

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CAPACIDADE DE INATIVAÇÃO DE DESINFETANTES SOBRE
MICROORGANISMOS ISOLADOS DE SUPERFÍCIES FIXAS EM ÁREAS
CRÍTICAS DE UM HOSPITAL VETERINÁRIO DE ENSINO**

Dissertação de Mestrado

NESTOR HUGO GONZÁLEZ

PORTO ALEGRE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CAPACIDADE DE INATIVAÇÃO DE DESINFETANTES SOBRE
MICROORGANISMOS ISOLADOS DE SUPERFÍCIES FIXAS EM ÁREAS
CRÍTICAS DE UM HOSPITAL VETERINÁRIO DE ENSINO**

Autor: **Nestor Hugo González**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, na especialidade de Epidemiologia, Saneamento e Profilaxia.

Orientador: **Prof. Dr. César A. M. Avancini**

PORTO ALEGRE

2011

G643c González, Nestor Hugo

Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino / Nestor Hugo González. – Porto Alegre: UFRGS, 2011.

64 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2011. César Augusto Marchionatti Avancini, Orient.

1. Medicina veterinária preventiva 2. Desinfetantes 3. Hospital veterinário 4. Desinfecção: saúde animal I. Avancini, César Augusto Marchionatti, Orient. II. Título.

CDD 619.4

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nestor Hugo González

Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino.

Aprovado em de fevereiro de 2011.

APROVADO POR

Prof. Dr. César Augusto Marchionatti Avancini

Orientador e Presidente da Comissão

APROVADO POR

Prof^a Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

Membro da Comissão

APROVADO POR

Prof. Dr. José Maria Wiest

Membro da Comissão

APROVADO POR

Dr. Mauro Luis da Silva Machado

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me agraciado com esta conquista.

Ao Professor César pela oportunidade, confiança e aprendizado.

Às minhas queridas mãe e namorada, pela compreensão, incentivo e conselhos.

Aos meus amigos Jane e Luiz Alberto que sempre se dispuseram a me ajudar.

Agradeço a todos os outros, que de algum modo contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, tão importante para mim.

Muito obrigado.

RESUMO

GONZÁLEZ, N. H. Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino.

[Dissertação de Mestrado – Faculdade de Veterinária da UFRGS]

Superfícies fixas contaminadas de hospitais de clínicas veterinárias podem servir como fonte de contaminação por microrganismos potencialmente patogênicos comuns entre animais e seres humanos, promovendo riscos de infecções nosocomiais tanto para os pacientes quanto para os profissionais, estudantes e trabalhadores em saúde veterinária. Com a finalidade de controle dessa microbiota transmissível, procedimentos sanitários de desinfecção e descontaminação são prescritos para serem adotados no ambiente. O presente estudo teve como objetivos isolar e identificar a microbiota presente em superfícies fixas de áreas críticas do setor de pequenos animais de um hospital veterinário de ensino, e verificar a ação de inativação de grupos químicos desinfetantes sobre estes microrganismos. Com *swabs* rolados sobre a superfície de mesas inox de contato com os pacientes, nos setores de atendimento clínico ambulatorial, de internados, de fluidoterapia, de cirurgia e de pré-operatório, foram isolados *Staphylococcus spp.* coagulase (+) e (-), *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptococcus sp.* (não grupo D), *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter iwoffii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, Cocobacilo não fermentador, *Bacillus sp.*, *Citrobacter sp.* e *Candida guilliermondii*. Foi avaliada a capacidade de inativação dos desinfetantes ácido peracético, iodóforo, hipoclorito de sódio, quaternário de amônio, fenol sintético, clorhexidina e álcool. O método utilizado foi o de diluição, pela técnica de suspensão microbiana composta por três *pools* de bactérias (um por dia de coleta) e uma cultura de levedura, em três concentrações dos desinfetantes nos tempos de contato 1, 5 e 10 minutos. Os *pools* eram suspensos na solução desinfetante, e identificados os sobreviventes. Observou-se que o ácido peracético, nas concentrações 25 e 50 mg/L em 10 minutos de contato não inativou *Staphylococcus spp.* e *Candida guilliermondii*, e em 100 mg/L precisou mais de 5 minutos para inativá-los. O iodóforo, em 25 mg/L precisou de mais de 1 minuto para inativar *Staphylococcus spp.*, e 10 minutos não foram suficientes para inativar *Bacillus sp.* Mesmo em 100 mg/L, necessitou mais de 1 minuto para inativar *Staphylococcus spp.* O hipoclorito, na concentração 250 mg/L, em 1 minuto de contato não inativou *Bacillus sp.* e precisou de 10 minutos para inativar *Candida guilliermondii*. Frente a essa levedura, mesmo em 1.000 mg/L o hipoclorito de sódio precisou de tempo maior a 1 minuto para inativa-la. Os demais desinfetantes (quaternário de amônio, fenol sintético, clorhexidina e álcool), nas menores concentrações e tempos de contato, inativaram todos os microrganismos. Concluiu-se que nas superfícies de todos os ambientes hospitalares, puderam ser isolados microrganismos. Os testes *in vitro* evidenciaram que todos os grupos químicos

avaliados podem ser usados para inativar os isolados, mas que os fatores testados: gênero e espécie microbiana, concentrações e tempos de contato, interferiram na capacidade desinfetante.

Palavras-chave: desinfetantes, superfícies fixas, hospital veterinário.

ABSTRACT

GONZÁLEZ, N.H. Inactivation capability of disinfectants against microorganisms isolated from environmental surfaces in critical areas of a veterinary teaching hospital.

Noncritical environmental surfaces of veterinary hospitals might be contamination sources of potentially pathogenic microorganisms shared by animal species and humans beings, representing risks of nosocomial infections, either to the patients or to the medical and technical staff and students. Aiming to control this transmissible microbiota, sanitary procedures of decontamination and disinfection are prescribed to be adopted in these environments. The present study aimed to isolate and identify the microbiota occurring in environmental surfaces of critical areas of the small animals sector in a veterinary teaching hospital, and evaluate the inactivation action of disinfectants of different chemical groups against these microorganisms. *Staphylococcus spp.* coagulase (+) and (-), *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptococcus sp.* (not group D), *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter iwoffii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Cocobacilo* non-fermenting, *Bacillus sp.*, *Citrobacter sp.* and *Candida guilliermondii* were isolated by means of swabs rolled on the surfaces of stainless steel tables contacting with the patients in the following areas: ambulatory clinical, hospitalization, fluid therapy, surgery and pre-operative. The efficacy of peracetic acid, iodofor, sodium hypochlorite, a quaternary ammonium product, synthetic phenol, chlorhexidine and alcohol was evaluated. The method used was dilution by the suspension technique composed by three bacterial pools (one for each sampling day) and a yeast culture, in three disinfectant concentrations, and in 1, 5 and 10 minutes of contact. The pools were suspended in the disinfectant solutions and the survivors identified. Peracetic acid, in 25 and 50 mg/L concentration, in 10 min of contact did not inactivate *Staphylococcus spp.* and *Candida guilliermondii*, and in a concentration of 100mg/L needed more than 5 minutes to inactivate them. The iodofor, in 25 mg/L, took more than 1 minute to inactivate *Staphylococcus spp.*, and 10 minutes were insufficient to inactivate *Bacillus sp.*; even in a concentration of 100 mg/L it required more than 1 minute to inactivate *Staphylococcus spp.* The hypochlorite, in a concentration of 250 mg/L, in 1 minute of contact did not inactivate *Bacillus sp.* and required 10 minutes to inactivate *Candida guilliermondii*. Against this yeast, even a 1000 mg/L solution of sodium hypochlorite, required more than 1 minute to inactivate it. The other disinfectants (a quaternary ammonium product, synthetic phenol, chlorhexidine and alcohol) in the lowest concentrations and smaller contact times inactivate all the microorganisms identified. It was concluded that microorganisms might be isolated in surfaces of all environments of the hospital. The *in vitro* tests showed that all chemical groups evaluated could be used to inactivate the isolates, but the tested variables: genus and species of microorganisms, concentrations and contact times, interfered in the disinfectant efficacy.

Key-words: disinfectants, noncritical environmental surfaces, veterinary hospital.

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------------|---|----|
| Tabela 1 | Microrganismos isolados em superfícies fixas (mesas de aço inox) de áreas críticas de hospital veterinário de ensino. | 41 |
| Tabela 2 | Concentração, tempo de contato e capacidade de inativação de desinfetantes, sobre microrganismos isolados em superfícies fixas (mesas de aço inox) de áreas críticas de hospital veterinário de ensino. | 44 |
| Tabela 3 | Microrganismos isolados em superfícies fixas (mesas de aço inox) sobreviventes por concentração dos desinfetantes e tempos de contato, no teste de suspensão. | 45 |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 1.1 | Colocação dos problemas de pesquisa | 13 |
| 1.2 | Colocação das hipóteses de pesquisa | 13 |
| 1.3 | Objetivos gerais | 13 |
| 1.4 | Objetivos específicos | 14 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.1 | Contaminação em superfícies fixas de ambientes hospitalares | 15 |
| 2.2 | Hospitais veterinários | 17 |
| 2.3 | Desinfecção em superfícies fixas hospitalares como barreira sanitária | 18 |
| 2.4 | Normatização dos desinfetantes no Brasil | 20 |
| 2.5 | Grupos de desinfetantes permitidos para uso em superfícies fixas hospitalares | 20 |
| 2.5.1 | Ácido peracético | 20 |
| 2.5.2 | Iodo e derivados | 21 |
| 2.5.3 | Clorados | 21 |
| 2.5.4 | Quaternário de amônio | 21 |
| 2.5.5 | Fenóis | 22 |
| 2.5.6 | Biguanidas | 22 |
| 2.5.7 | Álcoois | 22 |
| 2.6 | Eficácia dos desinfetantes | 23 |
| 2.6.1 | Avaliação da eficácia dos desinfetantes em superfícies | 26 |
| 2.7 | Riscos de transmissibilidade | 26 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 28 |
| 3.1 | Identificação dos microrganismos | 28 |
| 3.1.1 | Coco Gram positivo | 28 |
| 3.1.1.1 | Teste da oxidase | 28 |
| 3.1.1.2 | Hidrólise da esculina | 28 |
| 3.1.1.3 | Tolerância a NaCl 6,5% | 29 |
| 3.1.1.4 | Sensibilidade a bacitracina | 29 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.1.1.5 | Coagulase em tubo | 29 |
| 3.1.2 | Bacilo Gram positivo | 29 |
| 3.1.2.1 | Reação da lecitinase | 30 |
| 3.1.2.2 | Fermentação do manitol | 30 |
| 3.1.2.3 | Motilidade | 30 |
| 3.1.2.4 | Redução do nitrato | 30 |
| 3.1.2.5 | Decomposição da tirosina | 31 |
| 3.1.2.6 | Crescimento rizoidal | 31 |
| 3.1.3 | Bacilo Gram negativo | 31 |
| 3.1.3.1 | TSI (agar triplice açúcar ferro) | 31 |
| 3.1.3.2 | LIA (agar ferro lisina) | 32 |
| 3.1.3.3 | Citrato | 32 |
| 3.1.3.4 | Ornitina | 32 |
| 3.1.3.5 | Malonato | 32 |
| 3.1.3.6 | Fenilalanina | 33 |
| 3.1.3.7 | Uréia | 33 |
| 3.1.3.8 | Cetrimide | 33 |
| 3.1.3.9 | Motilidade | 33 |
| 3.1.3.10 | Indol | 34 |
| 3.1.4 | Leveduras | 34 |
| 3.2 | Teste de eficácia frente aos microrganismos | 34 |
| 4 | ARTIGO CIENTÍFICO | |
| | Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino. | 36 |
| 5 | CONCLUSÕES | 51 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 52 |
| | APÊNDICE A Concentração e tempo mínimo testados, necessários para inativar os microrganismos confrontados. | 57 |
| | APÊNDICE B Grupos de microrganismos isolados por local de amostragem. | 58 |
| ANEXO | A Laudo de Análise Ácido Peracético | 59 |
| ANEXO | B Laudo de Análise Iodóforo | 60 |

| | | | |
|-------|---|--|----|
| ANEXO | C | Laudo de Análise Hipoclorito de Sódio | 61 |
| ANEXO | D | Laudo de Análise Quaternário de Amônio | 62 |
| ANEXO | E | Laudo de Análise Clorhexidina | 63 |
| ANEXO | F | Laudo de Análise Álcool Etílico | 64 |

1 INTRODUÇÃO

A infecção nosocomial é aquela que ocorre tendo como local de contaminação o ambiente hospitalar. No ambiente hospitalar veterinário, a proximidade dos profissionais e trabalhadores de serviços de saúde animal com os animais doentes, oferece condições favoráveis para a transmissão de microrganismos pelo contato direto, através de secreções ou fluidos orgânicos, por exemplo, ou indiretamente através de utensílios e superfícies inanimadas de contato. A via oposta de transmissão, ou seja, do humano para o animal igualmente pode acontecer nas mesmas condições.

As superfícies fixas hospitalares são aquelas superfícies inanimadas de grande extensão, tais como pisos, paredes, mobiliários etc.. (BRASIL, 2007). Estas superfícies são classificadas como não críticas (classificação de Spaulding), ou seja, apresentam baixo risco de transmissão de patógenos aos pacientes, quando em contato com a pele íntegra, pois esta é uma importante barreira de proteção. No entanto, quando essas superfícies estão em áreas críticas, na qual existe o risco aumentado para o desenvolvimento de infecções relacionadas à assistência à saúde, os fatores relacionados com a possibilidade de infecção são maiores. Ainda que estas superfícies não impliquem diretamente na transmissão de doenças, elas podem contribuir potencialmente para a transmissão cruzada, principalmente pelo contato das mãos dos profissionais de saúde com objetos invasivos, com os pacientes e superfícies ou vice versa (RUTALA e WEBER, 2001).

