

Universidade CEUMA

Pró-Reitoria de Pós Graduação Pesquisa e Extensão

Programa de Pós Graduação em Odontologia

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM ALICATES
ORTODÔNTICOS APÓS DESINFECÇÃO COM ÁLCOOL
70%, GLUTARALDEÍDO 2% E ÁCIDO PERACÉTICO 0,25%**

Maria Reggiani Azevedo Carvalho

São Luís – MA

2013

Universidade CEUMA

Pró-Reitoria de Pós Graduação Pesquisa e Extensão

Programa de Pós Graduação em Odontologia

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM ALICATES
ORTODÔNTICOS, APÓS DESINFECÇÃO COM ÁLCOOL
70%, GLUTARALDEÍDO 2% E ÁCIDO PERACÉTICO 0,25%

Maria Reggiani Azevedo Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade CEUMA para a obtenção do Grau de Mestre em Odontologia. Área de Concentração Ortodontia.

Orientador: Prof. Dr. Marcos André dos Santos da Silva

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Célia Regina Maio Pinzan Vercelino

São Luís – MA

2013

C331a Carvalho, Maria Reggiani Azevedo

Avaliação microbiológica em alicates ortodônticos, após desinfecção com álcool 70%, glutaraldeído 2% e ácido peracético 0,25%. / Maria Reggiani Azevedo Carvalho. São Luís: UNICEUMA, 2013.

87 p.: il.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Odontologia - Área de concentração Ortodontia - Universidade CEUMA, 2013.

1. Controle de infecção. 2. Desinfecção. 3. Ortodontia
I. Silva, Marcos André dos Santos da (Orientador); II. Vercelino, Célia Regina Maio Pinzan (Co-Orientadora); III. Título.

CDU: 616.314-089.23

Informações do Autor

Maria Reggiani Azevedo Carvalho

Nascimento 28/02/1961 em Fortaleza - Ce

Filiação Maria Anúsia Damasceno Azevedo
José de Jesus Aguiar Azevedo

1979 a 1982 Graduação em Odontologia pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

2001 a 2003 Especialização em Ortodontia e Ortopedia Facial pela Associação Brasileira de Odontologia – Secção Piauí (ABO – PI).

2011 a 2013 Mestrado em Odontologia – Área de Concentração em Ortodontia pela Universidade CEUMA.

Dedicatória

Ao meu esposo Francisco Paula Coqueiro Carvalho, que sempre me incentivou e sempre me ajudou nas decisões mais importantes da minha vida. E aos meus filhos Renata e Vítor, amores da minha vida.

Agradecimentos

Meu agradecimento inicial vai para o meu Deus, por estar presente em todos os momentos e por ter me ajudado nesta luta e nesta conquista.

Ao meu esposo Francisco Paula Coqueiro de Carvalho pelo apoio incondicional e paciência durante esses dois anos de mestrado.

À minha filha Renata e meu genro Leonardo pela preocupação, consideração e desvelo que tiveram comigo, durante esse tempo que passei em sua casa em São Luís, nas semanas do Mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos André dos Santos da Silva, pela confiança e pelo auxílio no desenvolvimento desse trabalho.

À minha Co-Orientadora Célia Regina Maio Pinzan Vercelino pela inestimável ajuda e opiniões sensatas, nos momentos que necessitei.

À Universidade Federal do Piauí por proporcionar condições para a realização desta pesquisa.

Aos meus colegas de mestrado Kellyne, Théo, Adelson, Arilton, Marcelo e Érico pela companhia, amizade e pelos momentos de descontração.

A todos os funcionários da Pós-Graduação pela paciência, gentileza e disponibilidade em nos atender.

Ao Pró-Reitor Prof. Dr. Valério Monteiro Neto, pela valiosa cooperação e disponibilidade em me atender em todos os momentos que necessitei de sua experiência em Microbiologia.

Aos coordenadores do Mestrado de Odontologia Prof. Dr. Júlio Gurgel e Prof. Dr. Mateus Bandeca pelo valoroso trabalho que realizaram junto aos alunos.

Aos professores do Mestrado: Matheus Bândeca, Rudys Tavares, Leily Firoozmand, Elizabeth Fernandes, Rejane Queiroz, Luciana de Almeida, Marcos André da Silva, Etevaldo Fialho, Sandra Regina dos Santos e Sílvio Monteiro que contribuíram pelo meu crescimento e desenvolvimento ao longo desta jornada, o meu muito obrigada.

Aos Professores de Ortodontia Júlio Gurgel, Célia Pinzan Vercelino e Fausto Bramante pelos conhecimentos e experiências transmitidos na nossa especialidade.

A Laura Ferreira por ter facilitado o meu acesso a Universidade Federal do Piauí, para a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Viriato Campelo por ter me aberto as portas do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Piauí, ter me ajudado nesta área, além de ter participado da minha banca.

A Prof^a Maria do Carmo Sousa, chefe do Departamento de Parasitologia e Microbiologia da UFPI, por ter dado a oportunidade de fazer a minha pesquisa neste Departamento.

Ao Prof. Luís Macedo da Universidade Federal de Minas Gerais, pela grande ajuda com o *Streptococcus mutans*.

Às acadêmicas de medicina Raissa e Janine pela inestimável cooperação na leitura das Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

À bióloga e técnica de laboratório Carla Adriana que me ajudou incansavelmente na parte laboratorial dessa pesquisa e a sua colega Nete, que sempre nos auxiliou quando necessário. A vocês duas, agradeço de coração.

À minha auxiliar de saúde bucal Maria do Socorro Santana da Cruz, que muito me auxiliou na execução desta pesquisa.

“Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar, não apenas planejar, mas também acreditar.”

Anatole France

Carvalho, MRA. Avaliação microbiológica em alicates ortodônticos, após desinfecção com álcool 70%, glutaraldeído 2% e ácido peracético 0,25% [Dissertação]. São Luís: Universidade CEUMA; 2013.

Resumo

O presente estudo teve como objetivo comparar as substâncias químicas álcool 70%, glutaraldeído 2% (GTA) e ácido peracético 0,25% (APA), quanto à eficácia, na desinfecção de alicates ortodônticos contaminados *in vitro* com *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Foram utilizados neste experimento, 11 alicates de corte distal divididos em 5 grupos de acordo com o tratamento: Grupo Experimental 1 (8 alicates desinfetados com Álcool 70%, método de fricção); Grupos Experimental 2 (8 alicates desinfetados com GTA 2%, método de imersão por 30 minutos), Grupo Experimental 3 (8 alicates desinfetados com APA 0,25%, método de imersão por 10 minutos), Grupo 4- Controle Positivo (01 alicate esterilizado, posteriormente contaminado), Grupo 5- Controle Negativo (composto por 2 alicates esterilizados). Após serem tratados com um desinfetante e realizada a avaliação microbiológica (contagem de Unidades Formadoras de Colônias - UFC/ml), todos os alicates passaram pelos mesmos processos de lavagem, esterilização, contaminação e foram utilizados nos grupos seguintes (estudo tipo *cross-over*). Foi realizado o teste ANOVA de dois fatores, seguido pelo teste de *Tukey*, para a comparação múltipla entre os grupos. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os 3 desinfetantes testados ($p > 0,05$), apesar de dois dos alicates (25%) continuarem contaminados com *Staphylococcus aureus* após tratamento com álcool 70%. Concluiu-se que os desinfetantes químicos glutaraldeído 2% e ácido peracético 0,25% foram eficazes para inibir o crescimento dos microorganismos de testes. Mas o álcool 70%, não foi suficiente para a total eliminação da bactéria *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: Controle de infecção. Desinfecção. Ortodontia.

Carvalho, MRA. Microbiological evaluation orthodontics pliers, after disinfection with 70% alcohol, 2% glutaraldehyde and 0.25% peracetic acid [Dissertation]. São. Luís: University CEUMA, 2013.

Abstract

The study aimed to compare the chemicals substances 70% alcohol , 2% glutaraldehyde (GTA) and 0.25% Peracetic acid (PAA), for efficacy in disinfecting contaminated orthodontic pliers in vitro with, Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus and Candida albicans contamination. In this experiment, 11 distal cutting pliers, divided into 5 groups according to treatment were used: Experimental Group 1 (8 pliers disinfected with 70% Alcohol, friction method); Experimental group 2 (8 pliers disinfected with 2% GTA, immersion method for 30 minutes), Experimental Group 3 (8 pliers disinfected with 0.25% PAA, immersion method for 10 minutes), Group 4- Positive Control (one plier sterilized, contamination afterwards), Group 5- Negative Control (formed by two pliers sterilized). After being treated with a disinfectant and the microbiological evaluation had been performed (counting colony forming units-CFU/ml) all pliers went through the same processes of washing, sterilization and contamination, were used in the following groups (cross-over study). We conducted a two-way ANOVA test followed by Tukey test, for multiple comparisons between the groups. The results showed no statistically significant difference between the 3 disinfectants tested ($p > 0,05$), although two out of all the pliers (25%) remained contaminated with Staphylococcus aureus after treatment with 70% alcohol. It is concluded, that chemical disinfectants 2% glutaraldehyde and 0.25% peracetic acid were effective in inhibit the growth of microorganisms tests. However the 70% alcohol, was not enough for the total elimination of the Staphylococcus aureus.

Keywords: Infection Control. Disinfection. Orthodontics

Lista de Ilustrações

Figura 1	- Desinfetantes usados na pesquisa: Álcool 70%, Ácido Peracético e Glutaraldeído	50
Quadro 1	- Grupos Experimentais (1, 2 e 3), Controle Positivo e Controle Negativo analisados na pesquisa	50
Figura 2	- Alicates empacotados em papel grau cirúrgico e esterilizados em autoclave para o início do experimento	51
Figura 3	- Caldo BHI com microorganismos, contaminando a ponta ativa dos 9 alicates	53
Figura 4	- <i>Swab</i> estéril umedecido em solução salina estéril, esfregado durante 30 segundos sobre a superfície da ponta ativa de um dos alicates contaminados (Controle Positivo)	54
Figura 5	- Contador de colônias com lupa (Quimis, Diadema- SP- Brasil)	55
Figura 6	- Lavagem do alicate com escova, água corrente e sabão líquido	57
Figura 7	- Fricção do alicate com álcool 70%. Este procedimento foi repetido 3 vezes após secagem espontânea	57
Figura 8	- Tratamento com GTA 2% por imersão (30 minutos)	58
Figura 9	- Tratamento com APA 0,25% por imersão (10 minutos)	59
Figura 10	- Placas exemplificando grande contaminação, com colônias de microorganismos dos alicates do grupo CP, nos 3 meios de cultura	64
Figura 11	- Placa do alicate 4, contaminado com <i>S. aureus</i> , após tratamento de desinfecção com Álcool 70%, no meio de cultura manitol salgado	64
Figura 12	- Placas de alicates após tratamento de desinfecção com GTA (grupo 2), dos três microorganismos, nos três meios de culturas - sem nenhuma contaminação	65
Figura 13	- Placas de alicates após tratamento de desinfecção com APA (grupo 3), dos três microorganismos, nos três meios de culturas - sem nenhuma contaminação	65

- Figura 14 - Placas de alicates após tratamento de desinfecção com Álcool 70%, dos três microorganismos, nos três meios de culturas- sem nenhuma contaminação 65
- Gráfico 1 - Média do Log_{10} UFC/ml por microorganismos e por grupo de tratamento (média < 2,0 (log_{10} de 100) = alicate descontaminado) 66

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Análise do Log ₁₀ (UFC/ml) pela ANOVA com dois fatores	62
Tabela 2 - ANOVA e Tukey- Média do Log UFC/ml para os 3 microorganismos nos 5 grupos de tratamento	63
Tabela 3 - UFC/ml dos Alicates- 3 Grupos Experimentais (1, 2 e 3), CP e CN, após contaminação com os 3 microorganismos	87

Lista de Siglas e Abreviaturas

ADA	= <i>American Dental Association</i>
ANOVA	= Análise de Variância
ANVISA	= Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APA	= Ácido Peracético
ATCC	= <i>American Type Culture Collection</i>
BHI	= <i>Brain Heart Infusion</i>
<i>C. albicans</i>	= <i>Candida albicans</i>
CDC	= <i>Centers for Disease Control and Preventions</i>
DP	= Desvio Padrão
CMI	= Concentração Mínima Inibitória
CN	= Controle Negativo
CP	= Controle Positivo
DNA	= Ácido Desoxirribonucléico
EDTA	= Ácido Etilenodiaminotetracético
EPI	= Equipamento de Proteção Individual
EUA	= Estados Unidos da América
F	= Valor do Teste ANOVA
FV	= Fonte de Variação
GL	= Graus de Liberdade
GTA	= Glutaraldeído
P	= Significância do Teste ANOVA
QM	= Quadrado médio
HBV	= Vírus da Hepatite B
HIV	= Vírus da Imunodeficiência Humana
MCR	= Micobactérias de Crescimento Rápido
OPA	= Ortofitaldeído
<i>S. aureus</i>	= <i>Staphylococcus aureus</i>
SIDA	= Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

S. mutans = *Streptococcus mutans*
SQ = Soma de quadrado
SND = Solução Não Diluída
UFC = Unidade Formadora de Colônias
VP = *Voges-Proskauer*

Sumário

1	Introdução	16
2	Revisão da Literatura	20
2.1	Contaminação cruzada no consultório ortodôntico	21
2.2	Limpeza	25
2.3	Esterilização	26
2.4	Desinfecção	30
2.4.1	Álcool 70%	32
2.4.2	Glutaraldeído (GTA)	35
2.4.3	Ácido Peracético – APA	38
2.5	Microorganismos	42
2.5.1	<i>Streptococcus mutans</i> - <i>S. mutans</i>	42
2.5.2	<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>S. aureus</i>	43
2.5.3	<i>Candida albicans</i> - <i>C. albicans</i>	43
3	Proposição	45
4	Material e métodos	47
4.1	Material	48
4.2	Métodos	49
4.2.1	Semeadura dos microorganismos	51
4.2.2	Incubação inicial das placas de Petri	52
4.2.3	Preparação do inóculo	52
4.2.4	Contaminação dos alicates	53
4.2.5	Aplicação do <i>swab</i> sobre os alicates	54
4.2.6	Semeadura da SND e das três diluições	54
4.2.7	Incubação das placas de Petri	55
4.2.8	Contagem de UFC	55
4.2.9	Tratamento dos alicates	56
4.2.10	Análise estatística	59
5	Resultados	61
6	Discussão	67
7	Conclusão	75

8	Referências Bibliográficas	77
	Anexo	85

Introdução

1. Introdução

Em toda atividade odontológica, tão importante quanto o aprimoramento técnico científico, é a conscientização dos riscos de contaminação durante a atividade clínica¹. No atendimento ao paciente, os microorganismos podem ser transmitidos através do contato direto com sangue, saliva, outros fluidos corporais e pela respiração; pelo contato indireto com instrumentos, equipamentos e superfícies contaminadas e pelo contato com contaminantes provenientes de aerossóis ou gotículas que podem permanecer suspensos por longos períodos².

A Ortodontia é considerada uma especialidade negligente no que diz respeito ao controle de infecção^{3, 4}, porque os ortodontistas ainda consideram esta especialidade pouco invasiva, onde a maioria dos pacientes é jovem, apresentando baixo risco de contaminação⁵. Mas a utilização de jatos ar/água em grande parte dos procedimentos, a grande rotatividade de pacientes em um mesmo dia, o alto índice de colônias bacterianas retidas nas regiões de bandas e bráquetes, assim como a possibilidade de perfurações com fios ortodônticos ou de amarrilho, colocam a Ortodontia como uma especialidade de risco, aumentando a possibilidade de infecção cruzada^{6,7}.

Desinfecção é o processo de destruição de microrganismos na forma vegetativa, mediante a aplicação de substâncias químicas. A desinfecção é afetada por fatores como a natureza do objeto (tipo de fendas e dobradiças), concentração e tempo de exposição ao produto desinfetante⁸.

Vários tipos de produtos químicos são utilizados para a desinfecção de materiais e instrumentais na odontologia e em outras áreas da saúde⁹, como o álcool 70%, glutaraldeído (GTA) e atualmente o ácido peracético (APA).

O álcool 70% é considerado um desinfetante de nível intermediário. É utilizado como desinfetante de superfícies e instrumentos e como antisséptico¹⁰. Segundo Gandini Jr. et al.¹¹, o álcool 70% ainda é o desinfetante mais usado, embora seja o menos eficiente. O glutaraldeído (GTA) 2% é um desinfetante de alto nível. Realiza tanto desinfecção (tempo de 30 minutos), quanto esterilização (10 horas). Sua principal desvantagem é sua toxicidade, podendo causar irritação na pele, olhos e sistema respiratório¹².

O ácido peracético (APA) é um desinfetante de alto nível que começou a ser usado no Brasil à partir da última década, sendo utilizado na desinfecção e esterilização de equipamentos e instrumentos médico-hospitalares, em substituição ao glutaraldeído. Sua utilização na Odontologia é recente. Este apresenta vantagens em relação aos outros desinfetantes utilizados na Odontologia: é esporicida em baixas concentrações e em contato com matéria orgânica, realiza uma desinfecção em 10 minutos e uma esterilização entre 30 minutos a 1 hora, é biodegradável e não é tóxico^{13,14,15}.

Devido à alta rotatividade de pacientes no consultório ortodôntico, onde se atende um grande número de pacientes em um curto espaço de tempo, há a necessidade de o ortodontista dispor de grande quantidade de instrumentais, dentre eles destacamos os alicates ortodônticos¹⁶.

