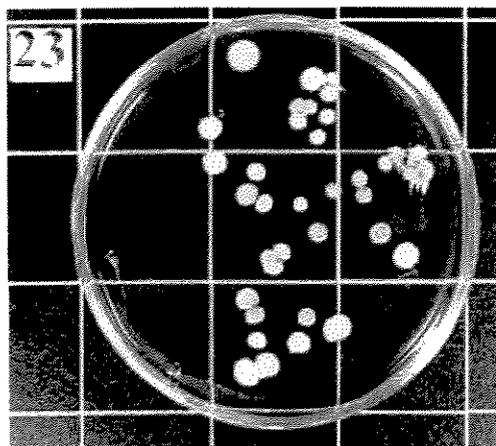


Figura 14 – Amostra obtida de um Botão de Cadeira Odontológica

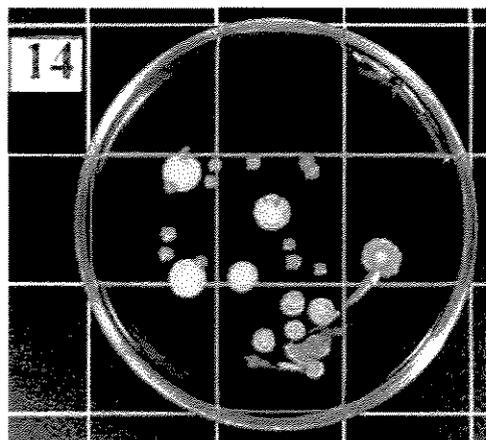


Figura 15 – Amostra obtida de uma Seringa Tríplice

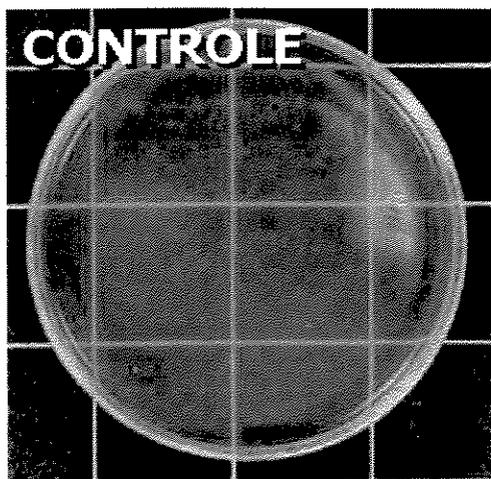


Figura 16 – Placa Controle

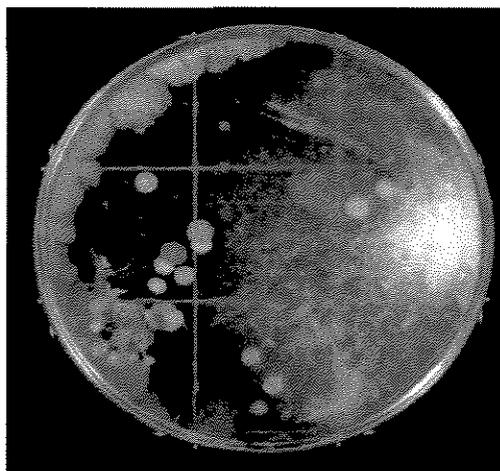


Figura 17 – Placa com Crescimento Fúngico

**Anexo 4**  
Testes para Identificação dos Microrganismos

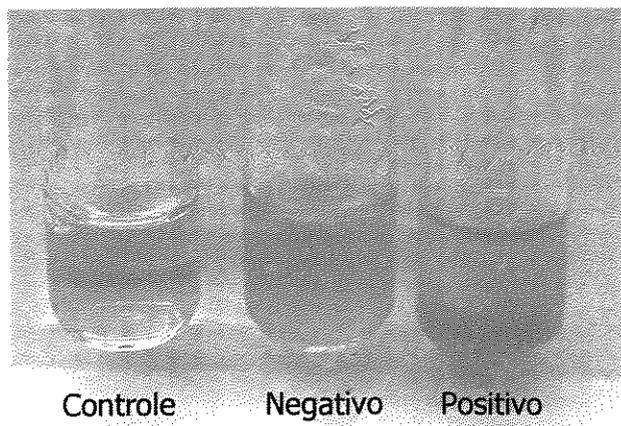


