

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE SANITIZANTES EM SETORES DE RADIOLOGIA EM HOSPITAIS EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF SANITIZERS IN SECTORS OF RADIOLOGY OF THE HOSPITALS

*Autoras: Karina Colasso Vargas, UTFPR, kcolasso@gmail.com. Kelly de Araújo Gonzales, UTFPR, kelly.araujo85@gmail.com. Orientação: professora Dr^a. Anna Silvia Penteado Setti da Rocha
Co-orientação: professora Dr^a. Edilsa Rosa da Silva.*

RESUMO

Objetivo: avaliar quatro agentes sanitizantes de uso cotidiano hospitalar para determinar a eficiência no combate aos microrganismos existentes em setores de Radiologia. Material e métodos: Realizou-se a quantificação e caracterização dos microrganismos existentes nos principais equipamentos do setor de Radiologia em um hospital público no Paraná. Os testes realizados utilizaram álcool 70%, hipoclorito de sódio 2,5%, glutaraldeído 2% e ácido peracético+H₂O₂ 0,2%. Resultados: a maior densidade de microrganismos em 150cm² dos equipamentos foi de bactérias heterotróficas, na mesa de raios X; foram encontrados exemplares de Staphylococcus sp. e fungos totais também nos demais equipamentos; o gênero Pseudomonas sp. não foi detectado. Para os testes com o hipoclorito de sódio 2,5%, ácido peracético+H₂O₂ 0,2% e glutaraldeído 2% não houve crescimento algum para os tempos testados. Apenas para o álcool 70% no tempo de 5 min, um dos fungos testados apresentou crescimento. Conclusão: todos os sanitizantes foram considerados eficientes para os microrganismos testados.

Palavras chave: Sanitizantes, Microrganismos, eficiência.

ABSTRACT

Objective: evaluate four sanitizers agents of hospital daily use to determine the efficiency for the existing microorganisms in sectors of Radiology. Material and methods: It was made quantification and characterization of the existing microorganisms in the equipment of the sector of radiology in a public hospital of Paraná. The tests was made with alcohol 70%, sodium hipoclorite 2.5%, glutaraldehyde 2% and peracetic acid+H₂O₂ 0.2%. Results: The biggest density of microorganisms in 150cm² of the equipment, was of heterotrophic bacteria, in the table of X rays; was found Staphylococcus sp. and total fungi; Pseudomonas sp. it was not detected. For the tests with the sodium hipoclorite 2.5%, peracetic acid+H₂O₂ 0.2% and glutaraldehyde 2% did not have growth for the tested times. But for alcohol 70% in contact of 5 min, one of the tested fungi presented growth. Conclusion: all the sanitizers had been considered efficient for the tested microorganisms.

Key words: Sanitizers, microorganisms, efficiency

INTRODUÇÃO

O meio ambiente hospitalar está intimamente relacionado com infecções, podendo proporcionar focos de contato e de transmissão. Apesar de muitos microrganismos patogênicos sobreviverem muito tempo fora de um organismo hospedeiro, existem organismos que sobrevivem por um longo período de tempo (Black 2002). Por isso, é de suma importância uma boa sanitização dos ambientes e a avaliação da microbiota presente em equipamentos, principalmente em se tratando de locais em que há um grande número de pessoas já debilitadas por algum tipo de enfermidade, tanto para melhorar as suas

condições de recuperação quanto para prevenir a contaminação de outras pessoas. Uma vez avaliados os tipos e a densidade dos micróbios, pode-se efetuar uma série de experimentos para verificar a eficácia de alguns tipos de sanitizantes para a maior parte dos organismos presentes.

Segundo a ANVISA (2003), dentre os desinfetantes mais comumente utilizados estão: hipoclorito de sódio, formaldeído, compostos fenólicos, iodo, alcoóis e glutaraldeído. Hoefel et al (1999) descreve que o hipoclorito de sódio é um desinfetante universal ativo contra microrganismos e de acordo com Santos et al (2002), os álcoois são potentes bactericidas contra microbactérias, gram-positivas, gram-negativas, fungos patogênicos, muitos vírus mas não apresentam ação contra esporos e vírus não-envelopados. Romano & Quelhas (1998) afirmam que o glutaraldeído é bactericida, virucida, fungicida e esporicida em soluções alcalinas.