O uso desses alicates no dia a dia do consultório ortodôntico é uma constante. Durante o atendimento da maioria dos pacientes, necessita-se de alicates para executar alguns procedimentos como cortar a ponta do fio atrás do tubo, remover bandas, bráquetes, resina composta e inserir dobras no arco. O alicate de corte distal é um dos mais utilizados dentro da clínica ortodôntica. Estes alicates apresentam-se contaminados, como qualquer outro instrumental odontológico, após serem empregados em atendimento clínico. Por meio desses alicates contaminados, diversos tipos de microorganismos podem ser transmitidos entre indivíduos^{12,17,18,19}
20,

A maioria dos alicates usados em Ortodontia requer esterilização. Sabe-se que, muitos ortodontistas e grande parte dos alunos dos Cursos de Pós-Graduação em Ortodontia, fazem uso de uma desinfecção rápida ao invés da esterilização dos alicates ortodônticos que entram em contato com a cavidade bucal. No trabalho de Bardini¹⁹, o método químico foi o preferido por 54,1% dos alunos (álcool e GTA), sendo que o álcool 70% foi o desinfetante mais utilizado para a desinfecção dos alicates. Além disso, a taxa de alicates que não foram desinfetados /esterilizados foi de 33%. Este fato possivelmente ocorre pelo falta de um estoque suficiente de alicates para que esses possam ser corretamente esterilizados entre os atendimentos.

O alto custo dos alicates, o receio da perda de corte desse instrumental e a necessidade de maior tempo para realizar todo o processo de esterilização,

encontram-se entre os principais fatores para a não esterilização dos alicates ortodônticos^{20,21}. Fica constatado que os procedimentos de biossegurança adotados no meio acadêmico e em alguns consultórios particulares estão sendo pouco eficientes²².

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a seguinte hipótese nula: não há diferença entre o álcool 70%, glutaraldeído 2% e ácido peracético 0,25%, quanto a sua eficácia, na desinfecção de alicates ortodônticos.

Revisão da Literatura

2. Revisão da Literatura

2.1. Contaminação cruzada no consultório ortodôntico

A maior fonte de contaminação cruzada no consultório odontológico é a boca dos pacientes, que abriga uma grande concentração de microorganismos, tornando o ambiente clínico odontológico um meio propício para expor os profissionais e seus pacientes aos riscos biológicos^{2,16}. Esses microorganismos patogênicos podem ser transmitidos diretamente do ortodontista para o paciente ou do paciente para o profissional e indiretamente, de paciente para paciente. Este último pode ocorrer através de superfícies e instrumentos contaminados^{18,23,24}. Devido a isso, o desenvolvimento de métodos para o controle da transmissão de doenças vem sendo uma preocupação da comunidade científica odontológica²⁵.

Os instrumentos, objetos e equipamentos usados durante os cuidados aos pacientes foram agrupados em 1968 por Spaulding, de acordo com o seu contato ou não aos tecidos, observando seu nível de infecção. O Ministério da Saúde em 1994 recomendou a classificação de Spaulding para objetos inanimados, conforme o risco potencial de transmissão de infecção que apresentam. Os artigos foram classificados em críticos (penetram em tecido conjuntivo ou ósseo e requerem esterilização), semi-críticos (entram em contato com mucosas íntegras e pele não íntegra e requerem desinfecção de alto nível ou esterilização) e não-críticos (entram em contato apenas com pele íntegra e requerem limpeza ou desinfecção de baixo ou médio nível)^{1,2,4,15,23,27,28}. Os alicates ortodônticos usados na cavidade bucal, são considerados artigos semi-críticos^{4,15}.

Indivíduos que usam aparelho fixo possuem um alto índice de colônias bacterianas retidas nas regiões de bandas ortodônticas, bráquetes, arcos e componentes que o cercam, uma vez que estes acessórios impedem ou dificultam uma limpeza adequada, causando um acúmulo de placa bacteriana, onde há um grande número de microorganismos, entre eles o *S. mutans*⁷.

Kitada et al.²⁹ detectaram bactérias e fungos oportunistas na boca de pacientes ortodônticos e examinaram a capacidade de adesão desses microorganismos, junto com a saliva em superfícies metálicas. A quantidade de bactérias e fungos oportunistas foi significativamente maior em pacientes

ortodônticos, comparado ao grupo de pacientes não-ortodônticos. Destaca-se assim, a importância de uma boa higiene bucal dos pacientes ortodônticos, a fim de prevenir cárie, doença periodontal e o agravamento de doenças sistêmicas pré-existentes.

Testes microbiológicos demonstraram que todos os instrumentos dispostos na bandeja, na mesa auxiliar ou na bancada próxima ao paciente, ficam contaminados após atendimento, mesmo quando não utilizados. Estes instrumentos são contaminados pela deposição de aerossóis constituídos por sangue, saliva, tecidos e fluidos orgânicos, entre outros²³.

Os aerossóis altamente contaminados, gerados quando do acionamento das turbinas de alta rotação, seringas tríplices e aparatos ultra-sônicos, permanecem um problema de difícil solução dentro do consultório²⁹. Estes instrumentos odontológicos geram uma nuvem de material fluido contendo material biológico (sangue, saliva e microorganismos). As partículas variam de tamanho, e em breve se precipitarão contaminando superfícies, pacientes e profissionais, tornando-se uma fonte em potencial de contaminação bacteriana, viral e fúngica. Daí o Centro de Controle e Prevenção de Doenças- *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), destacar a importância da limpeza e desinfecção das superfícies não apenas no final do expediente, mas também entre os atendimentos³⁰.

O estudo de Rautemaa et al.³¹ determinou a quantidade de bactérias que se espalham durante o tratamento odontológico quando eram usados instrumentos rotatórios e aparatos ultra-sônicos (tratamento de dentística restauradora) e quando estes instrumentos rotatórios não eram usados (tratamento periodontal ou ortodôntico). Uma alta densidade bacteriana foi encontrada nos mais remotos pontos de amostragem. Os resultados mostraram contaminação significativa da sala em todas as distâncias estudadas, (em média 970 Unidades Formadoras de Colônias - UFC/mm²/h). Os cocos gram positivos, *Streptococcus viridans* e *Staphylococcus* foram as bactérias mais encontradas. Durante o tratamento ortodôntico, que foi usado como grupo controle, onde não foi usado alta rotação nem aparatos ultra-sônicos, a contaminação da sala por produção de aerossóis foi menos intensa.

O relato da possível transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV) a partir de um dentista para seis pacientes aumentou a preocupação em relação a essa doença, fazendo com que a comunidade odontológica desenvolvesse novas

práticas de controle de infecção, as quais ficaram conhecidas como Medidas de Precauções Universais, que devem ser adotadas na assistência à saúde independente do conhecimento ou suspeita do diagnóstico do paciente, onde todos os pacientes devem ser tratados como se fossem potencialmente infectados^{1,2,6,27,32}.

Para minimizar, prevenir ou reduzir estes riscos é necessário a adoção dessas medidas de precauções-padrão ou básicas na prática diária do atendimento odontológico^{1,6}. No entanto, os especialistas em Ortodontia, ainda apresentam relativa inércia em relação aos procedimentos de organização de materiais, paramentação e métodos de controle de infecção, devido às características clínicas da especialidade²⁵.

Existem várias hipóteses para que os ortodontistas sejam negligentes em relação ao controle de infecção em seus consultórios: os ortodontistas atendem um grande número de pacientes por dia, e o tempo de atendimento é curto; os custos podem aumentar se for feito todo o processo de esterilização; esterilização a vapor pode causar corrosão, ferrugem e diminuição da vida útil dos alicates; por atenderem mais pacientes jovens em seu dia a dia, acreditam que essa população tem menos riscos de transmissão de doenças infecto contagiosas; ortodontistas não realizam muitos procedimentos invasivos, que produzem sangramento⁵.

Dentro do consultório ortodôntico há muitas formas de infecção cruzada, como o manuseio de materiais como elástico em cadeia e elástico em bengala, o uso do lápis para marcação de fios, manipulação de radiografias, modelos de gesso e o ato de anotar no prontuário do paciente sem os devidos cuidados, além da esterilização inadequada dos alicates ortodônticos²⁵.

Uma preocupação em relação ao controle de infecção é a desinfecção do material de moldagem comumente usado nos consultórios odontológicos^{33,34}. Os ortodontistas vêem sangue nas moldagens numa média de 3 vezes por semana. Isto mostra que deve haver uma preocupação em realizar a desinfecção das moldagens realizadas nos consultórios ortodônticos para modelos de estudo e confecção de aparelhos removíveis^{5,34}.

Um estudo através de um questionário comparando os métodos de controle de infecção entre ortodontistas e clínicos gerais da Califórnia, mostrou que em relação à percepção de risco, uso de barreira de proteção e procedimentos de esterilização e desinfecção; os ortodontistas estão muito aquém dos dentistas

clínicos (apenas 49% dos ortodontistas esterilizavam seus alicates enquanto 98% desinfetavam). Eles atribuem essa deficiência a vários fatores, dentre eles, os ortodontistas acreditam que a população de pacientes em seus consultórios são predominantemente jovens, apresentando menos riscos para hepatites e Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA); tratam um número de pacientes 2,5 vezes maior que as outras especialidades diariamente, o que aumenta o custo para o controle de infecção⁵.

Este estudo ainda constatou que a Ortodontia trabalha com pacientes de baixa idade se comparada com outras especialidades. Com esse pensamento, muitos ortodontistas são relapsos no controle de infecção cruzada por tratarem de um grupo de baixo risco de inoculação de várias doenças, além de considerarem a Ortodontia não invasiva. Esse pensamento é um grande erro, porque os pacientes que frequentam a clínica ortodôntica são 21% crianças (1 a 10 anos), 52% adolescentes (11 a 18 anos) e 27% adultos (maiores de 18 anos), ou seja, a maioria é composta por adolescentes e adultos. E os ortodontistas vêem sangue na boca do paciente numa média de umas 10 vezes por semana, constatando-se que a Ortodontia não pode ser considerada não invasiva⁵.

O estudo de McCarthy & MacDonald³² comparou as práticas de controle de infecção dos dentistas clínicos e de especialistas em diversas áreas odontológicas em Ontário- Canadá. Quanto ao uso de equipamentos de proteção individuais (EPIS) no atendimento ao paciente, 85% dos ortodontistas usavam luvas, 38% máscaras e 60,2% óculos de proteção. Mas ao ser perguntado se trocavam as luvas entre pacientes, os ortodontistas eram os que menos executavam esse procedimento. As peças de mão eram esterilizadas por 57% dos ortodontistas e por 95,7% dos cirurgiões orais.

Azeredo et al.²⁰ avaliaram a contaminação bacteriana presente na ponta ativa de alicates ortodônticos após atendimento clínico por acadêmicos de pós-graduação em Ortodontia. Foram utilizados 17 alicates modelo 347 (removedores de anéis) e 17 do modelo 139. As análises microbianas revelaram contaminação em ambos os tipos de alicates. Foram observadas variadas formas bacterianas, predominando estafilococos (inclusive *S. aureus*) e cocos isolados gram positivos. Concluíram que os alicates ortodônticos apresentam-se contaminados, como qualquer outro instrumental odontológico, após serem empregados em atendimentos

clínicos. Em razão disso, há necessidade de submetê-los aos procedimentos de esterilização após o seu uso.

As principais doenças infecto-contagiosas passíveis de transmissão durante o tratamento odontológico são: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, hepatites, tuberculose, herpes, influenza, tétano, rubéola, sarampo, e citomegalovírus^{10,16,35}.

Sem dúvida a hepatite B, é a doença infecto-contagiosa mais estudada na odontologia. Gandini Jr. et al.¹¹ afirmaram que a Ortodontia está em 2º lugar entre as especialidades odontológicas transmissoras do vírus da hepatite B, isto por ser uma especialidade relapsa no controle de infecção cruzada e que o cirurgião-dentista tem de 5 a 10 vezes mais chances de adquirir hepatite B do que a população em geral. Mas após a década de 90 essa taxa vem declinando drasticamente. Isso se deve a alta imunização da equipe odontológica contra o vírus da hepatite B (HBV)³⁵.

2.2. Limpeza

Limpeza é a remoção mecânica de sujeiras, com o objetivo de reduzir a carga microbiana, a matéria orgânica e os contaminantes de natureza inorgânica, de modo a garantir o processo de desinfecção e esterilização e a manutenção da vida útil do artigo. Deve ser realizada em todo artigo exposto ao campo operatório^{1,36}.

Este procedimento deve ser realizado imediatamente após o uso do instrumental ou equipamento. A limpeza é um pré-requisito essencial para garantir uma descontaminação eficaz e pode ser manual ou mecânica³⁶.

A limpeza manual é o procedimento realizado para a remoção de sujeiras, por meio de ação física aplicada sobre a superfície do artigo, usando: escova de cerdas macias, escova de aço para brocas, escova para limpeza de lúmen, pia com cuba profunda específica para este fim e preferencialmente com torneira de jato direcionável, detergente e água corrente^{1,37}.

Limpeza mecânica é o procedimento automatizado para a remoção de sujeiras por meio de lavadoras com jatos de água ou lavadoras com ultra-som de baixa frequência, que operam em diferentes condições de temperatura e tempo³⁷.

Recomenda-se emergir os instrumentos em água destilada depois de ser lavados em água corrente, porque a água da torneira pode causar corrosão, por conter pequenas quantidades de íons alcalinos e metálicos, que podem se depositar

na superfície metálica dos instrumentos e corroe-los. Enxaguando depois com água destilada a superfície dos instrumentos fica com ph neutro e livre de sais e metais, portanto livre de corrosão^{11,38}.

A secagem deve ser criteriosa para evitar que a umidade interfira nos processos e para diminuir a possibilidade de corrosão dos artigos. Pode ser realizada com a utilização de pano limpo e seco, exclusivo para esta finalidade, secadora de ar quente/frio, estufa regulada para este fim e/ou ar comprimido medicinal¹.

2.3. Esterilização

Processo capaz de destruir ou eliminar todas as formas de vida microbiana como bactérias, vírus, inclusive na sua forma vegetativa e esporulada, por meio de processos físicos e químicos^{1,16,36,39}.

Na Odontologia, os processos de esterilização indicados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹ são:

- a) Físicos: utilizando-se o vapor saturado sob pressão (autoclave).
- b) Químicos: utilizando-se soluções de glutaraldeído 2% e de ácido peracético 0,25%.

A Associação Dental Americana- *American Dental Association* (ADA) recomenda os seguintes métodos de esterilização: vapor úmido sob pressão (autoclave), calor seco (estufa), vapor químico (quemiclave) e gás óxido de etileno. Cada um desses métodos destrói todos os microorganismos, incluindo esporos²³.

A esterilização em vapor saturado sob pressão é realizado em autoclave, onde os microorganismos são destruídos pela ação combinada da temperatura, pressão e umidade, que promove a termo coagulação e a desnaturação das proteínas da estrutura genética celular. Atualmente, existem dois tipos de autoclaves mais utilizados no mercado: a gravitacional (mais usada na odontologia) e a pré-vácuo¹. A autoclave é o método de esterilização mais confiável, sendo considerado o método de escolha em saúde. É rápido, apresenta baixo custo, e não é tóxico^{23,36}. A área de esterilização deve ser separada da área de atendimento ao paciente³⁰.

Os padrões de tempo, temperatura e pressão para esterilização em autoclave variam de : 121°C a 127° C, 1 atm pressão por 15 a 30 minutos e 132°C a 134°C, 2 atm pressão por quatro a sete minutos de esterilização^{1,23}.

Para esterilização em autoclave, recomenda-se embalar os instrumentos em papel grau cirúrgico, papel crepado, tecido de algodão cru (campo duplo), vidro e nylon, cassetes ou caixas metálicas perfuradas¹.

A autoclave por utilizar água em seu ciclo, pode ter uma tendência maior a corroer mais os alicates do que os outros métodos de esterilização pelo calor³⁸.

Muitos ortodontistas acreditam que o calor seco (estufa) é o método preferencial para a esterilização de alicates, porque ele protege a delicada superfície de corte desses instrumentos^{21,40}. Entretanto a estufa é um método de esterilização pouco eficaz, cujo princípio é a exposição dos itens ao calor seco, em um forno de ar quente. Mas a estufa já não é considerada um método satisfatório para a esterilização de instrumentos odontológicos^{1,37}.

Mazzocchi et al.⁴¹ realizaram um estudo para testar os alicates ortodônticos de corte distal e o de corte de ligadura, após 500 ciclos de esterilização usando autoclave e estufa. Concluíram que as modificações ocorridas nestes alicates, após os 500 ciclos de esterilização utilizando estes dois métodos, foram insignificantes.

Mazzocchi⁴² afirma que os principais problemas da esterilização de instrumentos são os custos, tempo de esterilização, aumento do trabalho do pessoal auxiliar e danos nos alicates e instrumentos de corte (corrosão e perda de corte). Mas esta esterilização é necessária para evitar qualquer risco de infecção. Embora os ortodontistas não trabalhem constantemente em áreas contaminadas com sangue, fios e arcos ortodônticos, assim como as ligaduras metálicas, podem traumatizar a mucosa dos pacientes causando sangramento. Uma pesquisa recente indicou que os ortodontistas e seus atendentes recebem em média um corte por semana.