Figura 18 – Teste de Arginina

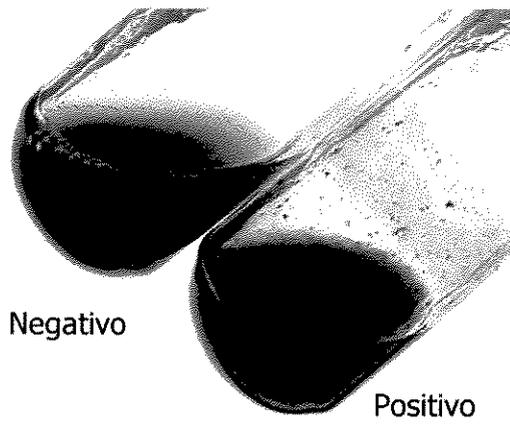


Figura 19 – Teste de Bile Esculina

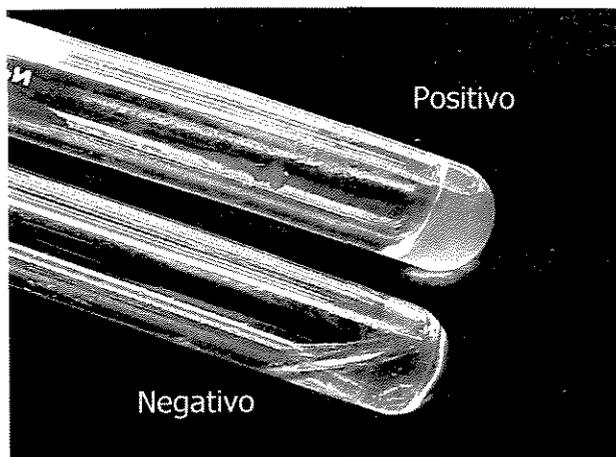


Figura 20 – Teste de Coagulase

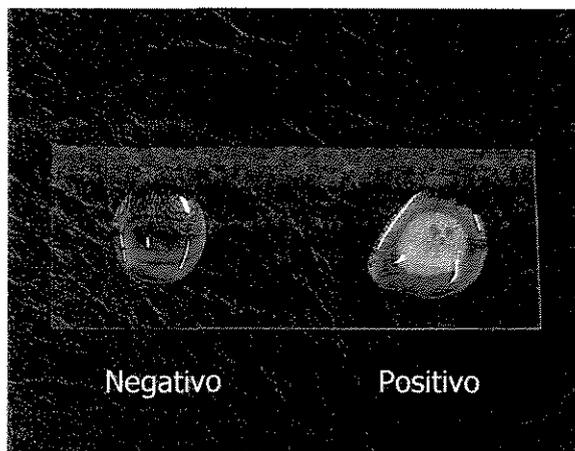


Figura 21 – Teste de Catalase

Anexo 5

Testes para Identificação dos Microrganismos

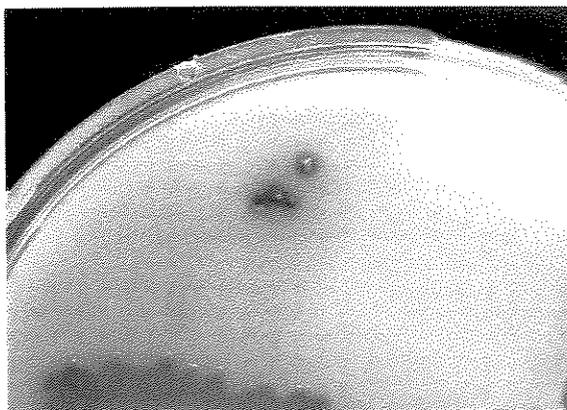


Figura 22 – Chromagar® Aureole

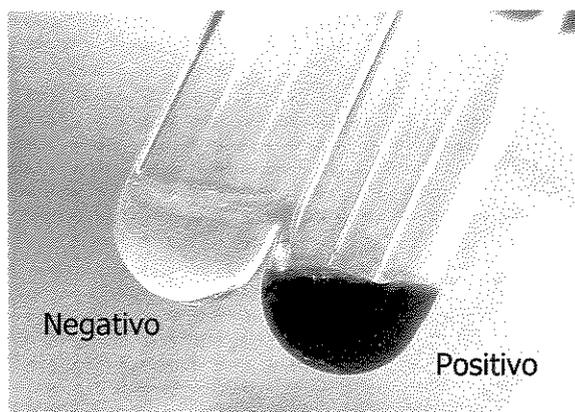