Carvalho *et al.* (2007) reforçam essa idéia, observando que a contaminação microbiana em superfícies, tocadas pelas mãos, em ambientes hospitalares, freqüentemente são vistas como possíveis fontes de infecções. Como exemplo, investigação realizada em piso, grade, maçaneta de porta e mesa de cabeceira de 26 alas com pacientes humanos infectados com *S. aureus* e 26 alas de pacientes não infectados, constataram que aproximadamente 50% de todos os locais estavam contaminados por essa bactéria.

Na prevenção e no controle das infecções nosocomiais que têm como fonte de infecção o ambiente/superfícies dos hospitais, entre outros procedimentos, é indicada a adoção de protocolos de higienização. Estes são compostos por duas etapas: a limpeza e a desinfecção. A primeira refere-se à remoção de sujidades e matéria orgânica, e a segunda a ação direta sobre os microrganismos (ROMÃO, 1998).

Compreende-se por desinfecção a destruição de patógenos e outros microrganismos, mas não necessariamente todas as formas microbianas, em superfícies inanimadas. Em consequência deste procedimento, tem-se a diminuição ou eliminação de riscos de transmissão de doenças (CDC, 2008; RUTALA *et al.*, 2000). Diminuir ou eliminar a carga microbiana presente nas superfícies não é tarefa simples (ANDRADE *et al.* 2000; SANTOS *et al.* 2007), sendo para tanto imprescindível a escolha certa do

agente desinfetante, além de capacitação de pessoal enfatizando as condições de uso conforme grau de risco.

O presente estudo teve como objetivos isolar e identificar a microbiota presente em superfícies fixas (mesas inox) de áreas críticas do setor de pequenos animais de um hospital veterinário de ensino, e verificar a eficácia de grupos químicos desinfetantes sobre estes microrganismos.

1.1 Colocação dos problemas de pesquisa

Qual a microbiota presente em superfícies fixas do ambiente Hospital Veterinário de Ensino?

Grupos químicos desinfetantes serão capazes de inativar a microbiota sobrevivente à higienização de rotina nas superfícies fixas do Hospital Veterinário de Ensino? Em qual a concentração? Qual o tempo de contato?

Todos desinfetantes têm igual eficácia frente aos microrganismos isolados?

1.2 Colocação das hipóteses de pesquisa

Serão isolados microrganismos de diversos gêneros e espécies, alguns deles comuns entre humanos e animais.

Os desinfetantes hipoclorito de sódio, clorhexidina, quaternário de amônio, iodóforo, ácido peracético, álcool e fenol sintético inativam os microrganismos sobreviventes, nas mais baixas concentrações indicadas para uso nos tempos de contato variando entre 1 e 10 minutos.

A eficácia de inativação dos desinfetantes irá variar entre os gêneros microbianos.

1.3 Objetivos gerais

Monitorar a existência de microrganismos resistentes a desinfetantes.

Fornecer subsídios para elaboração de protocolos de desinfecção em ambientes hospitalares veterinários.

1.4. Objetivos específicos

Isolar e identificar a microbiota presente em superfícies fixas de ambiente hospitalar veterinário, e avaliar, por teste padronizado, a capacidade de inativação de desinfetantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Contaminação em superfícies fixas de ambientes hospitalares

Classificam-se as áreas físicas dentro de um serviço de saúde, segundo o risco potencial de aquisição de infecções, como: críticas, semi-críticas e não críticas. Áreas denominadas críticas, requerem uma higienização diferenciada, pois são áreas na qual existe risco aumentado para desenvolvimento de infecções relacionadas à assistência à saúde, seja pela execução de processos envolvendo artigos críticos ou material biológico, pela realização de procedimentos invasivos ou pela presença de pacientes com suscetibilidade aumentada aos agentes infecciosos ou portadores de microrganismos de importância epidemiológica (BRASIL, 2009).

Define-se como infecção hospitalar (Brasil, 1998), aquela que é adquirida após a admissão do paciente e que se manifesta durante a internação ou após a alta, quando associada com a internação ou procedimentos hospitalares.

As superfícies fixas em serviços de saúde, segundo definição oficial (Brasil, 2007) são aquelas superfícies inanimadas de grande extensão, tais como pisos, paredes, mobiliários etc.

A contaminação microbiana em superfícies, tocadas pelas mãos, em ambientes hospitalares, freqüentemente são vistas como possíveis fontes de infecções. No mecanismo de transmissão de infecção nos hospitais, as mãos contaminadas do pessoal hospitalar atuam como importante meio de disseminação de agentes causais transmissíveis. Um dos processos que podem interromper esta cadeia é a esterilização de artigos, e outro, a desinfecção de artigos e ambientes, dentro das devidas proporções de necessidade (BRASIL, 1994).

Conforme avaliação de Carvalho *et al.* (2007) realizada em piso, grade, maçaneta de porta e mesa de cabeceira de 26 alas com pacientes humanos infectados com *S. aureus* e 26 alas de pacientes não infectados, aproximadamente 50% dos locais estavam contaminados por *S. aureus*. Também os resultados de Lemmen *et al.* (2004), indicaram que superfícies inanimadas de quartos em hospital com pacientes humanos colonizados

ou infectados por *S. aureus* meticilina resistentes (MRSA) e *Enterococcus* vancomicina resistentes (VRE), tornam-se frequentemente contaminadas e, portanto, as superfícies e objetos podem muito provavelmente servir como fonte secundária para transmissão cruzada destas bactérias. Precauções como isolamento dos pacientes em quarto individual, uso de luvas, desinfecção ambiental e outras formas de barreira sanitária foram recomendadas para minimizar estes riscos.

Algumas bactérias têm habilidade para sobreviver no ambiente por longos períodos. Linhagens de *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, de isolados clínicos e ambientais, foram testadas e algumas recuperadas após quatro meses da contaminação provocada, em superfícies de PVC, apresentando contagem em torno de 10^2 UFC (WENDT *et al.*, 1998). Da mesma forma, Jawad *et al.* (1998) em experimento simulando a sobrevivência de *Acinetobacter baumannii* em superfície de vidro, observaram que as linhagens sobreviveram por até 33 dias nesta condição. Salientaram que a sobrevivência durante este período de tempo, em ambiente com uma pobre higiene, desinfecção imprópria e o elevado grau seletivo associado ao uso extensivo de agentes antimicrobianos de amplo espectro, pode permitir possíveis infecções.

Superfícies de equipamentos também já foram avaliadas. Visto a possibilidade de ocorrer infecções cruzadas em radiologia odontológica, Silva *et al.* (2003), analisaram 17 equipamentos de raio-X, após procedimento clínico, e encontraram índices de 50% de contaminação por *Staphylococcus spp.*, 30% por *Candida spp.* e *Streptococos* grupo *mutans*, e 6% por bacilos Gram negativos.

No caso da contaminação por fungos, Martins-Diniz *et al.* (2005) recuperaram leveduras pelo método do *swab* em amostras de maçanetas, leitos e aparelhos telefônicos de ambientes hospitalares humanos. Das amostras avaliadas foram isolados *Candida spp.* e *Trichosporon spp.*, gêneros destacados pelos autores como responsáveis por infecções hospitalares.

Para o Centers for Disease Control and Prevention - CDC (2003), amostragens em superfícies inanimadas normalmente são utilizadas como parte de uma investigação epidemiológica, ou seja, pesquisar fontes potenciais de doenças, a sobrevivência de microrganismos em superfícies, fontes de contaminação ambiental ou parte de investigação de um surto, neste caso a identificação dos isolados deve ser no nível de espécie.

Padrões microbiológicos para avaliar a higiene de superfícies em ambientes hospitalares não existem. Dancer *et al.* (2004) propõem dois ensaios a serem pesquisados em ambientes hospitalares humanos, a saber, pesquisa de microrganismos indicadores de alto risco para os pacientes, como *Staphylococcus aureus* incluindo MRSA, *Clostridium difficile*, bacilos Gram negativos resistentes, *Enterococcus* resistente a vancomicina, *Salmonella spp.* e outros microrganismos associados a infecções graves em pacientes imunocomprometidos, e a quantificação da carga microbiana em área específica. O padrão para contagem microbiana seria < 5 UFC/cm² para superfícies tocadas pelas mãos. Uma carga ≥ 5 UFC/cm² sugeriria que a superfície está sendo insuficientemente higienizada, aumentando a chance de haver patógenos.

2.2 Hospitais veterinários

No ambiente hospitalar veterinário, o trânsito contínuo de animais enfermos implica em risco potencial de infecções entre pacientes e trabalhadores deste local. A proximidade dos profissionais de serviços de saúde animal, com os animais doentes oferece condições favoráveis para a transmissão de microrganismos pelo contato direto, através de secreções ou fluidos orgânicos ou indiretamente através de utensílios e superfícies inanimadas de contato. Mesmo um microrganismo comensal de muitos animais, como *S. intermedius*, é transmitido e infecta o homem (GUARDABASSI *et al.*, 2004).

A via oposta de transmissão, ou seja, do humano para o animal igualmente pode acontecer. Surto por Estafilococos ocorrido com cavalos, em hospital veterinário, teve a origem humana como provável fonte de infecção, visto que os animais infectados vieram de diferentes localidades, períodos e sem aparente infecção estafilocócica no momento da entrada ao hospital (SEGUIN *et al.*, 1999). Há cada vez mais relatos de infecção e colonização por *S. aureus* MRSA em cavalos e evidências de que eles podem ser transmitidos entre cavalos e humanos (WEESE *et al.* 2006).

Segundo Andrade *et al.* (1991), as bactérias isoladas em seu estudo realizado em superfícies fixas de um hospital veterinário, poderiam desempenhar papel importante para infecções hospitalares. Pelo método do *swab*, foram avaliados boxes de

internamento e isolamento, mesas cirúrgicas, ambulatoriais e de enfermagem, e sala de cirurgia. Detectou-se, em ordem decrescente, *Estafilococos coagulase negativa*, *Enterobacter sp.*, *Micrococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Estafilococos coagulase positiva*, *Proteus sp.*, *Citrobacter sp.*, *E. coli* e *Providencia sp.*

Dunowska *et al.* (2005) testaram a eficácia da desinfecção por nebulização utilizando desinfetante de amplo espectro, sob diferentes superfícies em hospital veterinário. Concluíram que, a exceção de uma mesa de madeira não tratada, as superfícies horizontais apresentaram maior redução bacteriana comparada às superfícies verticais. Por fim, recomendam que superfícies porosas devam ser evitadas em áreas críticas hospitalares.

2.3 Desinfecção em superfícies fixas hospitalares como barreira sanitária

Compreende-se por desinfecção a destruição de patogênicos e outros microrganismos, mas não necessariamente todas as formas microbianas, em superfícies inanimadas, previamente limpas. Difere da descontaminação, onde o agente desinfetante é aplicado diretamente sobre a matéria orgânica presente na superfície, sendo posteriormente removido o conteúdo descontaminado seguido da limpeza na superfície (BRASIL, 1994).

Em revisão feita por Rutala e Weber (2001), discutiu-se a aplicabilidade de desinfetantes ou detergentes em superfícies fixas hospitalares, como formas preventivas à contaminação ambiental. Estas superfícies são classificadas como não críticas, ou seja, apresentam baixo risco de transmissão de patógenos aos pacientes, quando em contato com a pele íntegra, pois esta é uma importante barreira de doenças. Porém, ainda que estas superfícies não impliquem diretamente na transmissão de doenças, elas podem contribuir potencialmente para a transmissão cruzada, principalmente pelo contato das mãos dos profissionais de saúde com os pacientes e superfícies ou vice versa. Como justificativa ao emprego de desinfetantes em superfícies não críticas hospitalares, os autores destacam: as superfícies podem contribuir com a transmissão de importantes patógenos, os desinfetantes são necessários para descontaminação onde há sangue e outros materiais biológicos, os desinfetantes são mais efetivos do que os detergentes na

redução da carga microbiana em superfícies, o uso de um único produto como desinfetante para descontaminação é mais prático e vantajoso, os detergentes tornam-se contaminados durante os procedimentos de limpeza, e por último o Centers for Disease Control and Prevention – CDC recomenda a desinfecção nas superfícies não críticas em áreas com pacientes em isolamento. Em contrapartida, superfícies não críticas contribuem minimamente com infecções hospitalares, os detergentes causam menos impacto ambiental quando descartados, não há riscos ocupacionais, menos custos, e alguns experimentos tem sugerido que o uso de desinfetantes pode promover, aos microrganismos, o desenvolvimento de resistência a antibióticos.

Na Noruega é comum utilizar água e sabão para limpeza dos quartos de pacientes humanos que não estejam em isolamento. Não é utilizado desinfetante, com propósito de se evitar o desenvolvimento de resistência dos microrganismos aos desinfetantes. Prática que Andersen *et al.* (2009) avaliaram com diferentes métodos de limpeza com uso de *mops* nos pisos de quartos de hospital, e verificaram a redução da carga bacteriana de 60-100 UFC/placa de contato para 30-60 UFC/placa de contato após limpeza. No entanto, as amostras de ar interior apresentaram números maiores de bactérias após a limpeza dos pisos.

Outros autores vêem as superfícies horizontais como importantes fontes de contaminação. Patterson *et al.* (1994) instituíram um programa de controle da disseminação de microrganismos multiresistentes ou potencialmente perigosos, sendo que este programa estabelece a desinfecção de todas as superfícies horizontais ao redor de pacientes humanos colonizados ou infectados. Nos hospitais onde se adotou esta medida preventiva, houve controle destes microrganismos.

Procedimentos de desinfecção de superfícies são práticas básicas para o controle da transmissão de infecções hospitalares. Porém, se a execução de tais procedimentos não seguir a rigor os protocolos, muitos fatores irão comprometer a desinfecção, tais como temperatura, tempo de contato, concentração, presença de matéria orgânica, o tipo de material a ser desinfetado, o número e resistência da biocarga sobre a superfície, entre outros fatores que prejudicam o processo de desinfecção (WIEST, 1984; CDC, 2003; WHO, 2004).