Os alicates ortodônticos são mais sujeitos à corrosão do que os outros instrumentais, necessitando de uma atenção especial quanto à secagem. Mulick⁴³ recomenda a secagem das articulações dos alicates com secador a ar; já Payne⁴⁴ e Gandini Jr. et al.¹¹ dizem que deve-se colocar os alicates numa solução alcoólica para remoção de qualquer umidade residual.

A autoclave como mencionado anteriormente, tende a corroer mais os instrumentos de corte do que os outros métodos de esterilização pelo calor. Para que se tente anular esta tendência é importante que se evite colocar estes instrumentos em situações que causem corrosão, seguindo os seguintes procedimentos: não deixar sangue, saliva ou outros contaminantes secarem nos instrumentos; os instrumentos devem ser cuidadosamente limpos e enxaguados com água destilada; secá-los com ar comprimido e toalhas; posicioná-los na posição “aberta” para assegurar esterilização através das articulações; lubrificá-los após a esterilização¹¹.

A corrosão, estrago e eficiência de 72 alicates ortodônticos utilizados rotineiramente por seis meses, foram avaliados por três ortodontistas e autoclavados após cada uso. No geral, todos os alicates obtiveram resultados satisfatórios em relação à combinação com o uso clínico e esterilização em autoclave. Entretanto concluíram que o fator mais importante para a integridade dos alicates, utilizando esse de método de esterilização, é estabelecer uma cuidadosa e meticulosa rotina de limpeza e lubrificação, antes de serem esterilizados⁴⁵.

Alguns fatores podem afetar a vida útil dos alicates como, limpeza adequada antes da esterilização, método de esterilização usado e tipo de material que é feito o alicate. Quando o instrumental é feito de aço inoxidável, mostra mínima deteriorização quando esterilizado em autoclave, mas quando de aço carbono, sofre grande degradação²¹.

Quando o instrumental for fabricado em liga metálica sujeita à corrosão, como o aço carbono, ou apresentar articulações como os alicates, com componentes de ligas metálicas diferentes, há sempre a possibilidade do mesmo sofrer corrosão e apresentar ferrugem e perda de corte, quando o processo de esterilização for realizado em autoclave. Nesses casos, pode-se preveni-la com uma lubrificação com leite mineral hidrossolúvel ou com produtos similares como a solução aquosa de nitrito de sódio a 1%^{1,3,46,47}. Os artigos sujeitos à corrosão deverão, após a limpeza, ser imersos na solução lubrificante pelo tempo recomendado pelo fabricante, secados e embalados para serem esterilizados¹.

O estudo de Vendrell et al.²¹ comparou o desgaste de alicates ortodônticos de corte de ligadura, após múltiplos ciclos com autoclave (45 minutos a 135°C) e estufa (24 minutos a 205°C). Após 6 e 12 ciclos não houve diferença significativa

entre os dois métodos de esterilização, em relação ao desgaste médio na ponta ativa dos alicates.

Um estudo realizado no Reino Unido mostrou que 92% dos ortodontistas realizavam uma limpeza prévia dos seus instrumentais antes da esterilização (47% usavam limpadora ultrasônica); todos os ortodontistas responderam que realizavam a esterilização de seus instrumentais ortodônticos, onde o método mais utilizado era a autoclave a vapor (99%). O uso da estufa já não é considerado um método satisfatório para a esterilização de instrumentais e nenhum ortodontista utiliza isoladamente este método, somente dois ortodontistas estavam usando a combinação autoclave e estufa³⁷.

Devido à alta rotatividade que apresenta o consultório ortodôntico, procura-se cada vez mais, um método de esterilização rápida. Foi feito um trabalho para avaliar a efetividade de um esterilizador de esferas de vidro (Steri ® 350) para esterilizar a ponta ativa de nove alicates ortodônticos contaminados com *Bacillus stearothermophilus* nos tempos de 3, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 segundos a uma temperatura de 255°C. O esterilizador mostrou-se eficaz no controle do crescimento do bacilo nas pontas ativas dos alicates a partir de 10 segundos de exposição¹⁶.

Alguns estudos^{16,48} não consideram o esterilizador com esferas de vidro um método adequado para esterilização em Ortodontia, pois a grande desvantagem deste método seria a não esterilização da área de apreensão dos instrumentos. Além disso, este método não esteriliza também as articulações dos alicates, onde freqüentemente entra algum tipo de fluido, como saliva ou sangue. Isto se deve à espessura do alicate, não havendo tempo suficiente para aquecer adequadamente o interior da articulação. Desde que não seja necessário aquecer todo o instrumento, a esterilização das superfícies ocorre somente com um tempo de 30 segundos a 250°C, nos esterilizadores com esferas de vidro.

A autoclave química (quemiclave) é pouco utilizada no Brasil por ser um sistema caro e necessita ser instalada em local com ótima ventilação, devido ao vapor tóxico liberado pelo formaldeído, que permanece após a esterilização, apesar da filtragem com carvão ativado⁴⁶. Este sistema utiliza uma combinação de formaldeído, álcool, acetona e vapor. O ciclo utilizado é 130°C e 1,4 atm/cm² durante 20 minutos. É um método muito utilizado para a esterilização dos alicates pelos ortodontistas americanos¹⁶.

O óxido de etileno é um biocida de amplo espectro, com alta penetrabilidade, atributo que tem permitido que esse gás seja usado para a esterilização confiável em materiais termosensíveis⁴⁹. A esterilização com gás de óxido de etileno é muito eficaz e funciona em baixa temperatura, permitindo a esterilização dos mais diferentes tipos de materiais incluindo plásticos, borracha e tecidos. Sua alta toxicidade requer um eficiente e elaborado sistema de exaustão, e também pelo seu alto custo, são mais utilizados em hospitais e entidades de ensino^{6,36,40}.

2.4. Desinfecção

A desinfecção é um processo que utiliza substâncias químicas, com a finalidade de eliminar a maioria dos microorganismos de objetos inanimados e superfícies, com exceção de esporos bacterianos^{1,15,26,40}. Na prática, o que se obtém é a diminuição do número de microorganismos em dado local ou material a uma quantidade segura²³.

Spaulding classificou a desinfecção de acordo com o espectro de ação frente a todos os tipos de microorganismos, sendo classificada em baixo, médio e alto nível^{1,15,23,27}.

Desinfecção de alto nível: destrói todos os microorganismos de objetos inanimados e superfícies, exceto um número elevado de esporos bacterianos. É útil para itens semi-críticos. Como exemplo tem-se o glutaraldeído e o ácido peracético^{1,36}.

Desinfecção de médio nível: elimina todas as bactérias vegetativas, micobactérias da tuberculose e a maioria dos vírus e fungos de objetos inanimados e superfícies. São usados nas superfícies do consultório odontológico. São exemplos álcool etílico e isopropílico, iodóforos, compostos fenólicos, hipoclorito de sódio^{1,36}.

Desinfecção de baixo nível: elimina a maioria das bactérias vegetativas, vírus envelopados e fungos de objetos inanimados e superfícies e são úteis para equipamentos não-críticos^{1,36}.

Quando microorganismos aderem à superfície de instrumentais e equipamentos, eles podem ser protegidos por irregularidades ou articulações

existentes nesses instrumentais, dificultando a ação de limpeza e de desinfecção. Isto constitui uma barreira mecânica, que dificulta a ação de um desinfetante^{4,29,48,50}.

O passo inicial para o processo de desinfecção incorre no conhecimento de cada um dos produtos desinfetantes, nos seus principais aspectos como: mecanismo de ação sobre os microrganismos, toxicidade para o manipulador e ação deletéria para o equipamento a ser desinfetado. Assim, a escolha adequada do desinfetante proporciona o sucesso do processo de desinfecção⁵¹.

Os desinfetantes como são compostos químicos, podem ser tóxicos, irritantes ou corrosivos. A escolha de um desinfetante deve levar em conta o material que se pretende desinfetar e a capacidade do desinfetante de eliminar o maior número possível de microrganismos patogênicos⁷.

A eficácia da desinfecção é afetada por alguns fatores como: limpeza prévia, carga orgânica, tipo e nível de contaminação microbiana, tempo de exposição, natureza do objeto, temperatura e ph do desinfetante e resistência biocida⁵².

Todas as superfícies do equipamento odontológico nas quais o pessoal odontológico tocou no atendimento anterior, ou que foram contaminados com os aerossóis devem ser desinfetadas. Na desinfecção de superfície podem ser utilizados: álcool 70% (ou 77° GL), compostos sintéticos do iodo, solução alcoólica de clorexidina (2% a 5% em álcool 70%), compostos fenólicos ou hipoclorito de sódio (0,5%) de acordo com o material da superfície. Preconiza-se a técnica *spray-wipe-spray* ou borrifar-limpar-borrifar²³.

Quanto à desinfecção de instrumentais, esta deve seguir os seguintes passos: a) Imergir o instrumental previamente limpo e seco na solução desinfetante; b) Enxaguar o instrumental com água potável. Recomendam-se múltiplos enxágues para eliminar resíduos do produto utilizado; c) Secar o instrumental; d) Acondicionar o instrumental em embalagem adequada, limpo e desinfetado; e) Guardar em local apropriado; f) Desprezar as soluções esgotadas ou de prazo vencido ou manter os recipientes tampados, se estiverem dentro do prazo de validade³⁹.

Os principais desinfetantes usados no consultório odontológico são compostos quaternários de amônia, compostos fenólicos, compostos a base de iodo, clorexidina, compostos clorados, peróxido de hidrogênio, álcool 70%, glutaraldeído e ácido peracético¹.

2.4.1. Álcool 70%

Os alcoóis etílico e isopropílico são considerados desinfetantes de nível intermediário empregados em superfícies e em instrumentos e também na pele como anti-séptico. O efeito do álcool é a precipitação de ácidos nucleicos, desnaturação das proteínas e a dissolução de gorduras, o que possibilita a ação antimicrobiana, destruindo, por exemplo, a membrana do *Mycobacterium tuberculosis* e do vírus da herpes simples^{12,49}.

Apresenta as seguintes vantagens: é bactericida de ação rápida, irritante leve, baixo custo, incolor, não deixa resíduo, viruscida (somente para vírus lipofílicos). Como desvantagens: não é esporicida; tem atividade diminuída na presença de matéria orgânica, danifica material plástico, borracha ou acrílico; evapora rapidamente, não tendo efeito residual com diminuição da atividade antimicrobiana em sangue seco, saliva e outras matérias orgânicas¹².

A maneira correta de utilizar o álcool é manuseá-lo com EPIS, imergir ou friccionar o este desinfetante na superfície do artigo, deixar secar e repetir três vezes o procedimento, perfazendo um tempo de 10 minutos. O álcool pode ser usado na desinfecção concorrente (entre pacientes) e para a desinfecção de materiais de vidro, superfícies de bancadas, artigos metálicos e na cadeira odontológica²³.

O álcool é um desinfetante que tem atividade antimicrobiana (bactericida) sobre bactérias vegetativas gram positivas, enterobactérias, bacilos gram-negativos não fermentadores de glicose, micobactérias, sobre alguns fungos e vírus lipofílicos, não possuindo atividade sobre esporos bacterianos e vírus hidrofílicos. Sendo usado em instituições de saúde como anti-séptico e desinfetantes na concentração de 70% em peso. Seu mecanismo de ação ainda não é totalmente elucidado, porém a desnaturação das proteínas é a explicação mais aceita. Na ausência da água, as proteínas não são desnaturadas tão rapidamente quanto na presença dela, razão pela qual o álcool absoluto, um agente desidratante, é menos ativo do que soluções aquosas¹⁰.

O álcool 70% é um desinfetante não aprovado pelo CDC e pela Agência de Proteção Ambiental, porque é considerado ineficiente devido a sua propriedade em precipitar proteínas teciduais que, normalmente estão presentes no sangue e na

saliva e devido a sua rápida evaporação, limitando a sua atividade sobre vírus e bactérias com cobertura protéica⁵¹.

Entretanto, na ausência de exsudatos purulentos repletos de proteínas, quando é feita uma limpeza prévia com água e sabão, a utilização do álcool é eficiente contra vírus lipofílicos, é bactericida, fungicida e tuberculicida. Sua característica de solubilizar lipídios acentua sua ação, sendo efetivo sobre envelopes de vírus. É também utilizado como solvente em outros desinfetantes no intuito de lhes conferir melhores propriedades⁵¹.

A efetividade de dois métodos de controle de infecção foi averiguada por Navarro et al.¹⁷ em 90 alicates ortodônticos. Foi feita a desinfecção por fricção com álcool 70% iodado em 29 alicates, 30 alicates foram esterilizados em autoclave por 134°C por 10 minutos e 31 alicates formaram um grupo controle (expostos ao ar por 2 horas após uso clínico). Do grupo controle, 24 alicates estavam contaminados; dos alicates desinfetados com álcool 70% iodado, 7 estavam contaminados e dos que foram autoclavados, nenhum sofreu contaminação. Os autores¹⁷ concluíram que a esterilização de alicates ou qualquer outro instrumental, após sua utilização clínica, deve ser sempre realizada.

Foi pesquisada a intensidade de contaminação pela microbiota bucal, de pontas de seringas tríplices usadas no atendimento a pacientes de Dentística Restauradora. Cinquenta pontas descartáveis foram avaliadas: 10, imediatamente após a abertura da embalagem; 30, após o uso em pacientes; e 10, após o uso e a desinfecção com álcool etílico 70% P/V, friccionado por um minuto. As pontas sem uso, analisadas imediatamente após a abertura da embalagem, não apresentaram desenvolvimento de colônias de bactérias, o que representa zero UFC. Esse resultado mostra que, antes do uso, encontravam-se devidamente esterilizadas. No caso das pontas que, após serem utilizadas em pacientes, sofreram desinfecção com álcool etílico 70% P/V, registrou-se crescimentos variando de 1 a 100 UFC, nas diferentes amostras analisadas. Em todas as 30 pontas analisadas imediatamente após a utilização em pacientes, constatou-se um desenvolvimento maciço e conseqüentemente, incontável UFC bacterianas, revelando intenso grau de contaminação (número de UFC > que 300)²⁹.

Silva e Jorge⁵¹ realizaram um trabalho onde foi analisada a ação de quatro desinfetantes utilizados em Odontologia: álcool etílico 77°GL (70%), composto

fenólico (Duplofen), iodóforo (PVP-I) e solução de álcool etílico a 77°GL com 5% de clorexidina para desinfecção de superfície. Foram analisados a contaminação de quatro pontos em cada equipamento (carter, pia de lavagem de mãos, encosto de cabeça da cadeira e superfície frontal externa do refletor), e a desinfecção utilizando-se a técnica de *spray-wipe-spray*. A maior prevalência de microrganismos nos pontos analisados foi de estreptococos bucais, seguido por *Staphylococcus* coagulase negativos, e leveduras do gênero *Candida*. Observou-se também, porém em menor quantidade, a presença de bacilos gram-negativos. Após processos de desinfecção nas superfícies analisadas, foi observado que todos os desinfetantes testados mostraram redução significativa na maioria dos microrganismos encontrados. O desinfetante mais efetivo foi a solução alcoólica de clorexidina, com ação bastante eficaz na redução de microrganismos, principalmente para bactérias gram-positivas. O álcool etílico a 77°GL foi o menos eficaz dos desinfetantes testados, entretanto mostrando uma redução estatisticamente significativa de microorganismos.

Pontual et al.²⁴ avaliaram a eficácia da desinfecção de filmes radiográficos pelos métodos de imersão em 3 diferentes tempos (30 segundos, 2,5 minutos e 5 minutos) e de fricção com as soluções de hipoclorito de sódio a 1%, 2% e 5%, GTA 2% e de álcool 70%. Na desinfecção por imersão, as soluções de hipoclorito de sódio a 2% e 5% e o álcool 70% apresentaram-se mais eficazes. O método da fricção mostrou-se eficaz para o álcool 70% e para o glutaraldeído 2%, mas mostrou contaminação para o hipoclorito de sódio, exigindo maior cuidado para a sua execução. Os autores²⁴ sugerem a utilização de hipoclorito de sódio a 5% ou álcool 70% em imersão por pelo menos 30 segundos, por serem de baixo custo, rápidos, práticos e eficazes.

Fagundes et al.⁵³ avaliaram a eficiência de algumas substâncias químicas na descontaminação de cones de gutapercha, contaminados com *Enterococcus faecalis*, dentre elas a imersão no álcool 70%, nos tempos de um minuto e cinco minutos. Após um minuto de contato dos cones de gutapercha com o álcool 70% houve crescimento bacteriano. Após cinco minutos de contato, não houve nenhum crescimento bacteriano, promovendo, portanto a desinfecção desses cones.

O trabalho de Pereira²⁷ teve como objetivo identificar a rotina de descontaminação das canetas de alta rotação nas Unidades Básicas de Saúde do

Município de Goiânia e verificar a ação bactericida e fungicida do álcool etílico 70% na descontaminação de 17 canetas de alta rotação (70 amostras). Foi verificado o crescimento de culturas de cocos gram positivos em 29 amostras (41,5%), leveduras em 8 amostras (11,4%) e cocos gram positivos associados a leveduras em 9 (12,8%). Os resultados mostraram que o álcool etílico 70% não foi eficiente para inativar estes microorganismos presentes nas canetas de alta rotação.

O estudo de Bardini¹⁹ avaliou a contaminação existente em alicates ortodônticos após atendimento clínico e a eficácia do processo de lavagem e depois desinfecção com álcool 70%, feito nos mesmos entre os atendimentos. Foi testada também a lavagem e fricção com gaze estéril e somente a fricção com gaze estéril. Os resultados mostraram grande contaminação após os alicates serem usados na cavidade bucal, concluindo que os alicates podem ser uma fonte de contaminação cruzada. O processo de desinfecção com álcool 70% reduziu a quantidade de microorganismos, mas não foi eficaz em garantir uma completa desinfecção.