Figura 23 – Hidrólise de Hipurato de Sódio

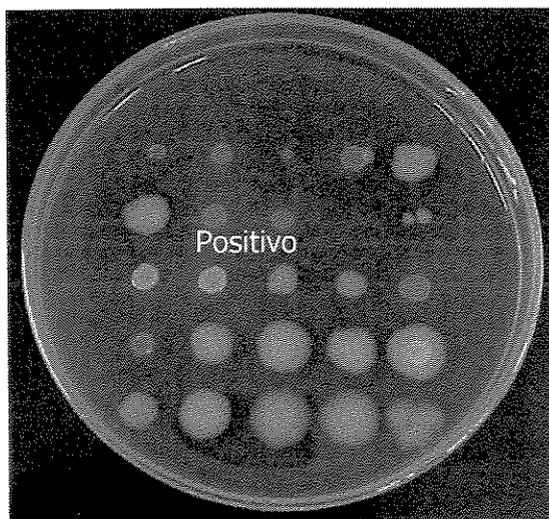


Figura 24 – Teste de Bacitracina

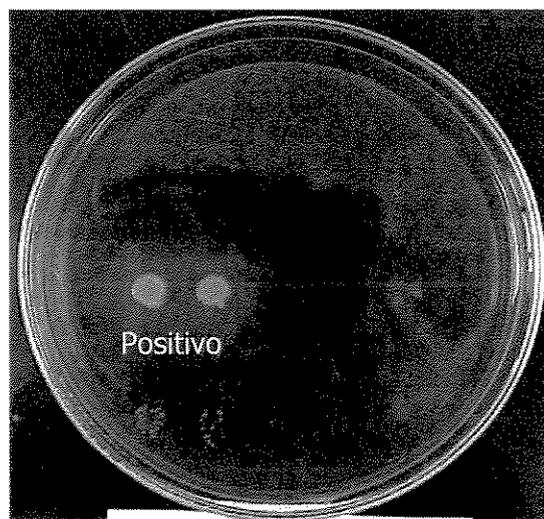


Figura 25 – Salt Manitol Agar

**Anexo 6**  
Testes para Identificação dos Microrganismos

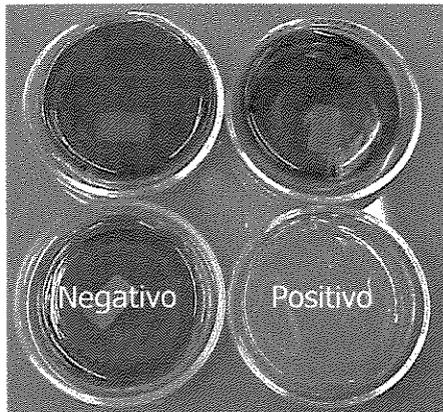


Figura 26 – Salt Manitol Agar 2

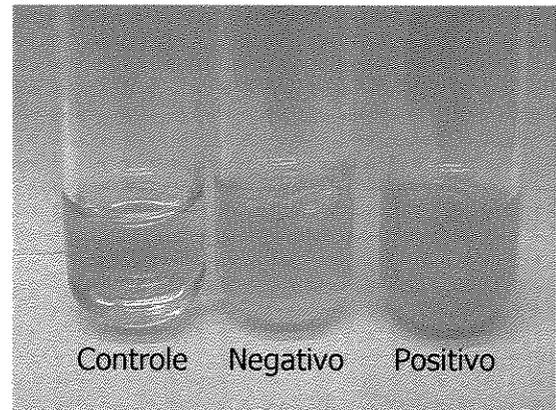


Figura 27 – Teste de Lactose

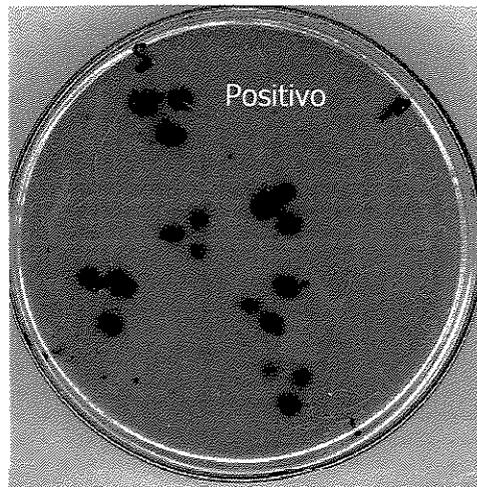