2.4 Normatização dos desinfetantes no Brasil

A Portaria nº 15/88 – MS (BRASIL,1988) determina as normas para fins de registro dos produtos desinfetantes, e os princípios ativos permitidos para uso hospitalar. Em 1993, a Portaria nº122/DTN – MS (BRASIL, 1993) inclui o princípio ativo ácido peracético no grupo dos desinfetantes hospitalares para uso em superfícies fixas. No ano de 2007, a Resolução RDC nº 14/07 – ANVISA revoga alguns itens da Portaria nº 15/88 e proíbe o princípio ativo aldeído para desinfecção em superfícies fixas hospitalares. Lembramos que a legislação vigente dispõe também definições, limitações e outras informações cabíveis para emprego correto dos produtos desinfetantes.

Quanto às normas para controle de infecção hospitalar, a Portaria nº 2.616/98 – MS permite para uso, somente os princípios ativos liberados pela Portaria nº 15/88 e outras que a complementam ou substituam.

2.5 Grupos de desinfetantes permitidos para uso em superfícies fixas hospitalares

Oficialmente pela Portaria nº15/88 – MS define-se desinfetante como formulação que tem na sua composição substâncias microbidas e apresentam efeito letal para microrganismos não esporulados. A Resolução RDC nº 14/07 – ANVISA, define como produto que mata todos os microrganismos patogênicos, mas não todas as formas microbianas esporuladas em objetos e superfícies inanimadas.

2.5.1 Ácido peracético

Pouco se sabe sobre o mecanismo de ação do ácido peracético, mas acredita-se que funciona de forma semelhante aos outros agentes oxidantes, isto é, desnatura proteínas, desorganiza a permeabilidade da parede celular e oxida metabólitos. O ácido

peracético inativa bactérias e fungos em tempo ≤ 5 minutos em concentração < 100 mg/L (CDC, 2008). Possui ampla atividade microbicida, no entanto é instável quando diluído (NOGAROTO e PENNA, 2006).

2.5.2 Iodo e derivados

Solução de iodo ou tinturas foram muito utilizadas pelos profissionais de saúde como anti-séptico. Iodóforos, por outro lado, têm sido utilizados tanto como anti-séptico e desinfetante. O iodo penetra na parede celular dos microrganismos rapidamente, e os efeitos letais acredita-se que resultam na ruptura das proteínas e ácidos nucleicos (CDC, 2008). Os iodados são bastante sensíveis à presença de matéria orgânica e causam manchas em plásticos e têxteis (WIEST, 1984).

2.5.3 Clorados

Os liberadores de cloro têm sua eficácia relacionada com a quantidade de cloro livre disponível, ou seja, em solução aquosa o íon hipoclorito e ácido hipocloroso. Sua ação bactericida ocorre pela oxidação de moléculas vitais na célula (WIEST, 1984). São ativos para bactérias vegetativas, micobactérias, esporos bacterianos, fungos e vírus. Em altas concentrações apresentam efeito letal para os príons. No entanto reagem rapidamente com a matéria orgânica, o que diminui sua atividade. Fato considerável quando utilizado para desinfecção e descontaminação de superfícies contendo sangue e outros fluidos corpóreos (ROMÃO, 1998).

2.5.4 Quaternário de amônio

Sua ação bactericida é atribuída à inativação de enzimas produtoras de energia, desnaturação de proteínas e ruptura da membrana celular. O quaternário de amônio é

comumente utilizado em saneamento ambiental de superfícies não críticas, como pisos, móveis e paredes (CDC, 2008). Suas principais desvantagens são inativação por tensoativos aniônicos, baixa atividade em água dura, formação de espumas e pouca efetividade sobre esporos bacterianos (ANDRADE e MACEDO, 1996).

2.5.5 Fenóis

Desinfetante que altera a permeabilidade da membrana celular. Alguns compostos fenólicos são excelentes fungicidas, mas apresentam baixa eficácia sobre esporos bacterianos e vírus (ANDRADE e MACEDO, 1996). Como desvantagens possuem restrições para desinfecção de materiais porosos, devido absorção nos mesmos, e pela sua toxicidade (NOGAROTO e PENNA, 2006).

2.5.6 Biguanidas

In vitro, a clorhexidina inibe o crescimento de células vegetativas de bactérias Gram positivas e negativas, em diluições relativamente altas. A clorhexidina reage com a célula a partir de grupamentos lipofílicos, provocando uma desorientação da membrana lipoprotéica, o que leva a uma alteração em sua função de barreira osmótica (ANDRADE e MACEDO, 1996). Possui incompatibilidade com sabão e outros agentes aniônicos e pode provocar manchas em tecidos principalmente, de algodão (CERQUEIRA, 1997).

2.5.7 Álcoois

A ação antimicrobiana do álcool é a desnaturação de proteínas. Sua melhor concentração bactericida é de 60 a 90 ° GL (CDC, 2008). O álcool etílico é o mais usado, devido à sua disponibilidade e baixo custo. É um desinfetante de nível

intermediário de fácil aplicação, porém devido à rápida evaporação há dificuldade em precisar o tempo de exposição e não penetra em matéria orgânica (NOGAROTO e PENNA, 2006).

2.6 Eficácia dos desinfetantes

As bactérias como todos os seres vivos exibem mecanismos biológicos, que as permitem adequarem-se a diversas pressões ambientais. A resistência adquirida aos anti-sépticos e desinfetantes surge por uma propriedade natural de um organismo, ou surge por mutação ou por aquisição de plasmídeos ou transposons (CABRERA *et al.*, 2007).

Um biofilme confere resistência aos agentes antimicrobianos. Théraud *et al.* (2004), usando três leveduras de isolados clínicos, duas leveduras isoladas de ambiente hospitalar e dois *mixes* destas leveduras frente aos desinfetantes hipoclorito de sódio 0,38% e álcool 70%, não obteve efeito fungicida nesta condição. Porém em confronto sob suspensão, os desinfetantes foram eficazes em todas as espécies testadas.

Considerando a influência de outros fatores, concentração, matéria orgânica, tempo de contato e microrganismo, Medeiros *et al.* (2009) observaram uma grande variação quanto à sensibilidade de *Staphylococcus spp.* frente a diferentes princípios ativos. Iodo teve atividade antimicrobiana de 100% em 1 e 5 minutos de contato frente a *S. aureus* e para Estafilococos coagulase positiva teve ação antimicrobiana em 30 segundos de contato. Apenas 6,7% das cepas de *S. aureus* apresentaram sensibilidade durante 5 minutos de contato ao princípio ativo cloro, e 100% das cepas Estafilococos coagulase positiva foram resistentes a ele, no mesmo período.

A presença de matéria orgânica em teste de eficácia feito por Souza e Daniel (2005), comparando cloro ao ácido peracético, mostrou a interferência deste fator na atividade antimicrobiana do cloro. Ácido peracético apresentou maior ação que o cloro, inativando os microrganismos confrontados em concentrações de até 5 mg/L.

Em experimento realizado por Kich *et al.* (2004), demonstraram como a presença de matéria orgânica prejudica na desinfecção. Avaliando a eficácia de seis

grupos desinfetantes, obteve, na presença de matéria orgânica, diminuição na atividade antimicrobiana de quaternário de amônio, glutaraldeído com cloreto de benzalcônico, iodóforo, fenol e hipoclorito de sódio 0,1%, confrontados com linhagens de *Salmonella typhimurium* durante 15 minutos de contato. Todos desinfetantes foram diluídos conforme recomendação dos fabricantes. Exceto ácido peracético e hipoclorito de sódio 1% foram eficazes em todas as repetições do ensaio.

Contrapartida, a presença de matéria orgânica adicionada em pinças cirúrgicas contaminadas com culturas bacterianas, apresentou pouca interferência na ação desinfetante de hipoclorito de sódio 1%, álcool 70%, glutaraldeído 2% e peróxido de hidrogênio 6%. Na grande parte das amostras houve eliminação total das bactérias (SOUZA *et al.* 1998).

Altas concentrações de desinfetantes utilizadas por Estrela *et al.* (2003), mostraram que pelo método de exposição direta com papel absorvente contaminado por microrganismos e posteriormente cobertos com solução desinfetante, em 30 minutos de contato *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *mix* de microrganismos, não foram suscetíveis à ação antimicrobiana de clorhexidina 2%. Já hipoclorito de sódio 2%, nas mesmas condições, foi eficaz em 5 minutos de contato. Também utilizando método de impregnação em papel, Pérez *et al.* (2006) observaram que 79,56% das cepas testadas não foram inativadas frente à clorhexidina 2%.

De acordo com Guimarães *et al.* (2000), avaliando a atividade bactericida, comparando hipoclorito de sódio, glutaraldeído, composto de formaldeído-quaternário de amônio-álcool etílico, fenol sintético e quaternário de amônio frente a bactérias isoladas em hospital e linhagens padrões, observou que os desinfetantes quaternário de amônio e fenol devem ser usados em altas concentrações, em ambos os casos, para termos suscetibilidade. Entretanto, sugerem que os desinfetantes devam ser selecionados baseados sob circunstâncias em particular, como tipo bacteriano.

Em estudo realizado por Borowsky *et al.* (2006), avaliando a sensibilidade de 96 amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos, frente aos desinfetantes quaternário de amônio e iodofor, observaram que o desinfetante iodofor, na concentração recomendada pelo fabricante, em 60 minutos de tempo de contato inativou 95,8% das amostras, e em subconcentração inativou apenas 38,5% das amostras. No

caso do quaternário de amônio, 100% das amostras foram inativadas nas duas concentrações usadas, nos primeiros 5 minutos de exposição.

Bacilos Gram negativos e cocos Gram positivos resistentes a antibióticos são os principais patógenos hospitalares, especialmente *S. aureus* resistente a meticilina e *Enterococcus* resistente a vancomicina. Assim, Rutala *et al.* (2000) avaliaram a eficácia de desinfetantes comerciais contra cepas padrão de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli* O157:H, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* suscetível e resistente a meticilina, *Enterococcus* suscetível e resistente a vancomicina. Seus resultados mostraram que ambos os tempos de contato, 30 segundos e 5 minutos, inativaram quase completamente as suspensões bacterianas, e obtiveram evidências de que tanto *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina e *Enterococcus* resistente a vancomicina quanto as linhagens suscetíveis a antibióticos destes agentes, são sensíveis aos desinfetantes utilizados, nas mesmas condições.

Wisplinghoff *et al.* (2007), confrontaram diferentes linhagens de *Acinetobacter spp.* com produtos desinfetantes propanol, clorhexidina, triclosan e PVPI. No estudo não houve variabilidade significativa na suscetibilidade aos desinfetantes entre as linhagens relacionadas a surtos e as culturas esporádicas. Concluíram que todos desinfetantes testados, se forem utilizados em concentrações e tempos de contato fora das recomendações dos fabricantes, perdem muito sua atividade antimicrobiana, prática que pode ocorrer e, portanto, desempenhar papel na transmissão cruzada de infecções.

Testes por concentração mínima inibitória têm sido utilizados para validar soluções desinfetantes antes do uso. Penna *et al.* (2001) confrontaram diversos tipos bacterianos a desinfetantes. Neste experimento não foi avaliada a concentração bactericida, no entanto a amplitude entre as concentrações inibitórias frente às bactérias usadas foram muito interessantes. Em 24 horas de contato, quaternário de amônio obteve ação inibitória frente a bactérias Gram positivas e negativas em intervalos de 59 a 156 mg/L, o álcool em concentrações de 4,375 a 8,75% inibiu as populações bacterianas. Para os mesmos microrganismos, ácido peracético precisou de concentrações entre 2.310 a 18.500 mg/L, e iodo aquoso 6.250 a 50.000 mg/L.

2.6.1 Avaliação da eficácia dos desinfetantes em superfícies

Andrade *et al.* (2000) avaliaram as condições microbiológicas de colchões em hospital, antes e depois da desinfecção com solução detergente-desinfetante de fenol sintético. Observou que houve manutenção da carga microbiana após a desinfecção, fato que levou ao questionamento do procedimento de higienização e tipo de desinfetante empregado.

Igualmente Santos *et al.* (2007), avaliaram a contaminação microbiana, antes e após desinfecção, em mesas e pias de um hospital veterinário e observaram que algumas contagens bacterianas aumentaram após desinfecção. Atribuíram o fato a falhas no procedimento de desinfecção, como diluição e tempo de contato incorretos.

Resultados de Kunigk e Almeida (2001), avaliando ácido peracético em duas situações, suspensão e corpo de prova, frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, mostraram que em teste de suspensão *S. aureus* é mais resistente do que *E. coli*. Em teste com corpo de prova em aço inoxidável, o tempo necessário para proporcionar igual redução da carga de *S. aureus* a obtida em teste de suspensão, foi três vezes maior. Fato que indica como a adesão as superfícies, principalmente em suas irregularidades, influencia na ação do desinfetante.

2.7 Riscos de transmissibilidade

Mesmo o ambiente ocupando papel secundário na transmissão das infecções hospitalares, quando consideramos o *Acinetobacter sp.*, por exemplo, o ambiente pode ser fonte deste agente. Pacientes infectados ou colonizados também podem transmitir esta bactéria a outros pacientes, funcionários e superfícies (PORTO ALEGRE, 2007).

O Centers for Disease Control and Prevention - CDC (2003) também ressalta como os pacientes e profissionais de saúde podem contribuir significativamente para contaminação ambiental de superfícies com *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.* e outros microrganismos. Informa que em alguns estudos, *Acinetobacter spp.* foi

detectado em superfícies situadas próximo a pacientes colonizados ou infectados, como pias, colchões, pisos, telefones entre outras. Contaminações problemáticas, pois frequentemente estas superfícies são tocadas pelas mãos.

Para Pannuti (1997), as superfícies contaminadas de ambientes hospitalares humanos podem desempenhar papel importante na transmissão de microrganismos. Destaca a transmissão de *Clostridium difficile*, eliminado por pacientes com diarreia, onde na fase esporulada pode permanecer por longos períodos no ambiente favorecendo sua disseminação, principalmente pelas mãos dos profissionais de saúde.