Neste mesmo trabalho foi constatado que 54,1% dos alunos do Curso de Pós Graduação utilizavam o método químico (álcool e glutaraldeído) para a desinfecção dos alicates. E 66% tinham preferência pelo álcool 70% como método de desinfecção. A taxa de alicates que não foram desinfetados e/ou esterilizados foi de 33%. Houve uma tendência de 89% dos alunos, em utilizar os mesmos alicates em até três pacientes¹⁹.

Venturelli et al.¹² verificaram por meio de análise microbiológica, a contaminação de 4 alicates ortodônticos (139, Weingart, removedor de bandas e corte distal), após atendimento na clínica de Ortodontia e após a lavagem com água e sabão e fricção com álcool 70% por um minuto. Os resultados mostraram que após atendimento clínico todos os alicates apresentaram uma grande contaminação com bactérias. Após a desinfecção com álcool 70%, houve uma diminuição na quantidade de bactérias, mas ainda permaneceu uma grande quantidade e variedades de bactérias residuais.

2.4.2. Glutaraldeído - GTA

O Glutaraldeído é um dialdeído saturado com potente ação biocida, que é utilizado para o processamento de equipamentos médico-odontológico

termossensíveis e que tem eficácia contra uma grande variedade de microorganismos como: bactérias gram positivas e negativas, fungos, vírus, mas é lentamente efetivo contra esporos⁵⁴. Sendo ativo na presença de matéria orgânica e devido a sua baixa tensão superficial, pode difundir-se através do sangue e/ou exsudatos⁵².

Por ser uma substância química volátil, o GTA traz sérios riscos se não for manuseado com EPIS, como luvas dupla de látex ou de nitrila, óculos com proteção lateral, máscaras com filtro e aventais impermeáveis⁵². Usar a solução em recipiente de vidro ou plástico com tampa e não deixar a temperaturas acima de 25°C²³.

Os instrumentais previamente limpos e secos devem ser imersos num recipiente com glutaraldeído e depois tampados por um tempo de 30 minutos para uma adequada desinfecção. Depois enxaguar esses instrumentais com água potável ou destilada (esterilizada), de acordo com o nível crítico do instrumental¹².

Devido à sua toxicidade, o GTA pode provocar manifestações na pele e mucosas como irritações, ulceração, erupções alérgicas, queimaduras; além de outras manifestações como ardor nos olhos, queimação no nariz, podendo causar até choque anafilático. Estas manifestações ocorrem por negligência quanto ao uso dos EPIS^{54,55}.

As vantagens do glutaraldeído são: alta atividade bactericida, virulicida, fungicida e esporicida, com amplo espectro de ação; pouco corrosivo; penetra no sangue, pus e resíduos orgânicos; apresenta vida útil longa; pode ser utilizado em instrumentais de borracha e plástico. Mas apresenta as seguintes desvantagens: não é desinfetante de superfície fixa; é irritante aos tecidos, causando reações alérgicas; descolore alguns metais; e sua ação corrosiva pode aumentar de acordo com a diluição e o tempo de exposição; é inativado pelo amoníaco e aminas primárias¹².

O GTA 2% é o desinfetante de alto nível mais utilizado para a desinfecção de endoscópios flexíveis. Devido à sua toxicidade e a existência de cepas de *Mycobacterium chelonae* resistentes ao glutaraldeído, estão sendo pesquisados desinfetantes de alto nível alternativos para a desinfecção. A concentração desse desinfetante é um dos principais fatores que influencia sua atividade biocida⁵⁶.

Wichelhaus et al.¹⁸ realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a

extensão da contaminação bacteriana em alicates ortodônticos após uso clínico e a eficácia de quatro técnicas de desinfecção aplicadas após o uso dos alicates. Os autores contaminaram os alicates *in vitro* com *S.aureus*, *C.albicans*, *Coxsackie vírus*, *B4*, *Herpes vírus simples 1* e *Adenovírus tipo 5*. A descontaminação foi feita com IsoSeptol (álcool isopropílico); Incidur spray (100 g de solução tem glutaraldeído 0,018g, cloreto de benzalcônio 0,05g, etanol (96%) 4g, 1-propranolol 10g, 5-bromo-5 (1.3) dioxaciclohexano 0,01g); Sekusept Plus 5% (cloridrato de benzalcônio e glutaraldeído a 3%); banho de ultrassom associado à Sekusept Plus 5% e desinfecção térmica. Os resultados demonstraram que a contaminação dos alicates não foi adequadamente eliminada com os métodos de desinfecção utilizados, entretanto o banho de ultrassom associado à Sekusept Plus solução 5% e desinfecção térmica foram efetivos para a desinfecção de todos os microorganismos. Os autores concluíram que os métodos químicos são menos eficazes do que os térmicos e métodos físico-químicos. Foi observado que a desinfecção térmica e banho de ultra-som são claramente superiores à desinfecção com *spray* e desinfecção por fricção apenas, sendo que o banho de ultra-som seguido de desinfecção térmica pode ser recomendado para a desinfecção de alicates.

Almeida⁴ avaliou 4 métodos de desinfecção em alicates ortodônticos, após serem inoculados *in vitro* com 3 bactérias: *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus salivarius* e *S. aureus*. Os métodos avaliados foram: 1- Lavagem com escova, água e sabão; 2- Fricção com algodão embebido em álcool etílico 70%; 3- Fricção com algodão embebido em clorexidina 2%; 4- Imersão em glutaraldeído 2%, durante 30 minutos, sendo em seguida enxaguados com água corrente. Os resultados demonstraram que todos os alicates submetidos ao tratamento com solução de glutaraldeído 2%, foram descontaminados. As soluções à base de álcool 70% e clorexidina 2%, foram estatisticamente iguais em eficiência, descontaminando 8 dos 10 alicates submetidos aos respectivos tratamentos. A lavagem apenas com água, escova e sabão, descontaminou apenas 4 dos 10 alicates.

Em 2006 e 2007 houve um surto de infecção pós operatório causadas por micobactérias de crescimento rápido (MCR) nos hospitais do Rio de Janeiro. Foi realizado um teste para avaliar se o GTA 2% nos tempos de desinfecção (30 e 60 minutos) e de esterilização (6 e 10 horas), destruiriam as cepas de MCR propostas

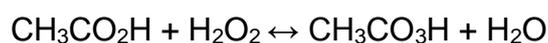
em protocolos oficiais e as cepas de *Mycobacterium massiliense* provenientes do surto de infecção. Todas as cepas usadas em protocolos padrões foram erradicadas a partir de 30 minutos, mas as provenientes do surto de infecção hospitalar, não foram erradicadas nem com a desinfecção de 30 a 60 minutos, nem com esterilização de 6 a 10 horas, indicando alta tolerância destas cepas à solução de GTA 2%⁵⁷.

Em uma pesquisa foi avaliada a concentração mínima inibitória (CMI) do GTA (glutaraldeído de 1,5% à 8%), ortofitaldeído (OPA) à 0,55% e ácido peracético (APA) em 3 soluções comerciais, para a desinfecção de alto nível por um tempo de 15 e 30 minutos. Foi incluído neste estudo a *Mycobacterium massiliense* BRA 100, que é uma bactéria de crescimento rápido resistente a antibióticos comuns. Esta bactéria foi resistente ao GTA até 7% após 30 minutos, mas as soluções de OPA e APA foram eficazes contra esta micobactéria após 15 à 30 minutos de exposição⁵⁸.

O estudo de Orsi et al.⁵² verificou a eficácia anti-microbiana dos desinfetantes químicos hipoclorito de sódio a 1% e 2% e glutaraldeído 2%, por 5, 10 e 15 minutos, em coroas metálicas fundidas de Ni-Cr, contaminadas pelos seguintes microorganismos: *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. mutans*, *E. faecalis* e *C. albicans*. Os resultados revelaram que não houve diferença em relação aos microorganismos de testes, pois os dois desinfetantes impediram o crescimento de todas as cepas microbianas, dentro do período mínimo de 5 minutos.

2.4.3. Ácido Peracético - APA

O APA é um composto quaternário orgânico formado a partir do ácido acético como demonstra a seguinte equação:



O APA é um poderoso oxidante e desinfetante introduzido no Brasil em 1998, que combina a atividade do oxigênio ativo, dentro de uma molécula de ácido acético, pertencendo à classe dos peróxidos orgânicos fabricados sinteticamente^{14,15,52}.

Os produtos de decomposição do APA são: ácido acético, peróxido de hidrogênio, oxigênio e água. Tem sido provado que o APA não produz produtos tóxicos ou subprodutos mutagênicos¹⁴.

Os peróxidos também promovem a instabilidade e combustão. O APA é consideravelmente mais instável do que o peróxido de hidrogênio. Solução de APA a 1% perde metade de sua eficácia através da hidrólise em seis dias. Para manter a estabilidade do APA, este deve ser armazenado de preferência em temperatura fria e em recipientes originais^{13,14}.

Possui um amplo espectro de atividade antimicrobiana, eliminando vírus, bactérias na forma vegetativa e esporulada, fungos e protozoários, realizando desinfecção de alto nível e esterilização dos artigos críticos e semi-críticos^{14,15,52,53}.

Apresenta como principais vantagens: amplo espectro de atividade mesmo em presença de matéria orgânica; eficácia em curto tempo de contato com os artigos; e é biodegradável, não produzindo substâncias tóxicas. Suas desvantagens são apresentar grande instabilidade e alto custo, devido à capacidade de produção limitada em todo o mundo, pela baixa procura¹⁴. Devido a sua biodegradabilidade, os fabricantes geralmente afirmam que desinfetantes à base de APA são minimamente tóxicos e não corrosivo na concentração utilizada para desinfecção e por isto é uma alternativa melhor que o GTA⁵⁹.

Seu tempo de atuação é de dez minutos para a desinfecção e de uma hora para a esterilização, tempo bem menor que o de outras substâncias, entre elas, o glutaraldeído. Sua atividade desinfetante é devido ao oxigênio ativo, promovendo a ruptura das paredes celulares dos microorganismos, além de oxidar enzimas essenciais ao seu desenvolvimento. Ele pode atuar também sobre as bases da molécula de ácido desoxirribonucléico (DNA) e pode inativar a catalase¹⁴.

O APA é bactericida a 0,001%, fungicida a 0,003% e esporicida a 0,3% , de modo que a eficiência do APA contra microorganismos é em ordem crescente: bactérias - fungos - vírus - bactérias esporuladas - cistos de protozoários¹⁴. O APA é esporicida mesmo em baixas concentrações de 0,0001% a 0,2%, demonstra ação fungicida com 5 minutos de imersão em concentração de até 100 ppm sem a presença de matéria orgânica e de 200 a 500 ppm com a presença desta¹⁵.

Kunigk et al.¹³ comprovaram em seu estudo que a concentração de ácido peracético diminui com o tempo, e que aumentando a temperatura, essa

decomposição ocorre mais rapidamente, concluindo que, a temperatura tem um papel importante na vida útil de soluções de ácido peracético.

O APA é afetado pelo pH. Ele apresenta maior efetividade em pH mais baixo. Para as bactérias de uma forma geral, a diferença de eficiência para a desinfecção é pequena num pH de 5 a 8, mas há uma diminuição dessa eficiência num pH de 9¹⁴.

O APA não afeta vidro, plástico, alumínio puro, aço inoxidável e ferro galvanizado; mas aço simples, latão, cobre, bronze são susceptíveis a reação de corrosão pelo APA¹⁴.

As principais aplicações do ácido peracético são na desinfecção de águas residuais, na desinfecção em indústrias médicas-odontológicas e farmacêuticas, nas indústrias de alimentos e bebidas, têxtil e de papel e celulose¹⁴.

Lynam et al.⁶⁰ compararam a atividade micobactericida do glutaraldeído alcalino 2% com Nu-Cidex (APA 0,35%), usando um teste de suspensão na ausência de carga orgânica, na desinfecção de endoscópios flexíveis. Neste estudo o APA 0,35% foi eficaz na eliminação de todos os tipos de microorganismos avaliados (*M. chelonae*, *M. tuberculosis*, *M. avium-intracellulare* e *M. kansasii*) num tempo abaixo de 5 minutos. Já o GTA alcalino 2% foi ineficaz contra o *M. chelonae*, eficaz contra a *M. kansasii* somente num tempo de 10 minutos; contra a *M. tuberculosis* num tempo de 20 minutos e contra o *M. avium-intracellulare* no tempo de 60 minutos. Sugerindo cada vez mais, um aumento da resistência dessas bactérias ao GTA 2%.

As linhas de água das unidades dentais são altamente contaminadas durante a rotina clínica de um consultório odontológico. O ácido peracético tem uma atividade biocida rápida e amplo espectro, o que pode ser útil no controle dessa contaminação. Foi realizado um estudo para avaliar a eficácia dos procedimentos de desinfecção entre pacientes para manter baixa contagem bacteriana em efluentes de linha água de unidades dentais e controle do biofilme. Foi utilizado o APA 0,26% para desinfetar as linhas de água dos equipamentos dentais antes do tratamento de cada paciente. O uso desse desinfetante foi eficaz no controle da contaminação microbiana e no crescimento do biofilme dessas unidades dentais⁶¹.

A eficácia anti-microbiológica de um desinfetante a base do APA 0,2% por 5 e 10 minutos foi testada em placas de resinas acrílicas termicamente ativada, quimicamente ativada e polimerizada em forno microondas, contaminada *in vivo*

(com saliva humana) e *in vitro* (com *Bacillus subtilis* e *Bacillus stearothermophilus*). O estudo concluiu que a imersão em APA por pelo menos 5 minutos, foi eficaz promovendo não só uma desinfecção, mas também uma esterilização das resinas contaminadas, porque eliminou completamente os microorganismos esporulados⁵⁵.

Foi avaliada a eficácia do APA 0,2% no tempo de 10 minutos, na desinfecção de quatro instrumentos contaminados pela microbiota oral. O APA nesta concentração e tempo de uso; foi eficaz na redução das bactérias gram-negativas e gram-positivas, reduzindo-as de 1290 UFC/mL (grupo controle, sem tratamento) para 3 a 4 UFC/mL (grupos tratados com APA). Em relação aos fungos, observou-se uma redução pouco significativa após o tratamento com APA, pois a carga inicial foi muito pequena¹⁵.

Marques et al.⁶² verificaram a capacidade do *S. aureus* formar biofilme na superfície de aço inoxidável e vidro e avaliaram a eficiência de três desinfetantes (100mg/L de dicloroisocianurato de sódio, peróxido de hidrogênio 0,5% e APA 0,3%) na inativação de células de *S. aureus* aderidas ao vidro e ao aço inox, depois de serem tratadas com estes desinfetantes, por 30 segundos em temperatura ambiente. Os resultados indicaram a formação do biofilme em ambas as superfícies. Entre os sanificantes, o APA apresentou uma maior eficiência na remoção das células aderidas, embora não fosse eficiente para remover completamente as células de *S. aureus* do vidro e do aço inox.

Foi verificada a eficácia do APA (nas concentrações de 800 ppm, 1500 ppm e 2500 ppm) na esterilização química de materiais odontológicos contaminados após atendimento clínico e a corrosão que este ácido provocava nestes instrumentos. A solução de APA em 2500 ppm em contato com as superfícies de instrumentos dentários por 20 minutos, mostraram ser eficazes na esterilização desses instrumentos para vários microorganismos, dentre eles o *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Staphylococcus* e *C.albicans*, sem causar corrosão nos instrumentos⁶³.

O APA a 0,5% também foi testado para verificar se dissolvia a camada de *smear layer* e foi comparado com o Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% e APA a 2,25% (concentração cáustica para o homem). Após 60 segundos de contato, ele dissolveu a camada de *smear layer* durante a instrumentação do canal, confirmando que ele pode desinfetar o canal radicular⁶⁴.

2.5. Microorganismos

Os microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e a *Candida albicans* geralmente são utilizados para controlar o monitoramento da ação de desinfetantes em meio de cultura específico⁵².

2.5.1. *Streptococcus mutans* - *S. mutans*

Os *Streptococcus* constituem a principal população de microorganismos da cavidade bucal, com muitas espécies distintas associadas a diferentes nichos ecológicos da boca, sendo o *S. mutans* uma das mais importantes²⁷.

Biofilme é uma camada microbiana densa formada por microorganismos e seus metabólitos. Os *Streptococcus* do grupo *mutans* são bactérias de grande importância na formação desse biofilme. Esses microorganismos produzem polissacarídeos na metabolização do açúcar, que favorecem sua adesão e de leveduras na mucosa oral e na superfície de placas de acrílico (próteses e aparelhos removíveis). A remoção adequada desse biofilme diminui a proliferação dessas bactérias, que podem também causar halitose e pigmentação da resina acrílica e o desenvolvimento de candidíase atrófica crônica⁶⁵.

Os aparelhos ortodônticos removíveis utilizados pelos pacientes tornam-se colonizados por microorganismos após certo tempo na boca, especialmente porque apresentam porosidades em seu exterior, criando condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias. Estes microorganismos se organizam em biofilmes, que são compostos por várias espécies de bactérias, dentre elas destacamos o *S. mutans*, considerado o microorganismo com mais alto potencial cariogênico⁶⁶.