Figura 28 – Teste com Peróxido

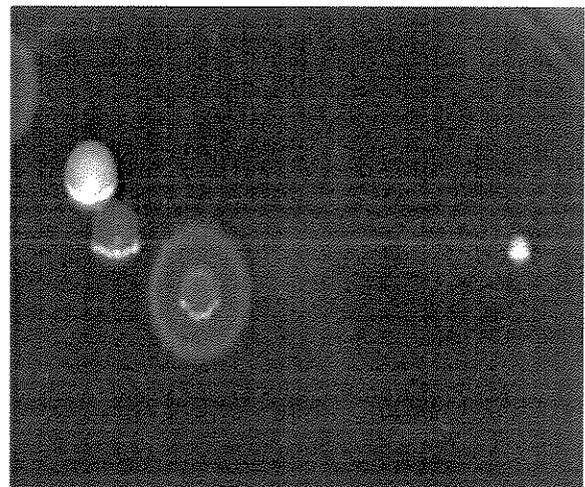


Figura 29 – Hemólise

Anexo 7

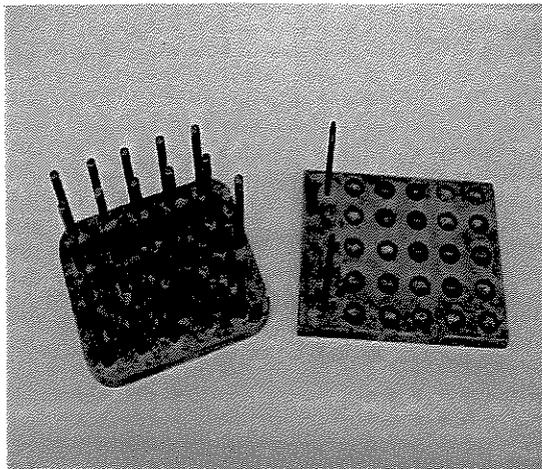


Figura 30 – Replicador de Stears

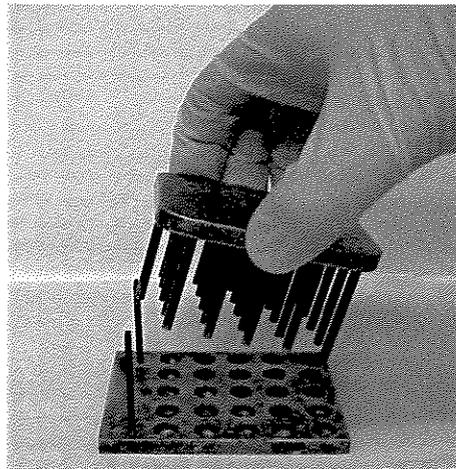


Figura 31 – Replicador de Stears

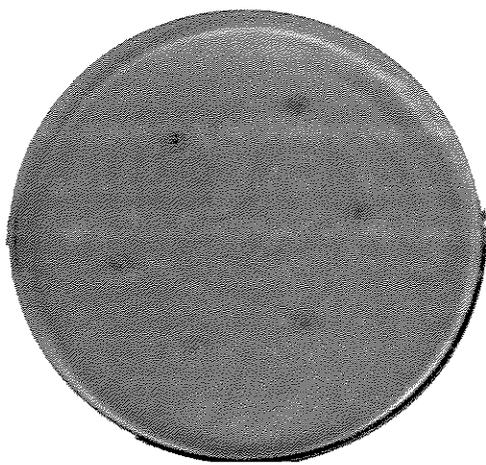


Figura 32 – Resultado de Antibiograma-  
bactéria resistente

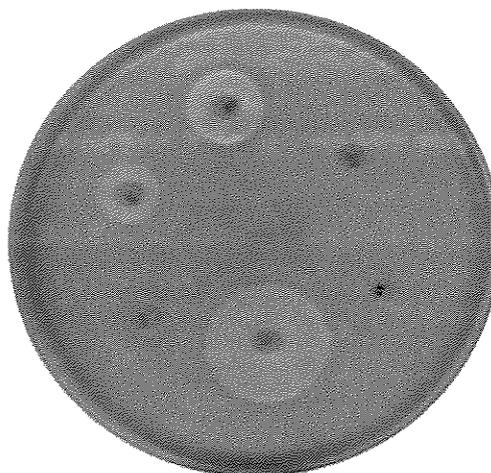


Figura 33 – Resultado de Antibiograma  