Outro microrganismo importante é *Staphylococcus aureus*, que há muitas décadas é o principal causador de infecções hospitalares. O modo mais comum de introdução de MRSA em hospitais é através da entrada de um paciente colonizado ou infectado, que atua como reservatório. A introdução através de um profissional de saúde disseminando diretamente o MRSA é menos comum. Com a descoberta de antibióticos contra *S. aureus*, houve um relaxamento em relação às medidas básicas de higiene hospitalar, que persistem até hoje. Valendo-se deste relaxamento das medidas preventivas, dos mecanismos de resistência e de sua grande facilidade de disseminação nos hospitais, colonizam e infectam inúmeros pacientes até a atualidade (MARANGONI, 1997).

Ademais, temos algumas espécies de *Staphylococcus* que são encontradas principalmente em animais e são reconhecidas como patógenos veterinários. Por exemplo, o *S. intermedius*, também caracterizado como coagulase-positiva, isolado a partir de vários tipos de infecções em cães, como cutâneas e no trato reprodutivo. Humanos podem se tornar colonizados ou infectados por esta bactéria, pelo contato próximo com os animais ou acidentalmente (KONEMAN *et al.*, 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Identificação dos microrganismos

Utilizou-se para identificação dos microrganismos, algumas provas bioquímicas citadas em Koneman *et. al.*, (1997) e Brasil (2004), como abaixo indicadas.

3.1.1 Coco Gram positivo

Para identificação deste grupo de bactérias foram observados o arranjo microscópico das colônias, através da coloração de Gram, aspectos macroscópicos e produção de hemólise em ágar sangue. A seguir, realizou-se o teste de catalase para verificar a decomposição do peróxido de hidrogênio. A partir do resultado desta, selecionaram-se demais provas pertinentes, a saber: teste da tira oxidase, hidrólise da bile esculina, tolerância a NaCl 6,5%, sensibilidade a bacitracina e teste da coagulase em tubo. A seguir sucintamente definem-se as provas.

3.1.1.1 Teste da oxidase

Verificar a presença da enzima citocromo C oxidase, que participa do processo da respiração celular. A reação positiva se dá, em poucos segundos, pelo enegrecimento da tira utilizada no teste.

3.1.1.2 Hidrólise da esculina

A hidrólise da esculina reagirá com citrato férrico que irá provocar o enegrecimento do meio. Incubação 35°C/48 horas.

3.1.1.3 Tolerância a NaCl 6,5%

Observar se a bactéria cresce no caldo TSB, tolerando a concentração de cloreto de sódio 6,5%. Incubação 45°C/48 horas.

3.1.1.4 Sensibilidade a bacitracina

Observar se há ou não sensibilidade ao antibiótico, através de antibiograma.

3.1.1.5 Coagulase em tubo

Baseia-se na presença da coagulase livre que reage com um fator plasmático, formando um complexo que atua sobre o fibrinogênio do plasma, desenvolvendo coágulo dentro de 24 horas em 35°C.

3.1.2 Bacilo Gram positivo

Inicialmente observou-se a formação de endosporos pela coloração de Gram, e a produção de hemólise em ágar sangue. A seguir foram realizadas as provas de reação da lecitinase, fermentação do manitol, motilidade, redução do nitrato, decomposição da tirosina e crescimento rizoidal.

3.1.2.1 Reação da lecitinase

Em ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP), deve-se observar se há hidrólise da lecitina, através da formação de um precipitado branco ao redor da colônia formada. Incubação 30°C/48 horas.

3.1.2.2 Fermentação do manitol

Em ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP), deve-se observar se há fermentação do manitol, que pela produção de produtos ácidos são formadas colônias amarelas. Incubação 30°C/48 horas.

3.1.2.3 Motilidade

Em meio semi-sólido, motilidade *Bacillus cereus*, deve-se observar se há crescimento difuso ou apenas na linha da picada. Incubação 30°C/24 horas.

3.1.2.4 Redução do nitrato

Em caldo nitrato, deve-se verificar a capacidade de reduzir o nitrato a nitrito ou nitrogênio livre. Após incubação, 35°C/48 horas, adicionar algumas gotas do reagente A (sol. Ácido sulfanílico) e reagente B (sol. Alfa naftol), e observar o desenvolvimento de uma coloração rósea avermelhada para reação positiva.

3.1.2.5 Decomposição da tirosina

Observar se há desenvolvimento de uma zona clara de decomposição e dissolução dos cristais de tirosina, na região do inóculo. Incubação 35°C/72 horas.

3.1.2.6 Crescimento rizoidal

Em ágar nutriente, observar se a colônia apresenta crescimento além do ponto de inoculação, como raízes. Incubação 30°C/48 horas.

3.1.3 Bacilo Gram negativo

Após coloração de Gram, a partir das colônias desenvolvidas em ágar sangue, seguiu-se com semeadura em ágar MacConkey, TSI e teste da oxidase. Observado as reações, as colônias foram submetidas a provas bioquímicas descritas abaixo. Cultura de *Acinetobacter iwoffii* e um BGN não fermentador, apresentaram reações inertes às provas adotadas, então estas foram encaminhadas ao laboratório central do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, para identificação por sistema automatizado Vitek 2 compact - Biomérieux®.

3.1.3.1 TSI (agar triplice açúcar ferro)

Verificar a fermentação dos carboidratos glicose, lactose e sacarose, produzindo ácido com ou sem gás, e se há produção de sulfeto de hidrogênio durante o crescimento. Incubação 35°C/24 horas.

3.1.3.2 LIA (agar ferro lisina)

Verificar se a bactéria produz lisina descarboxilase, sua presença promove uma reação alcalina, tornando o meio roxo. Também, neste meio, pode ocorrer a produção de sulfeto de hidrogênio. Incubação 35°C/48 horas.

3.1.3.3 Citrato

Verificar a capacidade de utilizar o citrato como única fonte de carbono para crescimento. A reação é realizada a 35°C por até quatro dias, ocorrendo viragem alcalina do indicador alterando o meio de verde para azul, é considerada positiva.

3.1.3.4 Ornitina

Verificar a descarboxilação da ornitina para putrescina, que provoca aumento de pH e a cor roxa do meio vira um roxo desbotado, quando positivo. A reação é observada a 35°C/24 horas.

3.1.3.5 Malonato

Verificar a capacidade de utilizar o malonato de sódio como fonte de carbono para crescimento. O resultado positivo é observado pela alcalinização do caldo, virando de verde para azul. Incubação 35°C/48 horas.

3.1.3.6 Fenilalanina

Verificar se a bactéria é capaz de desaminar o aminoácido fenilalanina, formando ácido fenilpirúvico. Após incubação 35°C/24 horas, adicionar sobre a cultura algumas gotas de cloreto férrico 10% e observar se há desenvolvimento de cor verde, em poucos minutos, indicando teste positivo.

3.1.3.7 Uréia

Verificar se a bactéria produz a enzima urease, responsável pela decomposição da uréia em amônia. Após incubação 35°C até seis dias, observar se há viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio amarelo alaranjado para rosa, indicando reação positiva.

3.1.3.8 Cetrimide

Meio seletivo para isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*. Em sua composição contém cetrimide, um quaternário de amônio, que inibe o crescimento de muitas bactérias, inclusive outras espécies de *Pseudomonas*. Incubação 35°C/48 horas.

3.1.3.9 Motilidade

Em meio semi-sólido, SIM, deve-se observar se há crescimento difuso ou apenas na linha da picada. Incubação 35°C/24 horas.

3.1.3.10 Indol

Verificar se a bactéria é capaz de desaminar o aminoácido triptofano. O indol liberado para o meio de cultura é detectado pela reação com o reagente Kovacs, que forma um anel vermelho na superfície do meio de cultura SIM.

3.1.4 Leveduras

Foi observado a morfologia macroscópica, como cor e textura das colônias desenvolvidas em ágar batata dextrose pH 3,5, e a morfologia microscópica, incluindo pseudo-hifas e blastoconídios. Reconhecido estas características, a cultura foi encaminhada para o setor de micologia da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, para identificação através de testes bioquímicos pelo sistema semi-automatizado ID 32C – Biomérieux.®.

3.2 Teste de eficácia frente aos microrganismos

As densidades microbianas dos três *pools* formados após 24 horas de incubação em caldo BHI (Difco®) foram, respectivamente, de 10^8 , 10^{10} , 10^{12} UFC/mL e de 10^6 UFC/mL para cultura de levedura após três dias de incubação em caldo Sabouraud (Difco®).

Os desinfetantes foram testados em três concentrações, a saber, ácido peracético e iodóforo a 25, 50 e 100 mg/L, hipoclorito de sódio, quaternário de amônio e fenol sintético a 250, 500 e 1.000 mg/L, clorhexidina a 1.250, 2.500 e 5.000 mg/L, e álcool a 60, 70 e 90° GL. (Brasil, 1994; CDC, 2008)

Para o teste, utilizou-se o método de diluição (BRASIL, 1993) onde uma alíquota de 0,1 ml da diluição 1:100 de cada *pool* bacteriano e cultura de levedura foi adicionada, isoladamente, às concentrações pré-estabelecidas dos desinfetantes. Após os

tempos de contato 1, 5 e 10 minutos repicou-se uma alçada de 10 microlitros, em duplicata, para tubos de ensaio com caldo BHI (Difco®) acrescido de inativadores polissorbato 80 a 3%, l-histidina 0,1% e lecitina 0,3% (BRITISH STANDARD, 2005) e caldo Sabouraud (Difco®), com os mesmos inativadores. Suscedeu-se com a incubação por período de 96 horas a 35°C para bactérias e 25°C para levedura. Ao término do período de incubação, os resultados foram lidos pela presença ou não de turvação, indicando crescimento (microrganismos ativos) ou ausência de crescimento (microrganismos inativados) respectivamente. Todos os tubos com turvação foram confirmados em agar sangue (Laborclin®) e agar batata dextrose pH 3,5 (Laborclin®).

4 ARTIGO CIENTÍFICO

Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino

González, Nestor Hugo¹ e Avancini, César Augusto Marchionatti²

¹Biólogo; Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

²Professor Associado do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (/FAVET – PPGCV – UFRGS)

RESUMO

Superfícies fixas contaminadas de hospitais de clínicas veterinárias podem servir como fonte de contaminação por microrganismos potencialmente patogênicos comuns entre animais e seres humanos, promovendo riscos de infecções nosocomiais tanto para os pacientes quanto para os profissionais, estudantes e trabalhadores em saúde veterinária. Com a finalidade de controle dessa microbiota transmissível, procedimentos sanitários de desinfecção e descontaminação são prescritos para serem adotados no ambiente. O presente estudo teve como objetivos isolar e identificar a microbiota presente em superfícies fixas de áreas críticas do setor de pequenos animais de um hospital veterinário de ensino, e verificar a ação de inativação de grupos químicos desinfetantes sobre estes microrganismos. Com *swabs* rolados sobre a superfície de mesas inox de contato com os pacientes, nos setores de atendimento clínico ambulatorial, de internados, de fluidoterapia, de cirurgia e de pré-operatório, foram isolados *Staphylococcus spp.* coagulase (+) e (-), *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptococcus sp.* (não grupo D), *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter iwoffii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, Cocobacilo não fermentador, *Bacillus sp.*, *Citrobacter sp.* e *Candida guilliermondii*. Foi avaliada a capacidade de inativação dos desinfetantes ácido peracético, iodóforo, hipoclorito de sódio, quaternário de amônio, fenol sintético, clorhexidina e álcool. O método utilizado foi o de diluição, pela técnica de suspensão microbiana composta por três *pools* de bactérias (um por dia de coleta) e uma cultura de levedura, em três concentrações dos desinfetantes nos tempos de contato 1, 5 e 10 minutos. Os *pools* eram suspensos na solução desinfetante, e identificados os sobreviventes. Observou-se que o ácido peracético, nas concentrações 25 e 50 mg/L em 10 minutos de contato não inativou *Staphylococcus spp.* e *Candida guilliermondii*, e em 100 mg/L precisou mais de 5 minutos para inativá-los. O iodóforo, em 25 mg/L

precisou de mais de 1 minuto para inativar *Staphylococcus spp.*, e 10 minutos não foram suficientes para inativar *Bacillus sp.* Mesmo em 100 mg/L, necessitou mais de 1 minuto para inativar *Staphylococcus spp.* O hipoclorito, na concentração 250 mg/L, em 1 minuto de contato não inativou *Bacillus sp.* e precisou de 10 minutos para inativar *Candida guilliermondii*. Frente a essa levedura, mesmo em 1.000 mg/L o hipoclorito de sódio precisou de tempo maior a 1 minuto para inativa-la. Os demais desinfetantes (quaternário de amônio, fenol sintético, clorhexidina e álcool), nas menores concentrações e tempos de contato, inativaram todos os microrganismos. Concluiu-se que nas superfícies de todos os ambientes hospitalares, puderam ser isolados microrganismos. Os testes *in vitro* evidenciaram que todos os grupos químicos avaliados podem ser usados para inativar os isolados, mas que os fatores testados: gênero e espécie microbiana, concentrações e tempos de contato, interferiram na capacidade desinfetante.

Palavras-chave: desinfetantes, superfícies fixas, hospital veterinário.

INTRODUÇÃO

A infecção nosocomial é aquela que ocorre tendo como local de contaminação o ambiente hospitalar. No ambiente hospitalar veterinário, a proximidade dos profissionais e trabalhadores de serviços de saúde animal com os animais doentes, oferece condições favoráveis para a transmissão de microrganismos pelo contato direto, através de secreções ou fluidos orgânicos, por exemplo, ou indiretamente através de utensílios e superfícies inanimadas de contato. A via oposta de transmissão, ou seja, do humano para o animal igualmente pode acontecer nas mesmas condições.