Alicates que entram em contato com a cavidade bucal (superfície dentária, gengiva e mucosas) onde com frequência há acúmulo de placa bacteriana, podem contaminar-se com *S. mutans*, bactéria que faz parte da microbiota bucal e que é considerada expressivamente a maior causadora da cárie dentária, tendo sido estabelecido uma correlação entre cárie ativa e uma alta concentração desse microorganismo na saliva^{20,65}.

2.5.2. *Staphylococcus aureus* - *S. aureus*

O gênero *Staphylococcus* é composto por mais de quinze espécies diferentes, destacando-se, *Staphylococcus epidermidis*, o *Staphylococcus saprophyticus* e o *S. aureus* como as de maior importância na área de saúde. Esses microorganismos, responsáveis por infecções em ambientes hospitalar, estão entre as bactérias patogênicas humanas mais resistentes, podendo sobreviver durante meses em superfícies secas, a temperaturas superiores a 60°C²⁰.

Esses patógenos são muito importantes, devido ao seu potencial de ser transmitidos de paciente para paciente, especialmente quando adequados procedimentos de desinfecção não são praticados e uma política de controle de infecção não é conduta de rotina⁵².

O *S. aureus* são utilizados como indicador da presença humana, pelo fato de os mesmos colonizarem toda a superfície dos seres humanos⁵¹. Eles são colonizadores da pele e da nasofaringe, e podem ser isolados em quadros de faringite, amigdalite, sinusite, osteomielite da face e abscesso dentário⁴.

O *S. aureus* pode ser encontrado em alicates ortodônticos de cunho laboratorial como o 139, que não são levados á boca, mas que têm maior contato com a epiderme do profissional, pois essas espécies de bactérias colonizam a superfície da pele humana e membranas mucosas da cavidade nasal²⁰.

2.5.3. *Candida albicans* - *C. albicans*

A presença de leveduras do gênero *Candida* na cavidade bucal, fazendo parte da microbiota comensal dessa região, tem sido extensivamente comprovada por pesquisadores que reportam sua presença em indivíduos normais em torno de 20% a 50%, sendo a *C. albicans* a espécie mais comum do gênero⁵¹.

Os microorganismos do gênero *Candida* são em geral comensais, mas em determinados indivíduos e em situações específicas podem aumentar a predisposição a infecções fúngicas²⁷.

Esta levedura pertence a biota normal humana, mas por ser um fungo oportunista, pode ser com freqüência isolado em lesões bucais como as neoplasias, tendo sido relatado que estas infecções ocorrem secundariamente a alterações

iniciais do epitélio. Certas cepas de *C.albicans* mostraram produzir nitrosaminas, elementos químicos, que foram implicados com a carcinogênese⁶⁷.

Foi demonstrada a estreita relação entre *C. albicans* e a placa dentária. Esta levedura na cavidade bucal possui a capacidade de colonizar biofilme dentário semelhante ao *Streptococcus* do grupo *mutans*. Este fungo pode interagir com outros microorganismos da boca, prolongando a viabilidade de *Staphylococcus* e *Streptococcus*²⁷.

Proposição

3. Proposição

A proposta deste trabalho foi comparar as substâncias químicas álcool 70%, glutaraldeído 2% e ácido peracético 0,25%, quanto à eficácia, na desinfecção de alicates, contaminados com os microorganismos *S. mutans*, *S. aureus* e *C. albicans*.

Material e Métodos

4. Material e métodos

Esta pesquisa não foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa, por tratar-se exclusivamente de pesquisa laboratorial *in vitro*, sem envolvimento de animais ou de seres humanos.

4.1. Material

Para a realização desse estudo foram utilizados os seguintes materiais:

- a) 11 alicates de corte distal (Orthometric, Marília- SP- Brasil).
- b) Microorganismos: *S. aureus* (American Type Culture Collection - ATCC - 25923), *S. mutans* (ATCC 25175) e *C.albicans* (ATCC 10231).
- c) Desinfetantes: Álcool 70% (Quality - Vic Plasma Indústria e Comércio LTDA- Taguatinga- SP- Brasil), GTA 2% (Glutaron- Indústria Farmacêutica Rioquímica LTDA- São José do Rio Preto- SP- Brasil) e APA 0,25% (Proxitane ® Alfa- Peróxido do Brasil, Curitiba, PR- Brasil).
- d) Meios de culturas: Ágar manitol salgado (*Difco Laboratories - Sparks - Mariland- EUA*) para o *S. aureus*; Ágar *mitis salivarius* (*Difco - Laboratories – Sparks – Mariland – EUA*) com sacarose e bacitracina para *S. mutans*; Ágar-sabouraud dextrose (*Difco Laboratories – Detroit- EUA*) com cloranfenicol para *C. albicans*; Ágar sangue (*Acumédia, Baltimore- Maryland – EUA*); Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) com extrato de leveduras e Caldo BHI *Broth* (*Acumédi- Baltimore-Maryland – EUA*).
- e) Equipamentos permanentes do laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Piauí: autoclave vertical (Eletrolab- São Paulo- SP- Brasil), contador de colônias (Quimis- Diadema- SP- Brasil), câmara de fluxo laminar (Labconco Corporation- Kansas City- Missouri- EUA), estufa de secagem (Fanem- São Paulo- SP- Brasil), estufas bacteriológica (Fabbe-Primar- São Paulo- SP- Brasil e Alemmar Comercial e Industrial S. A.- São Paulo- SP- Brasil), balança eletrônica (Shimadzu do Brasil Com. LTDA - São Paulo- SP- Brasil), bico de bunsen, tubos de ensaio, pipetas automáticas e ponteira estéreis, copos

de Becker graduados, lâminas de vidro para microscopia, cronômetro e jarras de microaerofília.

- f) Outros materiais: bacitracina (Inlab- São Paulo- SP- Brasil), cloranfenicol (Inlab - São Paulo- SP - BR), sacarose (Impex- São Paulo- SP- Brasil), levedura a 0,5%, material para a coloração de gram (cristal violeta, lugol, álcool-acetona e fucsina), *swab* estéril (Cral Artigos para Laboratório – Cotia- SP- Brasil), placas de Petri estéreis descartáveis- 90mmx15mm (Cralplast- São Paulo- SP- BR), alças de Drigalski descartáveis, alça de platina, papel grau cirúrgico, fita adesiva para autoclave, algodão estéril, gaze estéril, água destilada estéril, sabão líquido (Pronto- Bombril- São Bernardo do Campo- SP- Brasil) e escova para limpeza.

4.2. Métodos

Esta pesquisa foi realizada de março a junho de 2012 e foi dividida em 3 fases, onde em cada uma delas testou-se um microorganismo com os três desinfetantes. A primeira etapa foi realizada com o *S. mutans*, a segunda com o *S. aureus* e a terceira com a *C. albicans*. Totalizando ao final 9 etapas (3 microorganismos x 3 desinfetantes).

O desenho experimental usado nesse estudo foi o *cross-over* com *wash-out*, onde os alicates usados nos grupos experimentais foram os mesmos, e foram utilizados em diferentes momentos, separados por um interstício de tempo (*wash-out*). Antes de iniciar a pesquisa, foi realizado um estudo piloto para testar o experimento, aprimorar a metodologia e treinar a pesquisadora.

Os microorganismos usados para a contaminação dos alicates foram *S. aureus*, *S. mutans* e *C.albicans*. Foram utilizados três desinfetantes: álcool 70%, GTA 2% e APA 0,25%, testados em seus devidos protocolos (figura 1).



Figura 1 - Desinfetantes usados na pesquisa: álcool 70%, Ácido Peracético e Glutaraldeído

Uma amostra de 11 alicates de corte distal de aço inoxidável, do mesmo modelo, da mesma marca comercial e pertencente ao mesmo lote (SY 1DD701), foi dividida em três grupos experimentais, que receberam tratamentos diferentes, e dois Controles, sendo um Positivo e um Negativo. Para efeito didático e para melhor entendimento estes foram classificados em Grupos (Quadro 1).

Quadro 1- Grupos Experimentais (1, 2 e 3), Controle Positivo e Controle Negativo analisados na pesquisa

GRUPOS (n =87)	TRATAMENTO DOS ALICATES
GRUPO 1 (n= 24) Álcool 70%	Fricção em três etapas, intercaladas pelo tempo de secagem natural, totalizando 10 minutos
GRUPO 2 (n= 24) Glutaraldeído 2% (GTA)	Imersão por 30 minutos
GRUPO 3 (n= 24) Ácido Peracético 0,25% (APA)	Imersão por 10 minutos
GRUPO 4 (n= 9) Controle Positivo	Contaminados e sem tratamento de desinfecção
GRUPO 5 (n= 6) Controle Negativo	Sem contaminação e esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121°C e 1 atm de pressão

Os alicates foram empacotados em papel grau cirúrgico, esterilizados em autoclave vertical, durante 15 minutos a 121°C e 1 atm de pressão. Após a autoclavagem dos alicates, eles foram colocados em estufa de secagem a uma temperatura de 50°C por 10 minutos (figura 2).



Figura 2 - Alicates empacotados em papel grau cirúrgico e esterilizados em autoclave para o início do experimento

À cada fase do experimento, depois de esterilizados os 11 alicates, dois foram escolhidos aleatoriamente como grupo controle negativo (CN), os quais foram imediatamente submetidos à avaliação microbiológica, pois não foram contaminados e não passarão por nenhum tratamento de desinfecção. Foram utilizados 4 meios de cultura distintos para testar a contaminação desses alicates: 1- Ágar manitol salgado (*S. aureus*); 2- Ágar *mitis salivarius* com 15% de sacarose e 3,3mg/ml bacitracina (*S. mutans*); 3- Ágar-sabouraud dextrose com 50mg/ml cloranfenicol (*C. albicans*) e 4- Ágar sangue (para a detecção de outras bactérias).

Os nove alicates restantes foram usados nos grupos experimentais 1, 2 e 3 e no grupo controle positivo (CP), onde foram contaminados *in vitro* com os microrganismos de teste.

4.2.1. Semeadura dos microorganismos

Foi realizado o semeio de 0.1ml do caldo com os microorganismos já ativados, em placas de Petri descartáveis contendo o meio específico para cada microorganismo. Estes foram cultivados nos meios Ágar *Mitis Salivarius* com 15% de Sacarose e 3.3 mg/ml de bacitracina (*S. mutans*), Ágar Manitol Salgado (*S. aureus*) e Ágar Sabouraud Dextrose com 50 mg de cloranfenicol (*C. albicans*), para a obtenção de culturas puras, adquiridas de cepas padrões ATCC, previamente identificadas através de testes de identificação (análise microbiológica e testes bioquímicos).

Para o *S. mutans*, foram realizados esfregaços corados pelo método de Gram e posteriormente, identificação utilizando-se os testes de fermentação de manitol, hidrólise da arginina, teste da catalase, Voges-Proskauer (VP), antibiograma (resistência a bacitracina) e semeadura em Ágar mitis salivarius com sacarose e bacitracina^{51,65}.

Para o *S. aureus*, foram realizados esfregaços corados pelo método de Gram e realizados a produção de catalase, produção de coagulase, semeadura em Ágar manitol salgado, onde a presença dessa bactéria causa mudança de coloração do Ágar²³.

Para caracterização das amostras de *C. albicans*, que cresceram em Ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol, foram realizadas as provas: formação de tubo germinativo e a coloração de Gram⁵¹.

4.2.2. Incubação inicial das placas de Petri

As placas de Petri foram levadas à estufa incubadora bacteriológica por 48 horas para o crescimento desses microorganismos.

4.2.3. Preparação do inóculo

Após o período de incubação dos microorganismos, foram retiradas com uma alça de platina uma colônia isolada dos microorganismos e inoculados em 3 Beckers de 1000 ml distintos contendo 300 ml de caldo BHI (37g do ágar para 1000ml de água *destilada*) e incubados a 37°C por 24 horas (*S. aureus*) e por 48 horas (*S. mutans* e *C. albicans*). O meio BHI utilizado para imersão dos alicates é um

meio líquido para enriquecimento e proliferação de células microbianas, com o objetivo de aumentar o número de microorganismos presentes nas amostras²⁰.

4.2.4. Contaminação dos alicates

A contaminação dos 9 alicates foi realizada através da total imersão das suas pontas ativas por 5 minutos no caldo BHI preparado com o *S. aureus* e com a *C. albicans*. Em seguida esperou-se a secagem espontânea dessa solução sobre a superfície de cada alicate, formando-se assim uma fina camada de biofilme⁵².

Para a contaminação do *S. mutans*, os nove alicates foram colocados no caldo BHI com esta bactéria, e suas pontas ativas ficaram imersas neste caldo, que foi encubado na estufa em microaerofilia, na jarra com vela por 48 horas, para que este microorganismo pudesse aderir aos alicates. Isto foi feito pela dificuldade de adesão dessa bactéria aos alicates estéreis, comprovado pelo estudo piloto (figura 3).



Figura 3 - Caldo BHI com microorganismos, contaminando a ponta ativa dos 9 alicates

4.2.5. Aplicação do swab sobre os alicates

Um *swab* estéril, umedecido em solução salina estéril, foi esfregado durante 30 segundos sobre a superfície da ponta ativa de um dos alicates contaminados (Alicate Controle Positivo), escolhido aleatoriamente, para a coleta dos microrganismos e para testar sua contaminação¹². Imediatamente após a fricção do *swab*, esse foi introduzido em um tubo de ensaio contendo 2 ml de solução salina a 0,9% e agitado por 30 segundos. À partir dessa suspensão (solução não diluída-SND), foram preparadas 3 diluições em solução salina a 0,9% (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), para facilitar a posterior contagem de UFC. A diluição 10^{-1} é a diluição inicial, a diluição 10^{-2} foi feita pipetando-se 0,1ml da diluição inicial para 0,9ml da solução salina e a diluição 10^{-3} foi preparada pipetando-se 0,1 ml da solução 10^{-2} para 0,9 ml da solução salina. Entre cada diluição as amostras foram homogeneizadas por 30 segundos^{4,15,68}.



Figura 4 - *Swab* estéril umedecido em solução salina estéril, esfregado durante 30 segundos sobre a superfície da ponta ativa de um dos alicates contaminados (Controle Positivo).

4.2.6. Semeadura da SND e das três diluições

A partir dos tubos contendo a solução inicial não diluída (SND) e as 3 diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), foi feita a semeadura de cada microorganismo. Esta foi realizada transferindo-se 0,1ml de cada solução, para a superfície de 4 (quatro)

placas de Petri (em duplicata), para o seu meio de cultura específico, a fim de se realizar a cultura dos microorganismos. Obteve-se então, 2 placas com a SND, 2 com a diluição 10^{-1} , 2 com a diluição 10^{-2} e 2 placas com a diluição 10^{-3} ⁴.

4.2.7. Incubação das placas de Petri

As placas com *S. aureus* e *C.albicans* foram incubadas em condições de aerobiose, a 37°C por 48 horas¹⁵. E as placas com *S. mutans* foram incubadas em microaerofilia, pelo método da jarra com vela, a temperatura de 37°C por 48 horas.

4.2.8. Contagem de UFC

Após o período de incubação foi feita a contagem de UFC nas placas, com o auxílio de um contador de colônias com lupa. Para uma maior precisão de análise, foram selecionadas para a leitura, as placas em duplicata contendo entre 10 a 300 colônias de acordo com a técnica microbiótica usada por Lula et al.⁶⁸. Os resultados encontrados referentes ao número de colônias foram expressos em UFC/ ml (figura 5).



Figura 5 - Contador de colônias com lupa (Quimis, Diadema- SP- Brasil)

Da contagem das duas placas de cada diluição, calculou-se a média individual de UFC/ml, desde que não houvesse disparidade numérica significativas

entre as duplicatas. Foram eliminadas as contagens, da mesma diluição e meio, que apresentaram grande discrepância na quantidade de colônias. Assim, foram mantidas apenas aquelas cujos escores de ambas as contagens mostravam-se em equivalência, garantindo a confiabilidade dos resultados. A partir das médias individuais de UFC/ml de cada diluição, efetuou-se o cálculo para cada meio de cultura²⁰.

4.2.9. Tratamento dos alicates

Os outros 8 alicates receberam o tratamento de desinfecção de acordo com cada grupo experimental da tabela 1. Depois de tratado, cada alicate foi colocado em um béquer estéril com capacidade para 400 ml. Em seguida foram feitas coletas de suas pontas ativas através de *swab* umedecido em solução salina e posterior avaliação microbiológica, conforme foi descrito anteriormente para o alicate contaminado e sem tratamento (Controle Positivo - CP). Todo o tratamento dos alicates contaminados foi feito por dois operadores devidamente calibrados. O primeiro fazia a lavagem com água e sabão líquido e o segundo realizava a secagem com gaze estéril e o tratamento com o desinfetante.

Os nove alicates de corte distal utilizados nos 3 grupos experimentais e no grupo controle positivo foram os mesmos. Após serem tratados com um desinfetante e realizada a avaliação microbiológica (contagem de UFC), todos os alicates passaram pelos mesmos processos de lavagem, esterilização, contaminação e foram utilizados nos grupos seguintes.

Fazendo o detalhamento do tratamento de desinfecção dos 3 grupos experimentais tivemos:

Grupo 1 - Dos nove alicates contaminados desse grupo, um foi submetido a coleta imediata dos microorganismos (alicate controle positivo - CP), através de *swab* e na semeadura para contagem de microrganismos.