Outros sanitizantes como o ácido peracético e o peróxido de hidrogênio vêm sido testados e seus resultados comparados como feito anteriormente por Souza (2005), Graziano (2003) e Srebernich (2007).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência dos sanitizantes álcool 70%, hipoclorito de sódio 2,5%, glutaraldeído 2% e ácido peracético combinado com peróxido de hidrogênio 0,2%, aplicando-os em microrganismos isolados de um setor de Radiologia de um hospital público em Curitiba. Antes desta avaliação foram realizados estudos sobre os microrganismos encontrados a fim de quantificar e caracterizar a microbiota local. Esta caracterização consistiu em análises macroscópicas, microscópicas e provas bioquímicas.

A forma de se avaliar o efeito de tais sanitizantes foi por meio da determinação da taxa de sobrevivência celular após a aplicação dos produtos (Mazzola et al 2003).

MATERIAIS E METODOS

Para os procedimentos em laboratório,

foi feito o uso de equipamentos e materiais específicos de um laboratório de microbiologia, (estufas, autoclave, placas de Petri, tubos de ensaio, etc) e para a coleta dos microrganismos no hospital, foram utilizados *swabs*, padrões de área com 25cm², tubos com solução salina (solução de Ringer), meios de cultivo não seletivos (ágar PCA, ágar e caldo BHI, ágar e caldo nutriente), meios de cultivo seletivos (ágar e caldo Saboraud, ágar PDA, ágar Cetrimide, ágar Baird Parker) e meios de cultivo para provas bioquímicas.

Os microrganismos foram coletados dos principais equipamentos: estativa vertical, mesa de raios X, botão de disparo do feixe de raios X, um chassi 35x43cm e atmosfera. A coleta de microrganismos foi feita pela técnica do esfregaço em superfície utilizada por Blume (2006), para este procedimento, *swabs* estéreis foram embebidos em solução de Ringer estéril e utilizando-se os padrões de área também estéreis delimitou-se a área de 25cm² para que o *swab* úmido fosse esfregado apenas nesta delimitação, esse procedimento foi repetido em 6 partes distintas dos equipamentos, totalizando uma área de 150cm². Somente no caso do botão disparador, por ser relativamente pequeno, o *swab* foi esfregado em toda sua superfície. Para a coleta da atmosfera foi utilizada a técnica da sedimentação descrita por Neder (1996), em que placas de Petri contendo diferentes meios de cultivo estéreis foram abertas e expostas à atmosfera por 1h.

Para a quantificação dos microrganismos encontrados nos equipamentos foi utilizada uma regra de três simples.

Após quantificados, os microrganismos foram isolados em colônias puras pela técnica do esgotamento descrita por Tortora et al (2000). Em seguida, suas características macroscópicas foram analisadas por observações a olho nú, e suas características microscópicas através de microscopia pós coloração de Gram, no caso de bactérias, e no microcultivo (Ribeiro & Soares, 2005), no caso de fungos.

Provas bioquímicas foram realizadas com o intuito de verificar algumas características metabólicas e sugerir possíveis gêneros dos

microrganismos encontrados, tendo base em comparações com o manual Bergey's (2000). Foram realizadas 9 provas bioquímicas, o teste da catalase, citrato, urease, indol, Vogues Proskuer, vermelho de metila, ferro lisina, caldos glicose e lactose.

Após a quantificação e caracterização, os microrganismos foram submetidos aos testes com os sanitizantes. Quatro dos microrganismos encontrados (2 bactérias e 2 fungos) foram submetidos aos testes.

A aplicação deu-se após ativação dos isolados em caldo BHI ou Saboraud 24h antes dos procedimentos para as bactérias e 5 dias antes para os fungos. Os microrganismos foram testados nos tempos T0=zero min (controle), T1=5min, T2=10min e T3=15min para o álcool 70%, hipoclorito de sódio 2,5% e ácido peracético+H₂O₂ 0,2% e os tempos T0=zero min (controle) 15min, 30min e 45min para o glutaraldeído 2%. Estes tempos foram determinados em função do tempo indicado pelo fabricante (T2).

Em tubos contendo 5ml do sanitizante foi transferido 0,1ml do microrganismo previamente ativado e neste momento um cronômetro foi acionado. Decorridos os primeiros 5 min (T1), 0,1ml da solução foi transferida para um tubo contendo 5ml de caldo nutriente, no caso de bactérias, ou 5ml de caldo Saboraud, em se tratando de fungos. Com o cronômetro ainda acionado e atingindo T2 o mesmo procedimento foi realizado assim como para T3. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata. Para o teste de controle (T0), ao invés de serem transferidos para o sanitizante, os isolados foram transferidos para um tubo contendo 5 ml de solução de Ringer, que é uma solução salina que não surte efeito algum sobre os microrganismos.