As superfícies fixas hospitalares são aquelas superfícies inanimadas de grande extensão, tais como pisos, paredes, mobiliários etc. (BRASIL, 2007). Estas superfícies são classificadas como não críticas (classificação de Spaulding), ou seja, apresentam baixo risco de transmissão de patógenos aos pacientes, quando em contato com a pele íntegra, pois esta é uma importante barreira de proteção. No entanto, quando essas superfícies estão em áreas críticas, na qual existe o risco aumentado para o desenvolvimento de infecções relacionadas à assistência à saúde, os fatores relacionados com a possibilidade de infecção são maiores. Ainda que estas superfícies não impliquem diretamente na transmissão de doenças, elas podem contribuir potencialmente para a transmissão cruzada, principalmente pelo contato das mãos dos profissionais de saúde com objetos invasivos, com os pacientes e superfícies ou vice versa (RUTALA e WEBER, 2001).

Carvalho *et al.* (2007) reforçam essa idéia, observando que a contaminação microbiana em superfícies, tocadas pelas mãos, em ambientes hospitalares, freqüentemente são vistas como possíveis fontes de infecções. Como exemplo, investigação realizada em piso, grade, maçaneta de porta e mesa de cabeceira de 26 alas com pacientes humanos infectados com *S. aureus* e 26 alas de pacientes não infectados, constataram que aproximadamente 50% de todos os locais estavam contaminados por essa bactéria.

Na prevenção e no controle das infecções nosocomiais que têm como fonte de infecção o ambiente/superfícies dos hospitais, entre outros procedimentos, é indicada a adoção de protocolos de higienização. Estes são compostos por duas etapas: a limpeza e a desinfecção. A primeira refere-se à remoção de sujidades e matéria orgânica, e a segunda a ação direta sobre os microrganismos (ROMÃO, 1998).

Compreende-se por desinfecção a destruição de patógenos e outros microrganismos, mas não necessariamente todas as formas microbianas, em superfícies inanimadas. Em consequência deste procedimento, tem-se a diminuição ou eliminação de riscos de transmissão de doenças (CDC, 2008; RUTALA *et al.*, 2000). Diminuir ou eliminar a carga microbiana presente nas superfícies não é tarefa simples (Andrade *et al.* 2000; Santos *et al.* 2007), sendo para tanto imprescindível a escolha certa do agente desinfetante, além de capacitação de pessoal enfatizando as condições de uso conforme grau de risco.

O presente estudo teve como objetivos isolar e identificar a microbiota presente em superfícies fixas (mesas inox) de áreas críticas do setor de pequenos animais de um hospital veterinário de ensino, e verificar a ação de inativação de grupos químicos desinfetantes sobre estes microrganismos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e identificação dos microrganismos

Foram realizadas três coletas (meses sucessivos) em superfícies fixas de áreas críticas, do setor de pequenos animais em hospital de clínicas veterinárias de instituição de ensino superior. Foram escolhidas superfícies de mesas inox de contato com os pacientes, nos setores de atendimento clínico-ambulatorial, no de animais internados, no de fluidoterapia e no de cirurgia, totalizando quinze amostras. Considerou-se para

escolha dos locais, aqueles que representam maiores riscos de transmissão de microrganismos aos médicos veterinários, estudantes e trabalhadores, ou seja, onde rotineiramente existe a presença de pacientes (ROZA *et al.*, 2003). As coletas foram realizadas no final da tarde, sem interferir na rotina de higienização adotada na instituição.

Foram usados *swabs* umedecidos em água peptonada, acrescida de neutralizantes, a saber, 3% de polissorbato 80, 0,1% de l-histidina e 0,3% de lecitina (BRITISH STANDARD, 2005) incorporados para neutralizar o resíduo de desinfetantes na retirada da amostra da superfície. Os *swabs* foram rolados em movimento zigzague por toda superfície das mesas. No laboratório, as amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos e alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placa de agar sangue e agar batata dextrose. As placas foram incubadas a 35° C/48 horas e 25° C/5 dias, respectivamente. Após o período de incubação, as colônias foram identificadas através da coloração de Gram, características macroscópicas e provas bioquímicas utilizadas para identificação de microrganismos de importância clínica, recomendadas por Brasil, (2004) e Koneman *et al.*, (1997). Todo material utilizado para crescimento e identificação dos microrganismos foram do fabricante Laborclin®.

Para os testes, repicava-se uma colônia de cada isolado bacteriano distinto para caldo BHI (Difco®) e uma cultura de levedura em caldo Sabouraud (Difco®). Assim, foram organizados os *pools* de microrganismos (um por dia de coleta e um pela levedura) com densidades microbianas em 24 horas de incubação de 10⁸, 10¹⁰ e 10¹² UFC/mL para bactérias, e 10⁶ UFC/mL em 72 horas de incubação para levedura.

Desinfetantes e teste de eficácia

Cada desinfetante foi avaliado em três concentrações. Ácido peracético e iodóforo a 25, 50 e 100 mg/L, hipoclorito de sódio, quaternário de amônio (cloreto de cetil trimetil amônio) e fenol sintético (orto-fenilfenol, orto-benzil paraclorofenol, para-terciário amifenol) a 250, 500 e 1.000 mg/L, clorhexidina (digluconato de clorhexidina) a 1.250, 2.500 e 5.000 mg/L, e álcool 60, 70 e 90° GL (BRASIL, 1994; CDC, 2008).

Utilizou-se o método de diluição e teste de suspensão (BRASIL, 1993). Em tubos com 10 mL das concentrações dos desinfetantes eram acrescidos 0,1 mL da suspensão de *pool* microbiano da diluição logarítmica 10⁻². Os tempos de contato foram de 1, 5 e 10 minutos, quando uma alçada (10 microlitros) de cada concentração era

transferida, em duplicata, para tubos contendo 3,0 mL de caldo BHI (Difco®) ou caldo Sabouraud (Difco®) acrescidos dos mesmos neutralizantes informados. Em seguida, os tubos eram incubados em temperatura e período apropriados.

Os resultados foram lidos como tubo sem turvação/sedimentação/crescimento (microrganismos inativados) e com turvação/sedimentação/crescimento (microrganismos viáveis/ativos). Realizou-se a identificação microbiana naqueles tubos que desenvolveram turvação ou sedimentação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Microrganismos isolados

No total das coletas, houve 28 microrganismos isolados. Foram isolados bactérias em todas as superfícies amostradas, e somente uma apresentou contaminação por levedura (Tabela 1). *Staphylococcus* coagulase negativa teve maior frequência com 32,14% de ocorrência entre os isolados, seguido por *Staphylococcus* coagulase positiva com 25%. Na identificação dos *Staphylococcus* adotou-se o teste de coagulase, por ser conhecido o potencial patogênico, tanto para humanos quanto animais, dos coagulase positiva. O estudo de Andrade *et al.* (1991), pesquisando a microbiota de ambiente hospitalar veterinário, detectou também com maior frequência essas bactérias (além do *Enterobacter sp.*), tendo esse fato sido explicado por serem integrantes com grande ocorrência na microbiota normal na pele de humanos e animais, sendo assim dispersados em maior quantidade.

Os demais doze microrganismos identificados corresponderam a 42,86% do total, tendo cada um sido isolados uma única vez.

As provas bioquímicas utilizadas, propostas por Brasil (1994) e Koneman *et al.* (1997) foram suficientes para identificação de quase todos isolados bacterianos. Exceções, *Acinetobacter iwoffii*, que se mostrou inerte às provas, foi identificado pelo método automatizado Vitek 2 compact – Biomérieux®. Outro cocobacilo, identificado como não fermentador, isolado na mesa cirúrgica, também apresentou resultado insatisfatório às provas bioquímicas testadas, mesmo em sistema automatizado, provavelmente por ser uma bactéria com perfil não catalogado no sistema. Já para levedura, a partir das colônias desenvolvidas em agar batata dextrose pH 3,5, reconheceu-se características macro e microscópicas típicas e encaminhou-se para

identificação por método semi-automatizado ID 32C – Biomérieux[®], muito utilizado em laboratórios que necessitam de uma identificação rápida e relativamente precisa, visto o número de provas.

Tabela 1. Microrganismos isolados em superfícies fixas (mesas de aço inox) de áreas críticas de hospital veterinário de ensino.

| Local | Microrganismo |
|---|---|
| Coleta 1 | |
| Mesa de procedimentos em internados | <i>Staphylococcus</i> coagulase (+) e (-) |
| Mesa do pré-operatório | <i>Staphylococcus</i> coagulase (-) |
| Mesa da fluidoterapia | <i>Staphylococcus</i> coagulase (-) |
| Mesa cirúrgica | <i>Acinetobacter iwoffii</i> |
| Mesa de atendimento clínico | <i>Staphylococcus</i> coagulase (+), <i>Sphingomonas paucimobilis</i> , <i>Streptococcus</i> não grupo D, <i>Enterobacter</i> sp. |
| Coleta 2 | |
| Mesas (duas) de procedimentos em internados | <i>Staphylococcus</i> coagulase (+) e (-), <i>Micrococcus</i> sp.; <i>Staphylococcus</i> coagulase (+) e (-), <i>Candida guilliermondii</i> |
| Mesa do pré-operatório | <i>Staphylococcus</i> coagulase (+) e (-) |
| Mesa da fluidoterapia | <i>Enterococcus</i> sp. |
| Mesa cirúrgica | Cocobacilo não fermentador |
| Mesa de atendimento clínico | <i>Staphylococcus</i> coagulase (+), <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas</i> sp. |
| Coleta 3 | |
| Mesa de procedimentos em internados | <i>Bacillus</i> sp., <i>Citrobacter</i> sp. |
| Mesa da fluidoterapia | <i>Staphylococcus</i> coagulase (-) |
| Mesa cirúrgica | <i>Staphylococcus</i> coagulase (-) |
| Mesa de atendimento clínico | <i>Staphylococcus</i> coagulase (+) e (-) |

Nas mesas cirúrgicas isolaram-se cepas de *Acinetobacter iwoffii*, *Staphylococcus* coagulase negativa e um cocobacilo não fermentador. A presença de *Acinetobacter* neste local onde o paciente está debilitado e submetido a procedimentos invasivos é preocupante, como pôde ser verificado no surto de infecções hospitalares, em humanos, ocorrido no período de 2007-2008 em hospitais do município de Porto Alegre/RS/Brasil, por bactéria deste gênero, multiresistente, que esteve implicada em 32 mortes (PORTO ALEGRE, 2008).

Os índices de isolamento de *Staphylococcus spp.* nas superfícies fixas das áreas críticas, merecem preocupação, posto que a presença destes em ambientes hospitalares é indesejável. Os *Staphylococcus spp.* são amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves (MESQUITA *et al.*, 2006), sendo o *Staphylococcus aureus* considerado um dos principais patógenos humanos, encontrado em um largo espectro de doenças, desde lesões superficiais até severas infecções sistêmicas, principalmente em pacientes imunodeprimidos.

Surto por *Staphylococcus*, relatado por Seguin *et al.* (1999) ocorrido com cavalos em hospital veterinário, teve a origem humana como provável fonte de infecção visto que os animais infectados vieram de diferentes localidades, períodos e sem aparente infecção estafilocócica no momento da entrada ao hospital. A via oposta de transmissão, ou seja, do animal para humano igualmente pode acontecer, como casos de dermatite infecciosa por *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) que acometeu profissionais que cuidaram de um potro doente, e supostamente foram infectados por este animal (WEESE *et al.*, 2006).

Com menor presença, encontramos bactérias pertencentes à microbiota normal do sistema digestivo de humanos e animais, microrganismos considerados oportunistas e normalmente associados a infecções endógenas. Sidjabat *et al.* (2007) isolaram *Enterobacter spp.*, resistente a antibióticos, em dez cães que apresentavam infecções. Como até aquele momento não se havia relatado *Enterobacter* com este perfil de resistência, os autores supõem provável a rota de transmissão humano-cão, e consideram a presença desta bactéria resistente, no ambiente hospitalar veterinário, um grande risco para novas infecções aos pacientes. Também linhagens de *Enterococcus* resistentes a vancomicina foram isoladas tanto de animais de estimação como em animais de produção, em amostras de intestino e fezes (DEVRIESE *et al.* 1996).

Outro isolado comensal da microbiota animal é *Candida guilliermondii*, levedura oportunista que pode causar infecções em pacientes debilitados, como o caso de candidíase cutânea descrito por Mueller *et al.* (2002), em um cão após procedimento cirúrgico.

Atividade dos desinfetantes

As observações realizadas no hospital de clínicas veterinárias evidenciaram, através de entrevista e visualizações, que o principal procedimento de higienização

adotado rotineiramente nas superfícies fixas (mesas inox), é o de descontaminação. Esse procedimento não é o mesmo que desinfecção, etapa da higienização que deve ser realizada após a limpeza. O termo é usado para descrever um processo de tratamento de artigos médicos, instrumentos ou superfícies, tornando-os mais seguros para o manuseio ou contato (FAVERO e BOND, 1992). Para a descontaminação podem ser usados produtos químicos desinfetantes, esterilização física ou simplesmente água e detergente.

A descontaminação é executada nos artigos médicos e superfícies potencialmente ou sabidamente contaminados, mesmo na presença de matéria orgânica como sangue, pus, gordura, etc., e pode ser feita, por exemplo, pela imersão completa do artigo em solução desinfetante, em máquinas lavadoras sanitizadoras, termosanitizadoras ou similares, ou fricção auxiliada por esponja, escova, pano (BRASIL, 1994). No hospital veterinário observado, ela é executada pelos médicos veterinários e pelos estudantes, e consiste, na maior parte das vezes, na fricção das superfícies mesas inox com uso de algodão embebido nos produtos álcool iodado 1%, peróxido de hidrogênio 10V e álcool etílico 92,8-96° GL. O procedimento não segue um protocolo rígido, sendo também usado álcool glicerinado 70% e hipoclorito de sódio em concentração não informada, nas mesas do bloco cirúrgico.