Depois os oito alicates desse grupo foram lavados com água corrente, sabão líquido e escova, secados com gaze estéril e friccionados por 1 minuto com gaze estéril embebida com álcool 70%. Esperou-se secagem espontânea e repetiu-se este processo por mais duas vezes, perfazendo 10 minutos¹. Foram realizadas coletas da ponta ativa dos oito alicates tratados, com um *swab* como descrito

anteriormente e então foram submetidos a testes bacteriológicos para a contagem de microorganismos (UFC) (figuras 6 e 7).



Figura 6 - Lavagem do alicate com escova, água corrente e sabão líquido

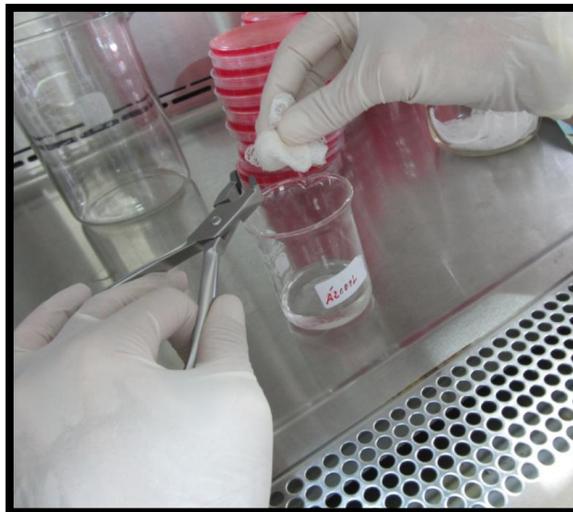


Figura 7 - Fricção do alicate com álcool 70%. Este procedimento foi repetido 3 vezes após secagem espontânea

Grupo 2 - Dos nove alicates contaminados desse grupo, um foi submetido a coleta imediata dos microorganismos (alicate controle positivo - CP), através de *swab* e na semeadura para contagem de microorganismos.

Depois os 8 alicates desse grupo foram lavados com água corrente, sabão líquido e escova, secados com gaze estéril e imersos por 30 minutos em um recipiente contendo GTA 2% e tampados, conforme especificação do fabricante. Em seguida, os oito alicates foram enxaguados, com água destilada estéril e secados com gaze estéril. Foram realizadas coletas da ponta ativa dos oito alicates tratados, com um *swab* como descrito anteriormente e então foram submetidos a testes bacteriológicos para a contagem de microorganismos (UFC) (figura 8).



Figura 8 - Tratamento com GTA 2% por imersão (30 minutos)

Grupo 3 - Dos nove alicates contaminados desse grupo, um foi submetido a coleta imediata dos microorganismos (alicate controle positivo - CP), através de *swab* e na semeadura para contagem de microorganismos.

Depois os oito alicates desse grupo foram lavados com água corrente, sabão líquido e escova, secados com gaze estéril e imersos por 10 minutos em um recipiente contendo APA 0,25% e depois tampados, conforme especificação do fabricante. Após este período, os oito alicates foram enxaguados com água destilada estéril e secados com gaze estéril. Foram realizadas coletas da ponta ativa dos oito alicates tratados, com um *swab* como descrito anteriormente e então foram submetidos a testes bacteriológicos para a contagem de microorganismos (UFC) (figura 9).



Figura 9 - Tratamento com APA 0,25% por imersão (10 minutos)

A coleta de dados foi feita por dois examinadores, que não sabiam de quais grupos estavam coletando os dados (estudo cego). A variável de resposta desse estudo (variável dependente) foi o número de UFC/ml.

4.2.10 Análise estatística

Após a aplicação do teste de normalidade de Shapiro Wilk, observou-se que não houve uma distribuição normal dos dados ($p < 0,01$). Então a variável numérica UFC/ml foi transformada logaritmicamente para que os dados pudessem ter uma distribuição normal. A contagem de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml) foram transformadas em logaritmo decimal (\log_{10}).

Na menor diluição (SND), o limite mínimo de detecção do método, foi 10 UFC ($10 \times 10 = 100$). Então foi feita a transformação logarítima dos valores de UFC/ml encontrados. O logaritmo decimal de 100 é 2,0. Quando o número de colônias foi menor que o limite inferior de detecção (10 UFC = 2,0), considerou-se descontaminado. (Assim, quando a média de \log_{10} UFC/ml $< 2,0$ (\log_{10} de 100) = alicate descontaminado).

Posteriormente foi feita a Análise de Variância de dois fatores (ANOVA) (microorganismos e grupos de tratamento) com interação entre eles. Em seguida aplicou-se o teste *pos-hoc* de *Tukey*, para a comparação múltipla entre os grupos. O

nível de significância considerado foi de 5%, ou seja, considerou-se como estatisticamente significativa um valor de $p < 0,05$, o que dá um coeficiente de confiança de 95%. Os dados foram avaliados pelo programa SPSS for Windows 17.0 (IBM Corporation, New York - New York- USA, 2007).

Resultados

5. Resultados

Após os tratamentos de desinfecção dos alicates ortodônticos, foi possível chegar aos resultados apresentados a seguir, de forma descritiva em gráfico e tabelas.

Quando se comparou os três microorganismos de teste entre si, após cada fase do experimento, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes ($p = 0,330$), de acordo com a tabela 1.

Tabela 1 - Análise do Log_{10} (UFC/ml) pela ANOVA com dois fatores

FV	SQ	GL	QM	F	P
Microorganismos	0,548	2	0,274	1,13	0,330
3 Grupos experimentais	0,88	2	0,441	1591,5	0,212
3 Microorganismos x 3 Grupos Experimentais de Tratamento	1,76	4	0,441	1,591	.0,188
5 Grupos de Tratamentos	147,61	4	36,803	151,5	0,000
Erro	17,532	72	0,243		

Fonte de Variação (FV), Soma de Quadrado (SQ), Graus de Liberdade (GL), Quadrado Médio (QM), Valor do teste ANOVA (F), Significância do Teste ANOVA (P).

A comparação dos 3 grupos experimentais de tratamento entre si e comparando a interação entre os 3 grupos experimentais de tratamento e os 3 microorganismos, também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes, com $p = 0,212$ e $p = 0,188$ respectivamente (tabela 1).

Entretanto ao comparar-se os 5 grupos de tratamento: (1- Álcool; 2- GTA; 3- APA; 4- Controle Positivo e 5- Controle Negativo), foi encontrada diferença estatisticamente significativa, ($p = 0,000$ ou seja $p < 0,05$), como mostra a tabela 1.

Foi realizado o ANOVA e o teste de Tukey para os três microorganismos, comparando-os, nos 5 grupos de tratamento (Tabela 2).

Tabela 2- ANOVA e Tukey – Média do Log UFC/ml para os 3 microorganismos nos 5 grupos de tratamento

Grupos de Tratamento	n	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
1- Álcool 70%	8	1,99 b	2,70 b	1,99 b
2- GTA a 2%	8	1,99 b	1,99 b	1,99 b
3-APA 0,25%	8	1,99 b	1,99 b	1,99 b
4- Controle Positivo	3	6,47 a	6,47 a	6,04 a
5- Controle Negativo	2	1,99 b	1,99 b	1,99 b
ANOVA - Valor de p		0,0000	0,0000	0,0000

^{a,b} Significa $p < 0,05$

(média < 2,0 (log₁₀ de 100) = alicate descontaminado)

A tabela 2 mostra que houve diferença estatisticamente significativa, quando comparou-se os 5 grupos de tratamento ($p = 0,000$), ao analisar os 3 microorganismos separadamente.

Como pode ser observado em todos os três microorganismos, foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos, onde o Controle Positivo diferiu significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos, os quais não diferiram entre si.

Quando se fez a comparação múltipla entre os 5 grupos, para os microorganismos *S. mutans* e *C. albicans* (tabela 2), observou-se que os grupos 1, 2, 3 e 5 (CN) tiveram médias de 1,99 portanto, menor que 2, significando que os microorganismos desses grupos, foram eliminados após os seus respectivos tratamentos, indicando descontaminação de todos os alicates desses grupos. (Figura 12, 13 e 14). No entanto para o grupo 4 (CP), as médias de log UFCq/ml foram de 6,04 para *C. albicans* e 6,47 para o *S. mutans*, bem mais elevadas que as médias de todos os outros grupos de tratamento, indicando uma grande contaminação dos alicates desse grupo (Figura 10).

Quando se fez a comparação múltipla entre os 5 grupos para o *S. aureus*, (tabela 2) observou-se que os grupos 2, 3 e 5 tiveram medias iguais a 1,99 portanto, menor que 2,0, indicando descontaminação dos alicates desses grupos (Figura 12 , 13 e 14). O grupo 4 (CP) apresentou uma grande contaminação com média de 6,47 (Figura 10).

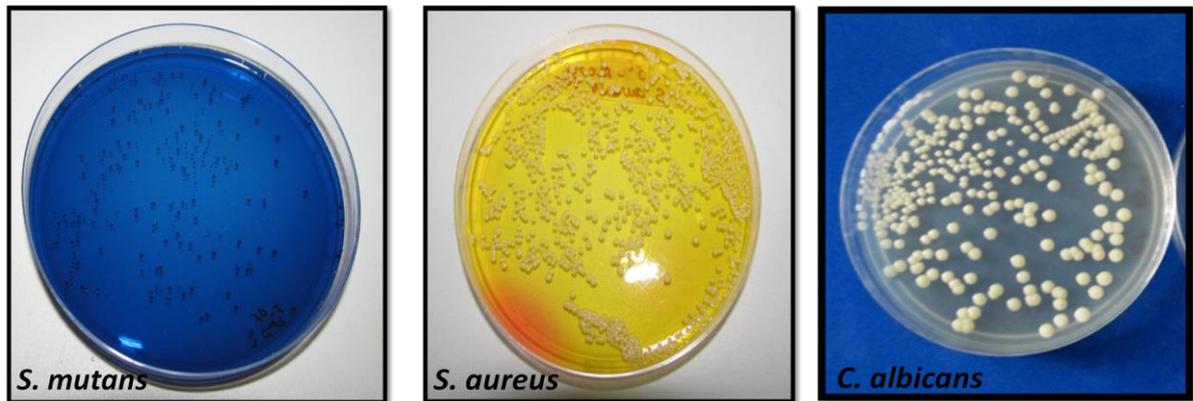


Figura 10 - Placas exemplificando grande contaminação, com colônias de microorganismos dos alicates CP, nos 3 meios de culturas.

Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa entre o Grupo 1 (Álcool) e os grupos 2, 3 e 5, a média de Log UFC/ml desse grupo foi de 2,70 portanto, maior que as médias do GTA, APA e CN e maior que 2,0, indicando uma contaminação de 25% dos alicates (Figura 11).

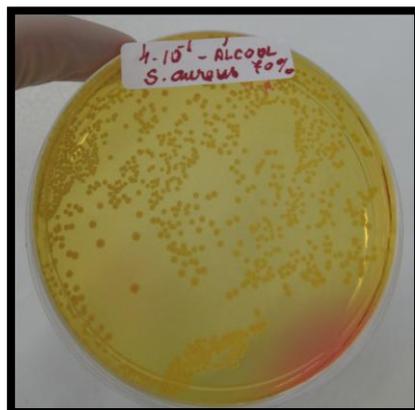


Figura 11 - Placa do alicate 4, contaminado com *S. aureus*, após tratamento de desinfecção com Álcool 70%, no meio de cultura manitol salgado.

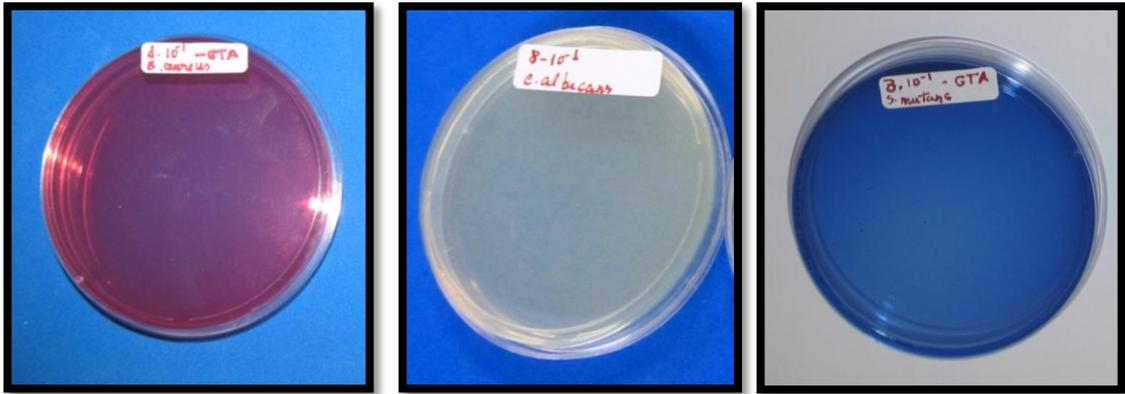


Figura 12- Placas de alicates após tratamento de desinfecção com GTA (grupo 2), dos três microorganismos, nos três meios de culturas- sem nenhuma contaminação

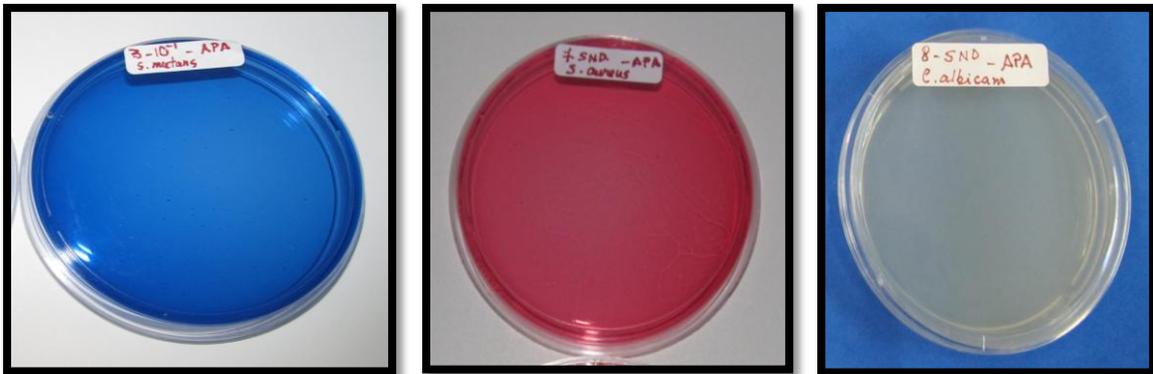


Figura 13 - Placas de alicates após tratamento de desinfecção com APA (grupo 3), dos três microorganismos, nos três meios de culturas- sem nenhuma contaminação

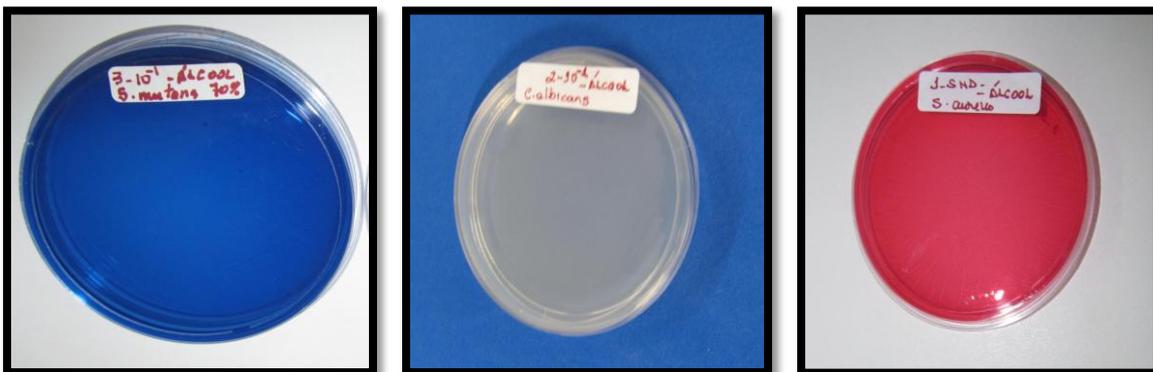


Figura 14 - Placas de alicates após tratamento de desinfecção com Álcool 70%, dos três microorganismos, nos três meios de culturas- sem nenhuma contaminação.

No gráfico 1, observa-se a interação entre os grupos de tratamentos e os microorganismos. Dos grupos de desinfetantes testados neste trabalho, o APA e o GTA descontaminaram todos os alicates contaminados com os três microorganismos de testes, pois a média do \log_{10} UFC/ml deu abaixo de 2,0. O álcool 70% foi o único desinfetante que não descontaminou todos os alicates, 25% (dois) permaneceram contaminados pelo *S. aureus*, embora não houvesse diferença estatisticamente significativa entre ele, o GTA e o APA.