-bactéria sensível a alguns antibióticos

**Anexo 8**

Representação Fotográfica dos resultados obtidos pela Coloração de Gram

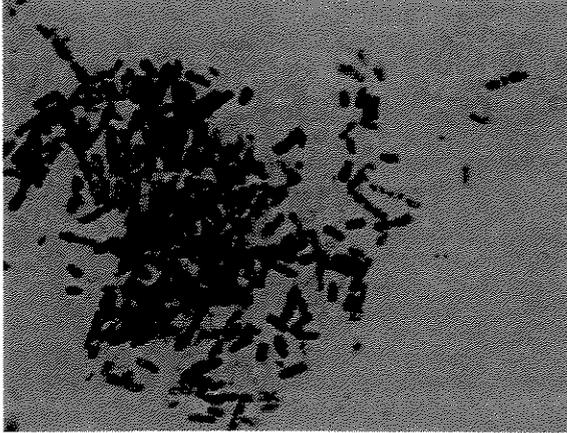


Figura 34 – *Bacillus cereus*

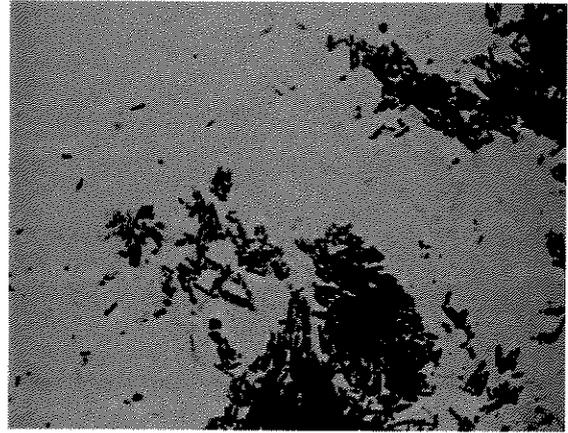


Figura 35 – *Bacillus subtilis*

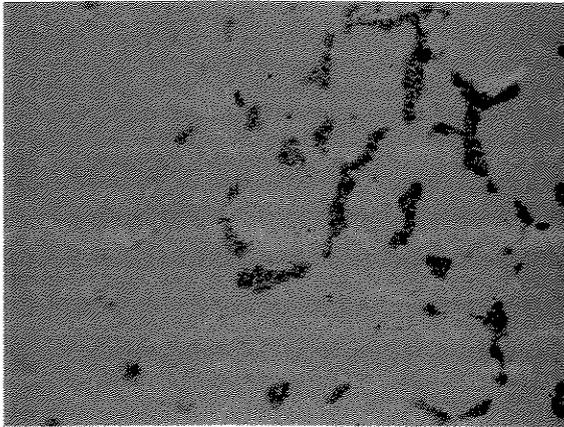


Figura 36 – *Staphylococcus aureus*

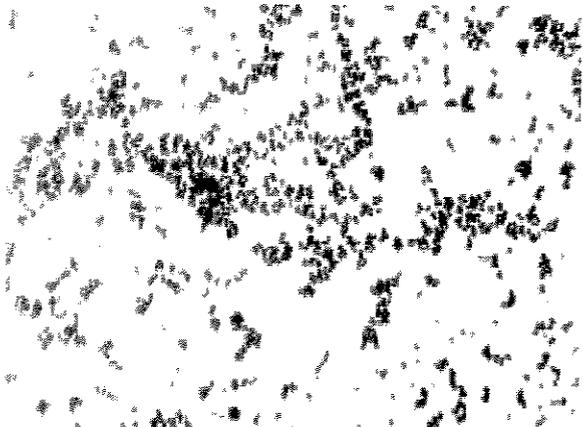


Figura 37 – *Streptococcus*