Dada à importância das superfícies fixas na epidemiologia das infecções hospitalares, encontrou-se poucos estudos sobre monitoramento microbiológico e de higienização realizados em ambientes hospitalares veterinários. Como exemplo, Santos *et al.* (2010) isolaram em hospital veterinário as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* e *Arcanobacterium pyogenes*, tendo algumas inclusive apresentando perfil de multiresistência aos antibióticos testados. Mas constataram que as contagens bacterianas reduziram-se a zero, após desinfecção *in loco* com álcool 70% e quaternário de amônio 3,5%. Quando estudos *in vitro*, os resultados no teste de eficácia dos desinfetantes mostraram influência dos tempos de contato utilizados, pois o álcool 70% foi ineficaz contra *Enterobacter agglomerans* e *Staphylococcus epidermidis* durante 30 segundos de contato, o quaternário de amônio 3,5% não inativou *Escherichia coli* até 5 minutos e *Pseudomonas aeruginosa* em 30 segundos, e o hipoclorito de sódio (em concentração não informada) foi ineficaz contra todos isolados até os 20 minutos de contato.

Em nossa investigação, obteve-se a inativação de todas as bactérias e levedura isoladas nas superfícies do hospital em estudo, quando confrontados com os grupos

químicos desinfetantes clorhexidina, quaternário de amônio, fenol sintético e álcool etílico. Mesmo estando viáveis nas superfícies fixas, quando confrontados *in vitro* a inativação ocorreu nas menores concentrações e tempos de contato usados. Como observação, mesmo que ocasionalmente usado no hospital, optou-se por não avaliar a atividade do desinfetante peróxido de hidrogênio por não ser indicado o uso na desinfecção de rotina das superfícies fixas hospitalares (BRASIL, 1988).

Tabela 2. Concentração, tempo de contato e capacidade de inativação de desinfetantes, sobre microrganismos isolados em superfícies fixas (mesas de aço inox) de áreas críticas de hospital veterinário de ensino.

| Desinfetante | Conc (mg/L) | TC (min) | Pool 1 | Pool 2 | Pool 3 | Levedura |
|----------------------|-------------|----------|--------|--------|--------|----------|
| Ácido Peracético | 25 | 1 | NI | NI | NI | NI |
| | | 5 | NI | NI | NI | NI |
| | | 10 | NI | NI | NI | NI |
| | 50 | 1 | NI | NI | NI | NI |
| | | 5 | NI | NI | NI | NI |
| | | 10 | I | I | NI | NI |
| | 100 | 1 | NI | NI | NI | NI |
| | | 5 | I | I | NI | NI |
| | | 10 | I | I | I | I |
| Iodóforo | 25 | 1 | NI | I | NI | I |
| | | 5 | I | I | NI | I |
| | | 10 | I | I | NI | I |
| | 50 | 1 | NI | I | NI | I |
| | | 5 | I | I | NI | I |
| | | 10 | I | I | I | I |
| | 100 | 1 | NI | I | I | I |
| | | 5 | I | I | I | I |
| | | 10 | I | I | I | I |
| Hipoclorito de sódio | 250 | 1 | I | I | NI | NI |
| | | 5 | I | I | I | NI |
| | | 10 | I | I | I | I |
| | 500 | 1 | I | I | I | NI |
| | | 5 | I | I | I | I |
| | | 10 | I | I | I | I |
| | 1000 | 1 | I | I | I | NI |
| | | 5 | I | I | I | I |
| | | 10 | I | I | I | I |

Clorhexidina, Quaternário de amônio, Fenol sintético e Álcool etílico inativaram os *pools* bacterianos e levedura, em todas concentrações e tempos de contato testados.

Pool: conjunto de bactérias por dia de amostragem das superfícies; TC: tempo de contato; NI: não inativou; I: inativou.

A mesma capacidade de inativação não ocorreu quando os isolados foram confrontados com o ácido peracético, o iodóforo e o hipoclorito de sódio (Tabela 2). A literatura informa que diversas variáveis interferem na capacidade de inativação sobre microrganismos como a resistência intrínseca ou induzida com relação ao grupo

químico, a concentração do desinfetante, o tempo de contato, a temperatura, a presença de matéria orgânica, o tipo de material a ser desinfetado, a biocarga sobre a superfície, entre outros fatores que prejudicam o processo de desinfecção (WIEST, 1984; CDC, 2003; WHO, 2004).

Testando as variáveis concentração e tempo de contato, o ácido peracético, frente aos três *pools* bacterianos e a cultura de levedura confrontados, apresentou eficácia microbicida parcial, mesmo na maior concentração empregada. Em um dos testes, *Staphylococcus* coagulase negativa sobreviveu ao ácido peracético a 25 mg/L, por até 10 minutos de exposição. Em outro, esse desinfetante a 100 mg/L, com 5 minutos de contato não inativou *Staphylococcus* coagulase positiva. Esse fato pode estar relacionado com a variável resistência intrínseca, ou mesmo adquirida, desses microrganismos ao grupo químico.

O mesmo fenômeno ocorreu com o iodóforo, que não conseguiu inativar os *Staphylococcus* no primeiro minuto de contato, nas três concentrações desafiadas.

Tabela 3. Microrganismos isolados em superfícies fixas (mesas de aço inox) sobreviventes por concentração dos desinfetantes e tempos de contato no teste de suspensão.

| DES | MICRO | SCN | SCP | <i>Enterobacter</i> <i>sp.</i> | <i>Bacillus</i> <i>cereus</i> | <i>Bacillus</i> <i>sp.</i> | <i>Candida</i> <i>guilliermondii</i> |
|----------------------|-------|-----|-----|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---|
| | mg/L | min | min | min | min | min | min |
| Ácido peracético | 25 | 10 | 10 | 1 | 1 | 5 | 10 |
| | 50 | 5 | 10 | - | 1 | 5 | 10 |
| | 100 | 1 | 5 | - | - | - | 5 |
| Iodóforo | 25 | 1 | 1 | - | - | 10 | - |
| | 50 | 1 | - | - | - | 5 | - |
| | 100 | 1 | - | - | - | - | - |
| Hipoclorito de sódio | 250 | - | - | - | - | 1 | 5 |
| | 500 | - | - | - | - | - | 1 |
| | 1000 | - | - | - | - | - | 1 |

MICRO: microrganismo; DES: desinfetante; min: minuto; SCN: *Staphylococcus* coag (-); SCP: *Staphylococcus* coag (+).

Na Tabela 3, podem ser observados os microrganismos sobreviventes ao confronto com os desinfetantes. Dos seis bacilos Gram negativos isolados, somente *Enterobacter sp.* não foi inativado na menor concentração de ácido peracético, conferindo assim, boa atividade dos desinfetantes a estes bacilos. Outros trabalhos também descrevem que houve inativação de bacilos Gram negativos em baixas concentrações de ácido peracético, inclusive com presença de matéria orgânica (KICH *et al.* 2004; SOUZA *et al.* 2005).

Simulando uma situação rotineira, Kunigk e Almeida (2001) contaminaram um corpo de prova com *Staphylococcus aureus* e constataram que 40 mg/L de ácido peracético aplicados sobre este, precisa de tempo três vezes maior que o teste feito em suspensão para obter a mesma ação antibacteriana. Porém, estudo realizado por Penna *et al.* (2001) a concentração mínima inibitória para reduzirem mais de 6 log após 24 horas de contato sobre o mesmo gênero bacteriano foi de 4.620 mg/L.

Deve-se ter atenção com concentrações baixas dos desinfetantes. Borowsky *et al.* (2006), avaliando a eficácia dos compostos químicos iodofor e quaternário de amônio frente 96 amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas em conteúdo entérico, vísceras e embutidos de origem suína, observaram que o iodofor, em subconcentração em relação à recomendada, inativou apenas 38,5% das amostras mesmo com uma hora de contato.

Para o hipoclorito de sódio em concentração de 250 mg/L, foram necessários 5 minutos para inativar *Bacillus sp.* e 10 minutos para *Candida guilliermondii*. Células de leveduras naturalmente sobrevivem por mais tempo a cloração que bactérias (APHA, 2005). A *Candida guilliermondii* sobreviveu também a mais alta concentração testada (1.000 mg/L) durante um minuto de contato, resultado preocupante, pois leveduras são formadoras de biofilme e segundo Théraud *et al.* (2004) nesta condição os antimicrobianos perdem sua atividade.

Perante os resultados, observamos que as menores concentrações de iodóforo e ácido peracético requerem aumento no seu tempo de contato. Fator relevante em ambiente hospitalar, pois o tempo prolongado inviabiliza alguns desinfetantes, como ácido peracético que acaba volatizando naturalmente na superfície antes do período estabelecido.

CONCLUSÕES

Nas superfícies (mesas inox) de todos os ambientes puderam ser isolados microrganismos, muitos destes de importância à saúde humana e animal. Os testes *in vitro* evidenciaram que todos os grupos químicos avaliados podem ser usados para inativar os isolados, mas que fatores testados gênero e espécie microbiana, concentrações e tempos de contato interferiram na capacidade desinfetante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**, 21st edition, 2005, p. 9 - 153-156.

ANDRADE, D.; ANGERAMI, E.L.S.; PADOVANI, C.R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.2, p.163-169, 2000.

ANDRADE, M.A.; MESQUITA, A.J.; SILVA, L.A.F.; PAULO, N.M. Frequência de bactérias isolados no ambiente, em feridas cirúrgicas, em médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares de enfermagem – Infecção em hospital veterinário. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v. 21/22, n. 1, p.101-111, jan/dez., 1991-1992.

BOROWSKY, L.M.; BESSA, M.C.; CARDOSO, M.I.; AVANCINI, C.A.M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella Typhimurium* isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1474-1479, set/out., 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. **Processamentos de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde**. 2 ed. Brasília, 1994. Disponível em: < <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/superficie.pdf> >. Acesso em: 15 jan. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Portaria nº101**, de 17 de agosto de 1993. Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 de agosto de 1993, Seção 1, p. 11937-11945.

BRASIL. Ministério da Saúde. Detecção e identificação de bactérias de importância médica. Módulo V. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**, 2004. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e03a7c0043390bc6aa1aaeff30613c2e/mod_5_2004.pdf?MOD=AJPERES >. Acesso em: 13 fev. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Resolução RDC n.14** de 28/02/2007, Aprova regulamento técnico para produtos saneantes com ação antimicrobiana harmonizado no âmbito do MERCOSUL através da resolução GMC n.50/06. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 de março de 2007, Seção 1, p. 29. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> >. Acesso em 20 mar. 2009.

BRITISH STANDARD - **BS EN 1040:2005** - Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics - ICS 11.080.20; 71.100.35

CARVALHO, K.S.; MELO, M.C.; MELO, G.B.; GONTIJO-FILHO, P.P. Hospital surface contamination in wards occupied by patients infected with MRSA or MSSA in a Brazilian university hospital. **Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.2, p.159-163, 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities**, 2003, 235p. Disponível em: < http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/eic_in_HCF_03.pdf >. Acesso em: 05 fev. 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Guideline for Disinfection and Sterilization in Health-Care Facilities**, 2008, 158p. Disponível em: < http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf >. Acesso em: 14 jan. 2009.

DEVRIESE, L.A.; IEVEN, M.; GOOSSENS, H.; VANDAMME, P.; POT, B.; HOMMEZ, J.; HAESEBROUCK, F. Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.40, n.10, p.2285-2287, 1996.

FAVERO, M.S.; BOND, W.W. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: BLOCK, S.S **Disinfection, Sterilization and Preservation**. Fourth ed., Philadelphia-London : Lea & Febiger, 1992, p. 617-641.

KICH, J.D.; BOROWSKY, L.M.; SILVA, V.S.; RAMENZONI, M.; TRIQUES, N.; KOOLER, F.L.; CARDOSO, M.R.I. Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.1, p.33-39, 2004.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR, W.C. **Color Atlas an Textbook of Diagnostic Microbiology**, Fifth ed., Lippincott, EUA, 1997.

KUNIGK, L.; ALMEIDA, M.C.B. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.38-41, 2001.

MESQUITA, M.O.; DANIEL, A.P.; SACCOL, A.L.F.; MILANI, L.I.G.; FRIES, L.L.M. Qualidade microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.1, p. 198-203, jan/mar. 2006.

MUELLER, R.S.; BETTENAY, S.V.; SHIPSTONE, M. Cutaneous candidiasis in a dog caused by *Candida guilliermondii*. **Veterinary Record**, v.150, p.728-730, 2002.

PENNA, T.C.V.; MAZZOLA, P.G.; MARTINS, A.M.S. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs. **BMC Infectious Diseases**, v.1, n.16, 2001.

PORTO ALEGRE. **Secretaria Municipal da Saúde**. Comunicação social, 2008. Disponível em: < http://www2.portoalegre.rs.gov.br/cs/default.php?reg=90742&p_secao=3&di=2008-06-03 >. Acesso em: 27 nov. 2010.

ROMÃO, C.M.C.A. Desinfecção esterilização química. In: TEIXEIRA,P.; VALLE,S. **Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar**. Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 1998, p.133-162.

ROZA, M.R.; FILHO, J.B.G; COSTA, M.A.F. **Biossegurança em Ambientes Hospitalares Veterinários**. Rio de Janeiro, 2003, 115p.

RUTALA, W.A.; BARBEE, S.L.; AGUIAR, N.C.; SOBSEY, M.D.; WEBER, D.J. Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.21, n.1, p.33-38, 2000.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Surface disinfection: should we do it? **Journal of Hospital Infection**, v.48, supplement A, p.64-68, 2001.

SANTOS, L.R.; NETO, J.F.S.; RIZZO, N.N.; BASTIANI, P.V.; RODRIGUES, L.B.; FERREIRA, D.; SCHWANTS, N.; BARCELLOS, H.H.A.; BRUN, M.V. Avaliação dos procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (HV-UPF). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.3, p.357-362, 2007.

SANTOS, L.R.; NETO, J.F.S.; RIZZO, N.N.; BASTIANI, P.V.; RODRIGUES, L.B.; BARCELLOS, H.H.A.; BRUN, M.V. Contaminação ambiental em um hospital veterinário e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas. **Ciência Animal Brasileira, Goiânia**, v.11, n.2, p. 384-389, abr/jun. 2010.

SEGUIN, J.C.; WALKER, R.D.; CARON, J.P.; KLOOS, W.E.; GEORGE, C.G.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N.; PFALLER, M.A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: potential human-to-animal transmission. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.5, p.1459-1463, May 1999.