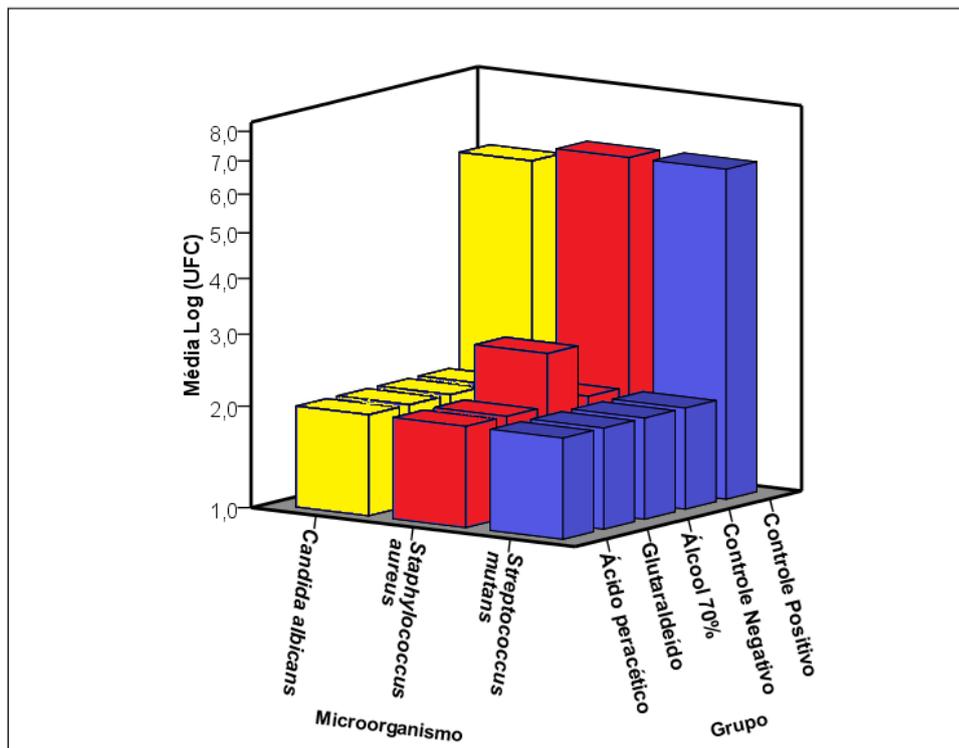


Gráfico 1 - Média do \log_{10} UFC/ml por microorganismos e por grupo de tratamento (média < 2,0 (\log_{10} de 100) = alicate descontaminado)

Este mesmo gráfico mostra que todos os alicates do grupo controle positivo apresentaram grande contaminação. E que os alicates do grupo controle negativo foram descontaminados (média do \log UFC/ml deu abaixo de 2,0).

Discussão

6. Discussão

Para minimizar, prevenir ou reduzir os riscos de infecção cruzada dentro do consultório ortodôntico, é necessário a adoção de medidas de precauções padrão na prática diária^{1,2,6,27,32}. No entanto, os especialistas em Ortodontia, ainda apresentam relativa inércia em relação aos procedimentos de organização de materiais, paramentação e métodos de controle de infecção, devido às características clínicas específicas da especialidade^{5,25}.

Nos estudos de McCarthy et al.³ e McCarthy & MacDonald³², que compararam as práticas de controle de infecção entre clínicos gerais e especialistas, a Ortodontia foi a especialidade que menos seguiu as precauções universais, no que diz respeito ao uso de EPIS, esterilização pelo calor de peças de mão e vacinação dos membros de sua equipe contra o HBV, constatando a negligência dessa especialidade no que diz respeito ao controle de infecção. O estudo de Woo et al.⁵ confirma isto, demonstrando que 99% dos ortodontistas desinfetavam seus alicates, mas somente 49% os esterilizavam. Estudos mais recentes já demonstraram uma maior preocupação dos profissionais com a desinfecção dos instrumentos. Dowsing, Benson³⁷ observaram que 92% dos ortodontistas realizavam limpeza prévia de seus instrumentos e todos realizavam esterilização, sendo que 94% usavam a autoclave.

Já no estudo de Bardini¹⁹, 33% dos alicates dos alunos de uma clínica de Pós-Graduação não tinham sido desinfetados e/ou esterilizados previamente ao atendimento clínico. Este resultado é extremamente preocupante e isso pode estar diretamente relacionado com o fato da Ortodontia estar em segundo lugar entre as especialidades odontológicas em contaminação pelo HBV⁸.

Muitos ortodontistas ao invés de esterilizarem seus alicates, realizam uma desinfecção. Os motivos do alto percentual de adeptos de desinfecção podem ser atribuídos ao grande volume de pacientes atendidos em um dia, ao menor tempo de duração dos atendimentos, ao custo e tempo de todo o processo de esterilização e a diminuição da vida útil dos alicates quando submetidos a constantes esterilizações^{5,20}. Sabe-se que a esterilização é importante para todas as áreas da Odontologia, incluindo a Ortodontia, pois é o meio mais seguro para a total eliminação de todos os microorganismos.

No consultório ortodôntico os alicates são um dos instrumentais mais utilizados durante o atendimento ao paciente^{4,19,20}. Nesta pesquisa, estes instrumentais foram escolhidos para avaliação microbiológica, por serem característicos da atividade ortodôntica^{4,18,19}, sendo o alicate de corte distal um dos mais utilizados na clínica diária.

Os alicates usados neste estudo são considerados artigos semi-críticos, pois entram em contato com a mucosa íntegra^{1,2,23,26}. Quando um alicate entra em contato com a cavidade bucal ele fica contaminado pelos microorganismos existentes na boca dos pacientes^{17,19,20}. Na pesquisa de Wichelhaus et al.¹⁸, 80% dos alicates ficaram contaminados. Os resultados do trabalho de Venturelli et al.¹² mostraram que após atendimento clínico todos os alicates apresentaram uma grande contaminação com bactérias. No trabalho de Russo et al.²⁹, as pontas de seringa tríplice também ficaram contaminadas quando entraram em contato com a boca.

Nesta pesquisa optou-se pelo o uso dos desinfetantes de acordo com protocolo e recomendações propostas pelos fabricantes, pois assim estes seriam mais efetivos na eliminação dos microorganismos. O álcool 70% deve ser friccionado nos alicates em três etapas, intercalado pelo tempo de secagem natural, totalizando 10 minutos. O GTA 2% deve ser usado pela imersão dos alicates por 30 minutos e o APA 0,25% pela imersão por 10 minutos¹.

Os microorganismos testados nesta pesquisa são muito utilizados para controlar o monitoramento da ação de desinfetantes em meios de cultura específicos⁵². Esses foram efetivos na contaminação dos alicates testados neste estudo, como mostraram os alicates do grupo Controle Positivo (CP).

Acredita-se que a eficácia antimicrobiana do desinfetante é ainda maior, quando os alicates são submetidos ao procedimento de limpeza com água e sabão líquido, antes da desinfecção química, porque a presença de matéria orgânica pode limitar o processo de desinfecção^{1,4,36}.

A lavagem prévia dos instrumentais é um método necessário a qualquer procedimento de desinfecção e esterilização para a redução de microorganismos, mas não é um método definitivo, visto que ela não é suficiente para impedir o crescimento bacteriano^{1,18,19}. Daí nesta pesquisa ter sido feita a lavagem prévia dos alicates, antes da realização de qualquer um dos métodos de desinfecção.

Assim como a lavagem, foi feita uma secagem criteriosa para evitar que a umidade interferisse no processo de desinfecção e também para diminuir a possibilidade de corrosão dos alicates.

Depois de feita a análise microbiológica dos 2 alicates do grupo Controle Negativo (CN), que foram esterilizados em autoclave, antes de iniciar o experimento com cada microorganismo, constatou-se que depois de 48 horas não houve nenhum crescimento, em nenhuma placa com os meios de cultura utilizados para os três microorganismos de teste. Como eles foram esterilizados em calor úmido a 121°C e a 1 atm de pressão por 15 minutos, confirma-se a esterilidade dos alicates deste grupo, concordando com os resultados encontrados por Pontual et al.²⁴.

Após a análise microbiológica dos alicates do grupo Controle Positivo (que foram contaminados e não passaram pelo tratamento de desinfecção) nas 9 etapas do experimento (3 microorganismos x 3 grupos de desinfetantes: Álcool 70%, GTA e APA), constatou-se uma grande contaminação em todos os meios de cultura utilizados, pois verificou-se em todas as 8 placas onde foram semeadas as 3 diluições e a SND, grande crescimento de colônias de *S. mutans*, *S. aureus* e *C. albicans*. O alicate Controle Positivo teve como objetivo, provar que existia contaminação em todos os alicates, antes de passarem pelo tratamento de desinfecção.

Os resultados desse trabalho revelaram que não houve diferença estatisticamente significativa em relação a eficácia biocida das três diferentes soluções químicas, em relação aos microorganismos de teste. Mas somente o GTA e o APA impediram o crescimento de todas as cepas microbianas, após o tratamento de desinfecção. O álcool 70% não eliminou completamente as cepas do *S. aureus*, apresentando deficiência em 2 alicates.

O GTA é um desinfetante de alto nível, com potente ação biocida, que é utilizado para o processamento de equipamentos médico-odontológico termossensíveis, apresentando eficácia contra uma grande variedade de microorganismos como bactérias gram positivas e negativas, fungos, vírus e é lentamente efetivo contra esporos⁵⁴. É ativo na presença de matéria orgânica^{12,52}, mas apresenta como grande desvantagem a sua toxicidade, sendo irritante aos tecidos^{45, 54,55}. O presente trabalho confirma a ação biocida desse desinfetante.

Nos estudos que utilizaram o GTA, o de Almeida⁴, Pontual et al.²⁴, e Orsi et al.⁵² corroboraram com esta pesquisa, mostrando que este desinfetante eliminou todos os microorganismos. O estudo de Wichelhaus et al.¹⁸ que utilizou uma substância à base de GTA a 3%, também foi efetivo para a desinfecção de todos os microorganismos dos alicates ortodônticos.

Entretanto os estudos de Lorena et al.⁵⁷, Lorena et al.⁵⁸, Lynam et al.⁶⁰, que utilizaram micobactérias, mostraram que o GTA 2%, não destruiu as cepas dessas bactérias, provenientes do surto de infecção hospitalar ou resistentes a antibióticos, indicando alta tolerância destas cepas ao GTA. Vale ressaltar que, no presente trabalho, não foi usado este tipo de microorganismo.

Devido a esta resistência à algumas cepas de micobactérias e à sua toxicidade, o uso do GTA, está sendo revisado e discutido. Mais pesquisas e relatos de casos, determinarão se mudanças serão necessárias nas resoluções normativas, que regulam o uso desse desinfetante no Brasil, de acordo com Lorena et al.⁵⁸.

A razão da escolha do APA nesta pesquisa, é que este desinfetante é pouco utilizado pela classe odontológica, sendo uma boa opção para a desinfecção, porque além de ser eficaz contra todos os microorganismos, inclusive esporo, é um material seguro para o paciente, profissional e meio ambiente; não é tóxico e não é alergênico em baixas concentrações, como a usada neste estudo. O resultado dessa pesquisa para o APA confirma a eficácia deste desinfetante, conforme mostrado em estudos anteriores^{15,60,61,63,64}. O estudo de Marques et al.⁶² corrobora parcialmente com esta pesquisa, porque embora tenha apresentado uma boa eficiência, não removeu completamente as células de *S. aureus* aderidas no vidro e no aço inox. Vale ressaltar que, o tempo usado no estudo de Marques et al.⁶² foi de 30 segundos, bem menor que o utilizado na presente pesquisa (10 minutos).

No estudo de Chassot et al.⁵⁵ o APA 0,2% no tempo de 5 e 10 minutos proporcionou esterilização, eliminando esporos das cepas *Bacillus subtilis* e *Bacillus stearothermophilus* de placas de resinas acrílicas. Estas bactérias são usadas para controle de esterilidade por serem resistentes a altas temperaturas.

Apesar de não apresentar diferença estatisticamente significativa entre os três desinfetantes testados, verificou-se a contaminação por *S. aureus* de dois alicates após serem tratados com álcool 70%. Este dado torna-se clinicamente relevante, pois segundo Russo et al.²⁹, a existência de uma única colônia de

bactérias pode se multiplicar, podendo provocar infecção cruzada. Então não se pode afirmar que o álcool 70% foi eficaz na desinfecção dos alicates nesta pesquisa.

O álcool é aceito pela ANVISA como um desinfetante de artigos e superfícies e ainda hoje é amplamente utilizado em clínicas e consultórios odontológicos e na clínica de Cursos de Pós Graduação¹⁹. Segundo Gandini Jr. et al.¹¹, o álcool 70% ainda é o desinfetante mais usado, embora seja o menos eficiente, o que foi confirmado nesta pesquisa.

Assim os resultados desse estudo mostraram que, não houve descontaminação de todos os alicates pós tratamento de desinfecção com álcool 70%, pois não foi eliminado completamente o *S. aureus*, mostrando a ineficácia desse método como um desinfetante de nível intermediário. Esse resultado também está de acordo com os resultados de Navarro et al.¹⁷ que usaram álcool 70% associado com iodo; Silva e Jorge⁵¹ que utilizaram álcool em superfícies e também não obtiveram uma completa descontaminação e com os estudos de Almeida⁴, Venturelli¹² e Bardini¹⁹ que não obtiveram uma desinfecção completa de alicates ortodônticos utilizando álcool etílico a 70%. Os estudos de Pereira²⁷ e Russo et al.²⁹, também corroboraram com esses resultados.

Já os estudos de Pontual et al.²⁴ e Fagundes et al.⁵³ aprovaram os alcoóis como solução desinfetante. Wichelhaus et al.¹⁸ somente obtiveram desinfecção com o álcool quando este estava associado ao glutaraldeído.

Quando se faz fricção de um desinfetante sobre uma superfície, diminui-se o crescimento de colônias bacterianas pelo próprio ato mecânico de remover (*bioburden*) com gaze ou algodão. Mas este método tem o inconveniente de alguma porção do objeto ou instrumental contaminado não ter sido atingida pela gaze embebida com a solução, como nos casos das articulações dos alicates ortodônticos²⁴. Microorganismos que aderem à superfície de instrumentais e equipamentos, podem ser protegidos por irregularidades existentes nas superfícies, dificultando a ação do desinfetante, daí uma razão para a desinfecção com álcool que é feita por fricção, não ter sido completamente eficaz^{29,48,50}.

O álcool 70% é considerado bactericida contra bactérias vegetativas^{6,10,51}. Mas este desinfetante não foi eficaz na eliminação do *S. aureus* de 2 alicates nas SND e 10^{-1} do presente estudo. A desinfecção de todos os alicates não ocorreu, talvez porque estes possuem a superfície rugosa, parafusos e articulações^{29,48,50}, o

que dificulta sua desinfecção por fricção, método usado nesta pesquisa. De acordo com os estudos de Russo et al.²⁹ e Venturelli et al.¹², o número de UFC em pontas de seringas tríplices descartáveis e alicates ortodônticos respectivamente, após serem utilizados em pacientes, foi maior que 300. Isto se compara com o número de UFC da SND dos dois alicates contaminados com *S. aureus* em nosso estudo, após desinfecção com álcool 70%.

Apesar do álcool 70% não ser o melhor desinfetante testado, esses resultados levam-nos a sugerir que, se for efetuado um processo de limpeza adequado, com fricção vigorosa da superfície ou instrumental a ser desinfetado, antes da desinfecção por fricção com álcool como manda o protocolo, podemos ter bons resultados com este desinfetante, apesar dele não ser recomendado para a desinfecção de alicates ortodônticos.

O *S. aureus* foi o microorganismo presente na superfície da ponta ativa dos alicates que continuaram contaminados após o tratamento de desinfecção com álcool 70%, sendo o microorganismo mais resistente desse experimento, corroborando com a pesquisa de Almeida⁴, e com Marques et al.⁶². Esses microorganismos, responsáveis por infecções em ambientes hospitalar, estão entre as bactérias patogênicas humanas mais resistentes, podendo sobreviver durante meses em superfícies secas, a temperaturas superiores a 60°C²⁰.

Considerando-se que neste trabalho não foram usados vírus e esporos, mas somente fungo e bactérias na forma vegetativa, e mesmos estas não foram totalmente eliminados por um dos desinfetantes testados, não se recomenda o uso da desinfecção de alicates ortodônticos entre os atendimentos de pacientes, mas sim a esterilização com calor úmido.

Gandini Jr.¹¹, Masunaga³⁸, Mulick⁴³ e Payne⁴⁴, afirmaram que o calor úmido da autoclave pode causar corrosão nos alicates. Entretanto Jones⁴⁵ observou que após 6 meses, os alicates apresentaram resultados satisfatórios em relação à esterilização em autoclave. Mazzocchi et al.⁴¹ concluíram em seu trabalho que, após 500 ciclos de esterilização, as modificações ocorridas nos alicates foram insignificantes, e os estudos de Vendrell et al.²¹ não demonstraram haver diferença entre estufa e autoclave, em relação ao desgaste médio na ponta ativa dos alicates.

Para evitar essa corrosão é importante antes da autoclavagem, fazer uma limpeza criteriosa e uma lubrificação das articulações dos alicates^{3,21, 45, 46,47}.

Somente a esterilização consegue erradicar os esporos bacterianos e torna possível a reutilização dos alicates ortodônticos, sem que haja disseminação de doenças infecto contagiosas^{1,18,20,21}.

Prevenir e controlar a infecção cruzada no consultório ortodôntico é hoje exigência e direito do paciente. Dessa forma, é essencial que haja conscientização para que aconteçam mudanças na conduta dos profissionais no tratamento de seus alicates ortodônticos, principalmente no que diz respeito aos processos de desinfecção e esterilização, levando-os a adotarem medidas corretas de biossegurança em todos os atendimentos, como forma de impedir a propagação de infecções.

Mais pesquisas devem ser feitas para avaliar os desinfetantes testados neste estudo, principalmente o ácido peracético que é pouco utilizado dentro do consultório odontológico e também para testar outros microorganismos mais resistentes, como vírus hidrofílicos, micobactérias resistentes ou esporos.

Conclusão

7. Conclusão

Com base nos resultados obtidos e de acordo com a metodologia utilizada, as seguintes conclusões foram tiradas:

- a) Os desinfetantes químicos glutaraldeído 2% e ácido peracético 0,25%, foram eficazes para inibir o crescimento de todas as cepas microbianas utilizadas como microorganismos de testes;
- b) A desinfecção de alicates ortodônticos com álcool 70%, não foi suficiente para a total eliminação da bactéria *Staphylococcus aureus*. Assim, para maior segurança no que diz respeito às normas de controle de infecção, recomenda-se a esterilização dos alicates ortodônticos.

Referências Bibliográficas

8. Referências Bibliográficas

1. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Serviços odontológicos: prevenção e controle de riscos. Brasília; 2006. Série Normas e Manuais Técnicos: A.
2. Eklund KJ. Infection control. *Dent Clin N Am.* 2003 Oct.; 47(4): 697-708.
3. McCarthy GM, Mamandras AH, MacDonald JK. Infection control in the orthodontic office in Canadá. *Am J Orthodon Ortop Dentofacial.* 1997 Sep.; 112(3): 275-81.
4. Almeida CM. Avaliação dos métodos de desinfecção de alicates ortodônticos. [Dissertação]. Campinas: C.R.O. São Leopoldo Mandic; 2008. 55p.
5. Woo J, Anderson R, Maguire B, Gerbert B. Compliance with infection control procedures among California orthodontists. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1992 July; 102 (1): 68-75.
6. Miguel JA. Controle de infecção no consultório ortodôntico. *Rev S. O. B.* 1997; 3(3): 96-100.
7. Freitas VM, Roriz VC, Chiavini PC, Young AA, Bozzo RO, Telles EZ. Desinfecção e esterilização em ortodontia: a eficácia de métodos físicos e químicos e instrumentos usados na Ortodontia. *RGO.* 2005 out-dez.; 53(4): 335-8.
8. Shah R, Collins JM, Hodge TM, Laing ER. A national study of cross infection control: are we clean enough? *Br Dent J.* 2009 Sep.; 207(6): 267-74.
9. Borges L. Biossegurança: preservação da saúde e ferramenta de marketing na odontologia atual. *Rev Odont Rio de Janeiro.* 2003 set-nov.; 13-14.
10. Burg G, Portela O, Paragenski GL, Sousa V, Silveira DD, Homer R. Estudo da eficácia de um novo produto à base de álcool gel utilizado na anti-sepsia em um serviço de nefrologia. *Medicina.* 2007; 40(20): 236-42.
11. Gandini LG, Jr., Souza RS, Martins JC, Sakima T, Gandini MR. Controle de infecção cruzada em ortodontia: parte 1 - hepatite B, desinfecção e aparatologia pessoal. *Rev. Dental Press Ortop Facial.* 1997 mar-abr.; 2(2): 77-82.

12. Venturelli AC, Torres FC, Almeida-Pedrin RR, Almeida RR, Almeida MR, Ferreira FP. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. *Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial*. 2009 jul-ago.; 14(4): 43-52.
13. Kunigk L, Gomes DR, Forte F, Vidal KP, Gomes LF, Sousa PF. The influence of temperature on the decomposition kinetics of peracetic acid in solutions. *Braz. J. Chem. Eng.* 2001; 18(2): 1-7.
14. Kitis M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environ. int.* 2004 Mar.; 30(1):47-55.
15. Artico G. Eficácia do ácido peracético na desinfecção de instrumentos contaminados. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007. 89 f.
16. Dutra SR, Santos VR, Meneses LF, Drummond AF, Vilaça EL, Couto PH. Esterilização em Ortodontia: eficácia do esterilizador com esferas de vidro. *Dental Press Ortodon Ortop Facial*. 2008 jun-ago.; 13(4): 60- 6.
17. Navarro CA, Miguel JA, Hirata Júnior, Quintão CC. Avaliação da efetividade de métodos de controle de infecção em alicates ortodônticos. *J. Bras Ortodon Ortop Facial*. 1999 nov-dez.; 4(24): 516-25.
18. Wichelhaus A, Bader R, Sander FG , Krieger D and Mertem T. Effective disinfection of orthodontic pliers. *J Orofac Orthop*. 2006 Sep; 67(5): 316- 36.
19. Bardini ACQ. Avaliação da contaminação de alicates ortodônticos durante rotina clínica e após processo de desinfecção com álcool etílico 70%. [Dissertação]. Campinas: C.P.O. São Leopoldo Mandic; 2009. 87 f.
20. Azeredo F, Meneses LM, Silva RM, Rizzato SM, Garcia GG e Revers K. Análise microbiológica de alicates ortodônticos. *Dental Press J Orthod*. 2011 maio-jun.; 16(3): 103-12.
21. Vendrell RJ, Hayden CL, Taloumis, LJ. Effect of steam versus dry-heat sterilization on the wear of orthodontic ligature-cutting pliers. *Am J Orthod Dentof Orthop*. 2002 May; 121(5):467-71.
22. Matsuda JK, Grinbaum R, Davidowicz M. The assessment of infection control in dental practices in the municipality of São Paulo. *Braz. J. Infect. Dis.* 2011 Jan-Fev.; 15(1): 45-51-530-3.

23. Jorge AOC. Princípios de biossegurança em odontologia. Rev Biociênc. 2002 jan-jun.; 8(1): 7-17.
24. Pontual ML, Ortega AI, Napimoga MH, Hatter Neto F, Gonçalves RB. Eficácia de soluções desinfetantes em filmes radiográficos periapicais. Rev Assoc Paul Cir Dent. 2004 jan-fev.; 58(1); 47-51.
25. Freitas MPM, Menezes LM, Rizzatto SMD, Feldens JA. Protocolo básico de biossegurança na clínica ortodôntica. Rev Clin Orthodon Dental Press. 2006 abr-maio; 5(2): 78-86.
26. Guimarães J, Jr. Biossegurança e controle de infecção cruzada. São Paulo: Santo; 2001. 536 p.
27. Pereira RS. Descontaminação de canetas odontológicas de alta rotação em unidades básicas em saúde no município de Goiânia. [Dissertação]: Goiânia. Universidade Federal de Goiás; 2006. 83 f.
28. Kitada K, Toledo A, Oho T. Increase in detectable opportunistic bacteri in the oral cavity of orthodontic patients. Int J Dent Hyg. 2009 May; 7(2): 121-5.
29. Russo EHA, Carvalho CRD, Lorenzo JL, Garone Neto N, Cardoso MV, Grossi E. Avaliação da intensidade da contaminação de pontas de seringas tríplice. Pesqui Odont Bras. 2000 jul-set.; 14(3): 243-7.
30. Smith AJ, Lockharta DEA, McDonald E, Creanore S, Hurrell D, Bagg J. Design of dental surgeries in relation instrument descontamination. J Hosp Infect. 2010 Dec.; 76: 340- 344.
31. Rautemaa R, Nordberg A, Wuolijokii-Saaristo, Meurman. Bacterial aerosols practice-a potential hospital infection problem? J Hosp Infect. 2006 Sep.; 64(1): 76-81.
32. McCarthy GM, MacDonald JK. A comparison of infection control practices of different groups of oral specialists and general dental practitioners. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998 Jan.; 85(1):47-54.
33. Rios MP, Morgano SM, Stein RS, Rose L. Effects of chemical disinfectant solutions onthe stability and accuracy of the dental impression complex. J Prosthet Dent. 1996 Oct.; 76(4):356-62.

34. Cardoso, M A, Pereira AM, Miguel JA. Conduta profissional relacionadas às medidas de controle de infecção em moldagens ortodônticas. J. Bras. Ortodon. Ortop. Facial. 2004 set-out.; 53(9): 496-500.
35. Petti S, Messanoa GA, Polimeni A. Dentists awareness toward vaccine preventable diseases. Vaccine. 2011 Oct.; 29(45): 8108-12.
36. Veerabadran S, Parkinson IM. Cleaning, disinfection and sterilization of equipment. Anesth and Intens care Med. 2010 Nov.; 11(11): 451- 54.
37. Dowsing P, Benson PE. Molar band re-use and descontamination: a survey of specialists. J Orthod. 2006 Mar; 33(1):30-7.
38. Masunaga MI. Sterelization in orthodontic, parte 3: corrosion of instruments. J Clin Orthodon. 1987 May; 21(5): 331- 2.
39. Guadalini SL, Melo NSF, Santos ECP. Como controlar a infecção na odontologia. Londrina: Gnatus; 1997. 88 p.
40. Hoh CS, Berry DP. Descontamination and sterilization. Surgery. 2005; 23(8): 283-4.
41. Mazzocchi AR, Paganelli C, Morandini C. Effects of thee tipos of sterilization on orthodontic pliers. J Clin Orthod. 1992 Oct.; 12(30): 151-2.
42. Mazzocchi AR. Orthodontic pliers and sterilization procedures. J Clinical Orthodontics. 1996 Sep; 1-5.
43. Mulick JF. Upgrading sterilization in the orthodontic pratice. Am J Orthod. 1986 Apr.; 89(4): 346-51.
44. Payne GS. Sterelization in desinfecion in the orthodontic office: a pratical approach. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1986 Sep.; 90(3): 250-2.
45. Jones M, Pizarro K, Bluden R. The effect of routine steam autodaving on orthodontic pliers. Eur J Orthod. 1993 Aug.; 15(4): 281-90.
46. Youngblade CJ, Meyers CE, Hondrum SO. The use of a rapid heat transfer sterilizer when bagging instruments before sterilization. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1994 Dec.; 106(6): 627-34.

47. Ferreira RA. Barrando o invisível. Rev Assoc Paul Cir Dent. 1995 nov.-dez.; 49(6): 417-427.
48. Souza RS, Gandini LG, Jr., Pizzolitto AC, Riveli DB, Sakima MT. Testes de dois métodos rápidos de esterilização em Ortodontia. Rev. dent. press ortodon. ortop. Maxilar. 1999 jan-fev.; 4(1): 63-8.
49. Jeong EK, Bae JE, Kim IS. Inactivation of influenza A virus H1N1 by disinfection process. Am J Infect Control. 2010 June; 38(5): 354-60.
50. Kunigk L, Almeida MC. Action of peracetic acid on Escherichia coli and Staphylococcus aureus in suspension or settled on stainless surfaces. Braz. J. Microbiol. 2001 Jan-Mar.; 32(1): 38-41.
51. Silva CR, Jorge AO. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em odontologia. Pesqui Odontol Bras. 2002 abr-jun.; 16(2): 107-14.
52. Orsi IA, Villabona CA, Kameoka E, Ferreira MC, Ito IY, Saravia ME. Antimicrobial efficacy of chemical disinfectants on contaminated full metal crowns. Braz Dent J. 2010; 21(3): 241-6.
53. Fagundes FS, Leonardi DP, Haragushika GA, Baratto F, Filho, Tomazinho LE, Tomazinho PH. Eficiência de diferentes soluções na descontaminação de cones de gutapercha expostos ao Enterococcus faecalis. RSBO. 2005; 2(2): 7- 11.
54. Tipple AVF, Sousa ACS, Abreu NB, Domingues KK, Anders PS. O uso do Glutaraldeído em serviços de saúde e a segurança do trabalhador. Rev. Enferm. UERJ. 2004 maio-ago.; 12(2): 186-91.
55. Chassot AL, Poisi MI, Samuel SM. In vivo and in vitro evaluation of the efficacy of a peracetic acid-based disinfectant for decontamination of acrylic resins. Bras. Dent. J. 2006; 17(2): 117-121.
56. Fraud S, Maillard Y, Russell AD. Comparison of the mycobactericidal activity of ortho-phthaldehyde, glutaraldehyde and other dialdehydes by a quantitative suspension test. J Hosp Infect. 2001 July; 48(3): 214-21.
57. Lorena NSO, Duarte RS, Pitombo MB. Infecção por micobactéria de crescimento rápido após procedimentos videocirúrgicos: a hipótese do glutaraldeído. Rev. Col. Bras. Cir. 2009 jul.; 36(3): 266-7.

58. Lorena NS, Pitombo MB, Côrtes PB, Mava MC, Silva, MG, Carvalho ACI. *Mycobacterium massiliense* clone BRA100 strain recovered from postsurgical infections: resistance to high concentrations of glutaraldehyde and alternative solutions for high level disinfection. *Acta cir. Bras.* 2010 Sep-Oct.; 25(5): 455-9.
59. Loukili NH, Becker H, Harno J, Bientz M, Meunier O. Effect of peracetic acid and aldehyde disinfectants on biofilm. *J Hosp Infect.* 2004 Oct.; 58(2): 151-4.
60. Lynam PA, Babb JR, Fraise AP. Comparison of the mycobactericidal activity of 2% alkaline glutaraldehyde and “Nu-cidex”(0,35% acid peracetic). *J Hosp Infect.* 1995 July; 39(3): 237-40.
61. Montebugnoli L, Chersoni S, Prati C, Dolci G. A between-patient didinfection method control water line contamination and biofilm inside dental units. *J Hosp Infect.* 2004 Apr.; 56(4): 297-304.
62. Marques SC, Rezende JG, Alves JAF, Silva BC, Alves E, Abreu LR, Piccoli RH. Formation of biofilm by *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces an et resistance to some selected chemical sanitizers. *Braz J Microbiol.* 2007 July-Sep.; 38(3): 538-43.
63. Ceretta R, Paula MM, Angioletto E, Méier MM, Mitellstadt FG, Pich CT, Júnior AS, Angioletto E. Evaluation of the effectiveness of peracetic acid in the sterilization of dental equipament. *Indian J Med Microbiol.* 2008 Apr-Jun.; 26(2): 117-22.
64. De-Deus G, Souza EM, Marins JR, Reis C, Paciornik S, Zehnder M. Smear layer dissolution by peracetic acido flow concentration. *Int Endod J.* 2011 Jun; 44(6): 485-90.
65. André RFG, Andrade IM, Silva-Lovato CH, Paranhos HF, Pimenta FC, Ito IY. Prevalência de *Streptococcus mutans*, isolados de próteses totais e sua suscetibilidade a bochechos. *Braz Dent J.* 2011; 22(1): 62-7.
66. Peixoto ITA, Enok C, Ito IY, Matsumoto MA, Nelson-Filho P. Evaluation of home disinfection protocols for acrylic baseplates of removable orthodontic appliances: A randomized clinical investigation. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2011 July; 140(1): 51-7.
67. Saraiva NS, Souza MS, Miranda JL. Fatores de risco para o câncer bucal. *Arq. Odontol.* 2004 jan-mar.; 40(1): 19-32.

68. Lula EC, Almeida LJ, Jr, Alves CM, Monteiro-Neto V, Ribeiro CC. Partial Caries Removal in Primary Teeth: Association of Clinical Parameters with Microbiological Status. *Caries Res.* 2011; 45(3): 275-80.

Anexos

Anexo A – Declaração de realização da pesquisa



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA E MICROBIOLOGIA
Campus:Universitário Ministro Petrônio Portela. SG-16 Bairro Ininga.
Fone: (86) 3215-5865/3215-5635

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que Maria Reggiani Azevedo Carvalho, RG 791.644 SSP-PI, CPF 190.462863-04, aluna do Mestrado em Odontologia, com área de concentração em Ortodontia, na Universidade CEUMA realizou os experimentos da sua dissertação com o título Avaliação microbiológica em alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%, glutaraldeído a 2% e ácido peracético a 0,25%, no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Parasitologia e Microbiologia – UFPI, no período de março a junho de 2012.

Assinatura manuscrita de Maria do Carmo Souza em tinta preta.

Maria do Carmo Souza

Chefe do Departamento de Parasitologia e Microbiologia

Maria do Carmo Souza
Chefe de Departamento
DPM / CCS / UFPI

Anexo B – Tabela

Tabela 3- UFC/ml dos Alicates- 3 Grupos Experimentais (1, 2 e 3), CP e CN, após contaminação com os 3 microorganismos

GRUPO 1 - ÁLCOOL 70%	* UFC/ml									
	Grupo 4-ACF	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	Grupo 5-ACN
.Candida. albicans	$7,5 \times 10^5$	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)	< 10×10^2 (Est)	< $1,0 \times 10^2$ (Est)	< $1,0 \times 10^2$ (Est)=	< $1,0 \times 10^2$ (Est)	< $1,0 \times 10^2$ (Est)	< $1,0 \times 10^2$ (Est)	< $1,0 \times 10^2$ (Es.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)
. Staphylococcus aureus	> $3,0 \times 10^6$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)	$1,4 \times 10^3$	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)	> $3,0 \times 10^3$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)				
. Streptococcus mutans	> $3,0 \times 10^6$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								

GRUPO 2 - GLUTARALDEÍDO	UFC/ml									
	Grupo 4-ACF	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	Grupo 5-ACN
. Candida albicans	$9,3 \times 10^5$	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								
. Staphylococcus aureus	> $3,0 \times 10^6$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								
. Streptococcus mutans	> $3,0 \times 10^6$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								

GRUPO 3 - ÁCIDO PERACÉTICO	UFC/ml									
	Grupo 4-ACF	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	Grupo 5-ACN
. Candida albicans	$1,9 \times 10^6$	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								
. Staphylococcus aureus	> $3,0 \times 10^6$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								
. Streptococcus mutans	> $3,0 \times 10^6$ (Est.)	< $1,0 \times 10^2$ (Est.)								

* UFC/ml < $1,0 \times 10^2$ = Alicates descontaminado