SIDJABAT, H.E.; HANSON, N.D.; SMITH-MOLAND, E.; BELL, J.M.; GIBSON, J.S.; FILIPPICH, L.J.; TROTT, D.J. Identification of plasmid-mediated extended-spectrum and β -lactamases in *Enterobacter* spp. Isolated from dogs. **Journal of Medical Microbiology**, v.56, p.426-434, 2007.

SOUZA, J.B.; DANIEL, L.A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.10, n.2, p.111-117, abr/jun, 2005.

THÉRAUD, M.; BÉDOUIN, Y.; GUIGUEN, C.; GANGNEUX, J.P. Efficacy of antiseptics and disinfectants on clinical and environmental yeast isolates in planktonic and biofilm conditions. **Journal of Medical Microbiology**, v.53, p.1013-1018, 2004.

WEESE, J.S.; CALDWELL, F.; WILLEY, B.M.; KREISWIRTH, B.N; MCGEER, A.; ROUSSEAU, J.; LOW, D.E. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. **Veterinary Microbiology**, v.114, p.160-164, 2006.

WIEST, J.M. Desinfecção e desinfetantes. In: GUERREIRO, M. G. et al.; **Bacteriologia Especial: com Interesse em Saúde Animal e Saúde Pública**. Porto Alegre, Sulina, 1984, p. 51-66.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Practical Guidelines for Infection Control in Health Care Facilities**, 2004, 110p. Disponível em: <

http://www.searo.who.int/LinkFiles/Publications_PracticalguidelinSEAROpub-41.pdf
>. Acesso em: 05 jul. 2009.

5 CONCLUSÕES

As superfícies fixas observadas apresentaram contaminação por microrganismos de importância à saúde humana e animal;

Por fim, concluímos que nas condições de nosso experimento todos desinfetantes foram eficazes, no entanto, as variáveis estudadas, tempo de contato, concentração, princípio ativo e tipo de microrganismo, devem ser levadas em consideração, simultaneamente, no procedimento de desinfecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, B.M.; RASCH, M.; KVIST, J.; TOLLEFSEN, T.; LUKKASSEN, R.; SANDVIK, L.; WELO, A. Floor cleaning: effect on bacteria and organic materials in hospital rooms. **Journal of Hospital Infection**, v.71, p.57-65, 2009.

ANDRADE, M.A.; MESQUITA, A.J.; SILVA, L.A.F.; PAULO, N.M. Frequência de bactérias isolados no ambiente, em feridas cirúrgicas, em médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares de enfermagem – Infecção em hospital veterinário. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v. 21/22, n. 1, p.101-111, jan/dez., 1991-1992.

ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo, 1996, 182p.

ANDRADE, D.; ANGERAMI, E.L.S.; PADOVANI, C.R. Condição microbiológica dos leitos hospitalares antes e depois de sua limpeza. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.2, p.163-169, 2000.

BOROWSKY, L.M.; BESSA, M.C.; CARDOSO, M.I.; AVANCINI, C.A.M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella Typhimurium* isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicose quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1474-1479, set/out., 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. **Processamentos de Artigos e Superfícies em Estabelecimentos de Saúde**. 2 ed. Brasília, 1994. 50 p. Disponível em: < [http/ www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) >. Acesso em 15 jan. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Portaria n.101**, de 17 de agosto de 1993. Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 de agosto de 1993, Seção 1, p. 11937-11945.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Portaria n.15** de 23/08/1988, Normas para registro dos saneantes domissanitários com ação antimicrobiana. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 de setembro de 1988, Seção 1, p. 17041. Disponível em: < [http/ www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) >. Acesso em 20 mar. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Resolução RDC n.14** de 28/02/2007, Aprova regulamento técnico para produtos saneantes com ação antimicrobiana harmonizado no âmbito do MERCOSUL através da resolução GMC n.50/06. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 de março de 2007, Seção 1, p. 29. Disponível em: < [http/ www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) >. Acesso em 20 mar. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária, **Portaria n.122/DTN** de 29/11/1993, Inclui na Portaria nº15/88 o princípio ativo ácido peracético, para uso das formulações de desinfetantes/esterilizantes. Diário Oficial da República Federativa

do Brasil, Brasília, DF, 01 de dezembro de 1993, p. 18255. Disponível em: < [http/ www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) >. Acesso em 12 abr. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Portaria n.2616** de 12/05/1998, Controle de Infecção Hospitalar. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 13 de maio de 1998, Seção 1, p. 133. Disponível em: < [http/ www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) >. Acesso em 25 abr. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Portaria n.3.012** de 01/12/2009, Regulamento técnico MERCOSUL para produtos com ação antimicrobiana utilizados em artigos críticos e semi-críticos, áreas críticas e semi-críticas e esterilizantes. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de dezembro de 2009, Seção 1, p. 70. Disponível em: < [http/ www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) >. Acesso em 10 out. 2010.

BRITISH STANDARD - **BS EN 1040:2005** - Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics - ICS 11.080.20; 71.100.35

CABRERA, C.E.; GÓMEZ, R.F.; ZÚNIGA, A.E. La resistência de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivência y adaptación. **Colombia Médica**, v.38, n.2, p.149-158, Abril-Junio 2007.

CARVALHO, K.S.; MELO, M.C.; MELO, G.B.; GONTIJO-FILHO, P.P. Hospital surface contamination in wards occupied by patients infected with MRSA or MSSA in a Brazilian university hospital. **Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.2, p.159-163, 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities**, 2003, 235p. Disponível em: < http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/eic_in_HCF_03.pdf >. Acesso em 14 jan. 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Guideline for Disinfection and Sterilization in Health-Care Facilities**, 2008, 158p. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf >. Acesso em 05 fev. 2009.

CERQUEIRA, M.C.M. Antissepsia – princípios gerais e antissépticos. In: RODRIGUES, E.A.C. et al. **Infecções Hospitalares Prevenção e Controle**. Ed. Sarvier, 1997, p. 426-434.

DANCER, S.J. How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. **Journal of Hospital Infection**, v.56, p.10-15, 2004.

DUNOWSKA, M.; MORLEY, P.S.; HYATT, D.R. The effect of Virkon S fogging on survival of Salmonella enteric and Staphylococcus aureus on surfaces in a veterinary teaching hospital. **Veterinary Microbiology**, v.105, p.281-289, 2005.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R.G.; ESTRELA, C.R.A.; PÉCORÁ, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Brazilian Dental Journal**, v.14, n.1, p.58-62, 2003.

GUARDABASSI, L.; SCHWARZ, S.; LLOYD, D.H. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.54, n.2, p.321-332, 2004.

GUIMARÃES, M.A.; TIBANA, A.; NUNES, M.P.; SANTOS, K.R.N. Disinfectant and antibiotic activities: a comparative analysis in brazilian hospital bacterial isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.193-199, 2000.

JAWAD, A.; SEIFERT, H.; SNELLING, A.M.; HERITAGE, J.; HAWKEY, P.M. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n.7, p.1938-1941, July 1998.

KICH, J.D.; BOROWSKY, L.M.; SILVA, V.S.; RAMENZONI, M.; TRIQUES, N.; KOOLER, F.L.; CARDOSO, M.R.I. Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.1, p.33-39, 2004.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR, W.C. **Color Atlas an Textbook of Diagnostic Microbiology**, Fifth ed., Lippincott, EUA, 1997.

KUNIGK, L.; ALMEIDA, M.C.B. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.38-41, 2001.

LEMMEN, S.W.; HAFNER, H.; ZOLLDANN, D.; STANZEL, S.; LUTTICKEN, R. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. **Journal of Hospital Infection**, v.56, p.191-197, 2004.

MARANGONI, D.V. *Staphylococcus aureus*. In: RODRIGUES, E.A.C. et al. **Infecções Hospitalares Prevenção e Controle**. Ed. Sarvier, 1997, p. 573-591.

MARTINS-DINIZ, J.N.; SILVA, R.A.M.; MIRANDA, E.T.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Revista de Saúde Pública**, v.39, n.3, p.398-405, 2005.

MEDEIROS, E.S.; SANTOS, M.V.; JÚNIOR, J.W.P.; FARIA, E.B.; WANDERLEY, G.G.; TELES, J.A.A.; MOTA, R.A.. Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.1, p.71-75, Janeiro 2009.

NOGAROTO, S.L.; PENNA, T.C.V. **Desinfecção e Esterilização**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2006, 338p.

PANNUTI, C.S. A importância do meio ambiente hospitalar. In: RODRIGUES, E.A.C. et al. **Infecções Hospitalares Prevenção e Controle**. Ed. Sarvier, 1997, p. 449-455.

PATTERSON, J.E.; SANCHEZ, R.O.; HERNANDEZ, J.; GROTA, P.; ROSS, K.A. Special organism isolation: attempting to bridge the gap. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.15, n.5, p.335-338, 1994.

PENNA, T.C.V.; MAZZOLA, P.G.; MARTINS, A.M.S. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs. **BMC Infectious Diseases**, v.1, n.16, 2001.

PÉREZ, A.U.R.; PORTILLA, D.M.; CUESTA, N.P.; PÉREZ, C.R.. Estudio de la Resistencia de microorganismos aislados de infecciones nosocomiales. **Revista Mexicana de Patología Clínica**, v.53, n.2, p.119-122, abril/junio, 2006.

PORTO ALEGRE. **Secretaria Municipal da Saúde**. Manual de orientação para controle da disseminação de *Acinetobacter sp* resistente a carbapenêmicos no município de Porto Alegre, 2007.

ROMÃO, C.M.C.A. Desinfecção esterilização química. In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. **Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar**. Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 1998, p.133-162.

RUTALA, W.A.; BARBEE, S.L.; AGUIAR, N.C.; SOBSEY, M.D.; WEBER, D.J. Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.21, n.1, p.33-38, 2000.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Surface disinfection: should we do it? **Journal of Hospital Infection**, v.48, supplement A, p.64-68, 2001.

SANTOS, L.R.; NETO, J.F.S.; RIZZO, N.N.; BASTIANI, P.V.; RODRIGUES, L.B.; FERREIRA, D.; SCHWANTS, N.; BARCELLOS, H.H.A.; BRUN, M.V. Avaliação dos procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (HV-UPF). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.3, p.357-362, 2007.

SEGUIN, J.C.; WALKER, R.D.; CARON, J.P.; KLOOS, W.E.; GEORGE, C.G.; HOLLIS, R.J.; JONES, R.N.; PFALLER, M.A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: potential human-to-animal transmission. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.5, p.1459-1463, May 1999.

SILVA, F.C.; ANTONIAZZI, M.C.C.; ROSA, L.P.; JORGE, A.O.C. Estudo da contaminação microbiológica em equipamentos radiográficos. **Revista Biociência**, Taubaté, v.9, n.2, p.35-43, abr-jun 2003.

SOUZA, A.C.S.; PEREIRA, M.S.; RODRIGUES, M.A.V. Descontaminação prévia de materiais médico-cirúrgicos: estudo da eficácia de desinfetantes químicos e água e sabão. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.6, n.3, p.95-105, Julho 1998.

SOUZA, J.B.; DANIEL, L.A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.10, n.2, p.111-117, abr/jun. 2005.

THÉRAUD, M.; BÉDOUIN, Y.; GUIGUEN, C.; GANGNEUX, J.P. Efficacy of antiseptics and disinfectants on clinical and environmental yeast isolates in planktonic and biofilm conditions. **Journal of Medical Microbiology**, v.53, p.1013-1018, 2004.

WEESE, J.S.; CALDWELL, F.; WILLEY, B.M.; KREISWIRTH, B.N; MCGEER, A.; ROUSSEAU, J.; LOW, D.E. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. **Veterinary Microbiology**, v.114, p.160-164, 2006.

WENDT, C.; WIESENTHAL, B.; DIETZ, E.; RUDEN, H. Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible Enterococci on dry surfaces. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n.12, p.3734-3736, December 1998.

WIEST, J.M. Desinfecção e desinfetantes. In: GUERREIRO, M. G. et al.; **Bacteriologia Especial: com Interesse em Saúde Animal e Saúde Pública**. Porto Alegre, Sulina, 1984, p. 51-66.

WISPLINGHOFF, H.; SCHMITT, R.; WOHRMANN, A.; STEFANIK, D.; SEIFERT, H. Resistance to disinfectants in epidemiologically defined clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Hospital Infection**, v.66, p.174-181, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Practical Guidelines for Infection Control in Health Care Facilities**, 2004, 110p. Disponível em: < http://www.searo.who.int/LinkFiles/Publications_PracticalguidelinSEAROpub-41.pdf >. Acesso em: 05 jul. 2009.

APÊNDICE A

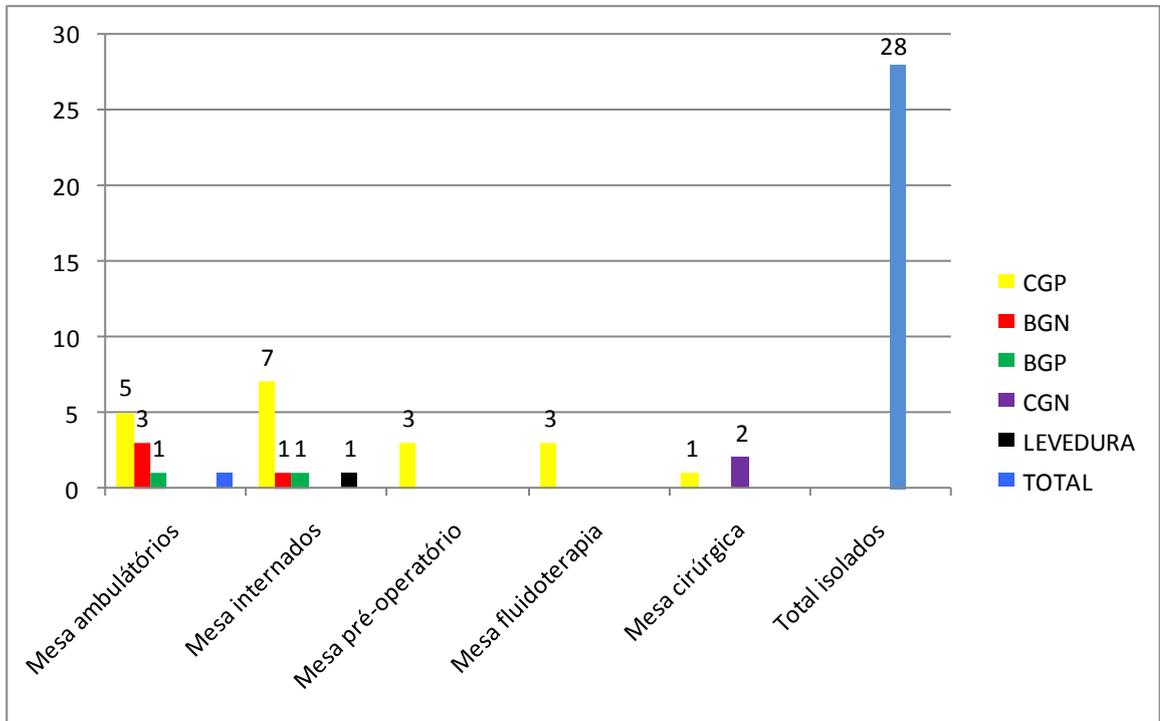
Tabela A. Concentração e tempo mínimo testados, necessário para inativar os microrganismos confrontados.

| DESINFETANTE | <i>Pool 1</i> | | <i>Pool 2</i> | | <i>Pool 3</i> | | Cultura levedura | |
|--------------------------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|------------------|-----------|
| | Conc mg/L | TC min | Conc mg/L | TC min | Conc mg/L | TC min | Conc mg/L | TC min |
| Iodóforo | 25 | 5 | 25 | 1 | 50 100 | 10 1 | 25 | 1 |
| Hipoclorito de Sódio | 250 | 1 | 250 | 1 | 250 | 5 | 250 500 | 10 5 |
| Ácido Peracético | 50 100 | 10 5 | 50 100 | 10 5 | 100 | 10 | 100 | 10 |
| Clorhexidina | 1.250 | 1 | 1.250 | 1 | 1.250 | 1 | 1.250 | 1 |
| Quaternário de Amônio | 250 | 1 | 250 | 1 | 250 | 1 | 250 | 1 |
| Fenol sintético | 250 | 1 | 250 | 1 | 250 | 1 | 250 | 1 |
| Álcool (GL) | 60 | 1 | 60 | 1 | 60 | 1 | 60 | 1 |

Conc: concentração mínima para inativação; TC: tempo de contato mínimo para inativação.

APÊNDICE B

Gráfico 1. Grupos de microrganismos isolados por local de amostragem.



CGP: coco Gram positivo; BGN: bacilo Gram negativo; BGP: bacilo Gram positivo; CGN: cocobacilo Gram negativo.

ANEXO A – Laudo de Análise Ácido Peracético



Av. Dom Pedro I, 910 – Vila Conceição
 Cep. 09991-000 - Diadema SP
 Tel. (11) 3382.9300
 Fax. (11) 3382.9307
 cromoline@cromoline.com.br

LABORATÓRIO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Produto : ACIDO PERACETICO 17%
 Quantidade : 50 LT
 Lote : 14298/07

| CARACTERISTICAS | ESPECIFICAÇÕES | RESULTADO |
|------------------------|-----------------|-----------|
| Ácido Peracético | Min. 17,0 % | 17,01 % |
| Aparência | Solução Limpida | De Acordo |
| Impurezas em suspensão | Isento | Isento |
| pH a 1% | 2,50 - 3,50 | 2,96 |
| Densidade a 25°C | 1,138 - 1,158 | 1,148 |

Observações :

Data de Fabricação : 23 / OUTUBRO / 2007

Data de Validade : 23 / OUTUBRO / 2011

Químico Responsável : CRQ. nº 04450378 - 4ª Região

Documento emitido eletronicamente sob responsabilidade do Controle de Qualidade.

ANEXO B – Laudo de Análise Iodóforo



Porto alegre 8 julho, 2009

LAUDO DE ANALISE SEGUNDO ACS

PRODUTO: IODOFOR AQUOSO 2%

DATA DE FABRICAÇÃO: 8/7/2009

LOTE: 26600IG0810

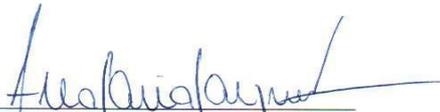
ANALISADO EM: 8/7/2009

VALIDADE: 12 MESES

Produto resultante da dissolução de PVPI em veículo aquoso.

PROPRIEDADES

| |
|--|
| ASPECTO: Líquido escuro |
| COR: marrom |
| ODOR: característico |
| CONSERVAÇÃO: Em frasco bem fechado, em local seco e arejado. |


 TOP GLASS IND. COM. LTDA
 CRQ 5ª região - 03100693

ANEXO C – Laudo de Análise Hipoclorito de Sódio



Empresa recertificada segundo norma ISO 9001:2008

DEPARTAMENTO DA GARANTIA DA QUALIDADE

LAUDO DE ANÁLISE

PRODUTO: **HIPOCLORITO DE SÓDIO 4 - 6% PA**
 CÓD: **1019** LOTE: **0804086** FÓRMULA MOLECULAR: **NaClO**
 CARACTERÍSTICA FÍSICA: **LÍQUIDO MUI LEVEMENTE AMARELADO**

ANÁLISE SEGUNDO ME0010/0344

ESPECIFICAÇÃO :VETEC (ES0010/0346)

| TESTES | LIMITES | RESULTADOS |
|--------|---------|------------|
| TEOR | 4 - 6% | 6% |

DATA DE APROVAÇÃO/FABRICAÇÃO: **06/2008** VALIDADE: **06/2010**
 OBS.: A VALIDADE DO PRODUTO É DADA MEDIANTE A ÚLTIMA DATA DE ANÁLISE/FABRICAÇÃO DO MESMO.

Carmen Lúcia M. H. de Carvalho

Carmen Lúcia M. H. de Carvalho
 Gerente do Controle de Qualidade
 C.R.Q. N° 03211584

ASSINATURA ELETRÔNICA VALIDADA

ANEXO D – Laudo de Análise Quaternário de Amônio



IMPORTADORA QUÍMICA DELAWARE LTDA.

Documento: N° 36744/08

Data Emissão: 14/07/2008

Ordem de Fracionamento: 31748

| Insumo | | QUATERNÁRIO DE AMÔNIO 50% | |
|--------------------|------------|---------------------------|------------|
| Fórmula Molecular | | Peso Molecular | |
| Origem | BRASIL | Procedência | BRASIL |
| Classe Terapêutica | | DCB | |
| Lote Interno | 110708 | CAS | 8030-78-2 |
| Fabricante | | Lote Original | 0508-206 |
| Data Fabricação | 09/05/2008 | Data Validade | 09/05/2010 |

Análises Físico-Químicas

| Testes | Especificações | Resultados |
|-----------------------------|---|---------------|
| *Aspecto (a 25 °C) | Líquido incolor a levemente amarelado, odor característico. | De Acordo |
| *pH (Solução aquosa a 10 %) | 5,00 a 8,00 | 7,54 |
| *Densidade | Informativo | 0,8824 g / mL |
| Substância Ativa | 48,00 % a 52,00 % | 49,22 % |
| Amina Livre | Máximo 2,00 % | 1,43 % |
| Amina Cloridrato | Máximo 1,00 % | 0,23 % |

Os resultados presentes neste Certificado de Análise, tem seus valores restritos a este lote.

Referência Bibliográfica: Conforme literatura do fornecedor.

Conservação: Em recipientes herméticos, ao abrigo da luz, calor e umidade.

*Testes realizados em nosso laboratório de controle de qualidade.


Patricia de Lima
Analista
Controle de Qualidade


Mariana Brandalise
Farmacêutica Responsável
CRF-RS 12356

CONTROLE DE QUALIDADE

RUA MORRETES, 376 - FONE/FAX: (51) 3341.0812 - CEP. 91030-300 - SANTA MARIA GORETTI - PORTO ALEGRE - RS - BRASIL
E-mail: vendas@delaware.com.br

ANEXO E – Laudo de Análise Clorhexidina



IMPORTADORA QUÍMICA DELAWARE LTDA.

CERTIFICADO DE ANÁLISE

Documento: N° 37749/08

Data Emissão: 08/12/2008

Ordem de Fracionamento: 32718

| | | | |
|--------------------|---|----------------|-----------------|
| Insumo | DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA SOLUÇÃO 20% | | |
| Fórmula Molecular | $(C_{22}H_{30}N_{10}Cl_2) \cdot (C_6H_{12}O_7)_2$ | Peso Molecular | 897,77 (ANIDRO) |
| Origem | BRASIL | Procedência | BRASIL |
| Classe Terapêutica | ANTISEPTICO | DCB | 02437 |
| Lote Interno | 041208 | CAS | 18472-51-0 |
| Fabricante | NEOBRIX | Lote Original | 200809147 |
| Data Fabricação | 23/09/2008 | Data Validade | 23/09/2010 |

Análises Físico-Químicas

| Testes | Especificações | Resultados |
|--------------------|---|--------------|
| *Aspecto | Líquido incolor a amarelo palha, límpido a ligeiramente opalescente, inodoro e de sabor amargo. | De acordo |
| *Solubilidade | Miscível em água, solúvel em acetona e em etanol. | De acordo |
| *Teor | 19,0 a 21,0 % | 20,11 % |
| *pH (direto) | 5,5 a 7,0 | 5,60 |
| *Densidade a 20 °C | 1,060 a 1,070 g / mL | 1,062 g / mL |
| Ferro | Máximo 20 ppm | < 20 ppm |

Os resultados presentes neste Certificado de Análise tem seus valores restritos a este lote.

Referência Bibliográfica: Conforme literatura do fornecedor.

Conservação: Em recipientes herméticos, ao abrigo da luz, calor e umidade.

*Testes realizados em nosso laboratório de controle de qualidade.


 Patrícia de Lima
 Analista
 Controle de Qualidade


 Mariana Brandalise
 Farmacêutica Responsável
 CRF-RS 12356

CONTROLE DE QUALIDADE

RUA MORRETES, 376 - FONE/FAX: (51) 3341.0812 - CEP 91030-300 - SANTA MARIA GORETTI - PORTO ALEGRE - RS - BRASIL
 E-mail: vendas@delaware.com.br

ANEXO F – Laudo de Análise Álcool Etilico



ALPHA QUÍMICA LTDA Distribuidora e Fracionadora de Insumos Químicos e Farmacêuticos.
 CNPJ: 93.763.555/0001-76, Avenida das Indústrias, 566, Bairro Anchieta, CEP 90200-290,
 Porto Alegre - RS. Fone: (51) 3625-4444, Fax: (51) 3371-1847
 São Paulo - SP. Fone: (11) 5071-0388

www.alphaquimica.com.br

CERTIFICADO DE ANÁLISE

PRODUTO: ÁLCOOL HIDRATADO
NOME QUÍMICO (DCB): ÁLCOOL ETÍLICO
LOTE DO FABRICANTE: 009H
DATA DE FABRICAÇÃO: 05/2009
REF. BIBLIOGRÁFICA: FABRICANTE E USP XXVI.

ORIGEM: NACIONAL
CAS: [64-17-5]
LOTE INTERNO: M1682/09
DATA DE VENCIMENTO: 04/2010

| TESTES | ESPECIFICAÇÕES | RESULTADOS | MÉTODOS |
|---|---|------------|-------------|
| Características organolépticas* | Líquido volátil, límpido incolor com odor característico | Conforme | MAFQ n° 048 |
| Solubilidade* | Miscível em água e com praticamente todos os solventes orgânicos. | Conforme | MAFQ n° 006 |
| Densidade a 15,56°C, g/ml* | 0,812 - 0,816 | 0,814 | MAFQ n° 001 |
| Teor alcoólico, GL** | 94,9 - 96,0 | 96 | ALCOOMETRO |
| Identificação B* | Teste específico | Conforme | RA n° 022 |
| Acidez, ml de NaOH 0,02N* | Máx. 0,9 | 0,6 | RA n° 022 |
| Limites para resíduos não voláteis, mg* | Máx. 1,00 | 0,3 | RA n° 022 |
| Substâncias insolúveis em água* | Teste específico | Conforme | RA n° 022 |
| Aldeídos e outras subst. Orgânicas* | Teste específico | Conforme | RA n° 022 |
| Substâncias carbonizáveis, álcool amílico e não voláteis* | Teste específico | Conforme | RA n° 022 |
| Metanol* | Teste específico | Conforme | RA n° 022 |
| Teor alcoólico (peso), I.N.P.M. | 92,6 - 93,8 | 92,8 | --- |
| Condutividade Elétrica, µS/m | Máx. 500 | 215 | --- |
| Acidez (como ácido acético), mg/L | Máx. 30 | <5 | --- |
| Sulfato, mg/kg | Máx. 4 | <1 | --- |
| Cobre, mg/kg | --- | <0,07 | --- |
| Ferro, mg/kg | Máx. 5 | <0,5 | --- |
| Sódio, mg/kg | Máx. 2 | <0,5 | --- |

Condições de armazenamento:

Armazenar em temperatura ambiente e em local fresco e arejado.

APROVADO
DATA: 15/06/2009

RESPONSÁVEL TÉCNICO: CARMEN ANTONIOLLI CRQ 5ª REGIÃO N° 05302048

(*) TESTES REALIZADOS EM LABORATÓRIO PRÓPRIO. OS DEMAIS TESTES FORAM TRANSCRITOS DO CERTIFICADO DE ANÁLISE DO FORNECEDOR.

PARA ASSEGURAR O PRAZO DE VALIDADE ESTABELECIDO, MANTENHA O PRODUTO SOB CONDIÇÕES ADEQUADAS DE ARMAZENAMENTO.

ENTRADA EFETIVAMENTE DISPENSA ASSINATURA