Logo após este procedimento os tubos de caldo nutriente foram incubados a 37°C por 24h e os com caldo Saboraud a 28°C por 5 dias. Decorrido o tempo de incubação verificou-se o crescimento nos tubos e 0,1ml de uma das triplicatas de cada exemplar foi inoculado em placa (cada caldo em seu respectivo ágar e incubado em suas respectivas condições) pela técnica do espalhamento a fim de

verificar o crescimento e o quantificar. No caso de T0 foram feitas diluições até 10⁻⁵ e 10⁻⁶, para bactérias, e 10⁻² e 10⁻³, para fungos, sendo apenas estas plaqueadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação dos microrganismos encontrados na atmosfera do ambiente em estudo apresentou as contagens mostradas na Tabela 1.

TABELA 1. Determinação quantitativa de microrganismos coletados em placas de Petri com 63,6 cm² de área, expostos por 1h à atmosfera da sala de exames do setor de radiologia.

Microrganismo	UFC		
	Coleta 1	Coleta 2	Média das coletas
B. Heterotróficas	32,0±5	36,0±5	34,0±5
<i>Staphylococcus sp.</i>	14,3±1,5	15,0±1,7	14,65±1,5
<i>Pseudomonas sp.</i>	<1,0	<1,0	<1,0
Fungos Totais	23,0±1,7	23,0±5	23,0±1,7

*UFC: Unidade formadora de colônia.

A Anvisa (2000) determina fungos totais como padrão de contaminação em ambientes climatizados sendo que as contagens não podem passar de 750 UFC/m³. Apesar da comparação com os resultados obtidos não ser precisa, o número encontrado foi relativamente baixo sendo então considerado dentro dos padrões.

Segundo Santos (1999), o ar não é um meio no qual possam crescer microrganismos e sim um portador de matéria particulada, pó e gotículas, que podem estar carregadas com micróbios.

As contagens obtidas nos principais equipamentos são mostradas na Tabela 2.

TABELA 2. Densidade de microrganismos encontrados em 150 cm² dos equipamentos analisados da sala de exames do setor de radiologia.

Microrganismos em UFC/ml / 150cm ²				
Local	Mesa	Botão	Chassi	Estativa
B. Heterotróficas	3,4 x 10 ³ ± 3,5	1,01 x 10 ³ ± 0,7	1,4 x 10 ³ ± 0	<1,0
<i>Staphylococcus sp.</i>	2,5 x 10 ³ ± 2	1,2 x 10 ² ± 0,5	1,6 x 10 ³ ± 0,7	<1,0
<i>Pseudomonas sp.</i>	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Fungos totais	1 x 10 ³ ± 7,5	9,6 x 10 ² ± 5,8	1,7 x 10 ³ ± 4,2	<1,0

*UFC: Unidade formadora de colônia.

Após a quantificação partimos para as análises macroscópicas e microscópicas.

As colônias foram identificadas por suas colorações e assim classificadas e isoladas em culturas puras. Detectou-se 6 tipos de colônias bacterianas e 8 tipos de colônias fúngicas filamentosas diferentes e suas características macroscópicas foram analisadas conforme especificações descritas por Neder (1999).

As análises microscópicas deram-se através de coloração de gram, para bactérias, e microcultivo, para fungos filamentosos.

Todas as colônias bacterianas encontradas apresentaram-se gram positivas. Após a microscopia diagnosticou-se que 4 dos exemplares são células com morfologia denominada cocos e arranjo estafilo, um dos exemplares também são cocos mas com arranjo diplo e para o último exemplar foram detectados bastonetes curvos sem arranjo (as células apresentam-se isoladas).

A análise dos microcultivos teve por objetivo encontrar os corpos de frutificação dos fungos para sugerir alguns dos gêneros encontrados através de comparações com imagens de Mazza et al (2001) e Barnet & Hunt (1998). Segundo estas comparações sugere-se que os exemplares encontrados possam pertencer aos gêneros *Cladosporium sp.*, *Floccosum sp.*, *Blastomyces sp.*, *Helicocephalum sp.*, *Aspergillus sp.* e *Gliomastix sp.* Sendo que alguns dos fungos assemelham-se a mais de um gênero e outros não foi possível a visibilização de seu corpo de frutificação.

Com base no Bergey's Manual (2001), e comparando os resultados das provas bioquímicas feitas com as colônias bacterianas, concluiu-se que as células com formato de

cocos podem pertencer aos gêneros *micrococcus sp.* ou *staphylococcus sp.*, as células com formato de bastonetes curvos podem pertencer ao gênero *Clavibacter sp.* ou *Corynebacterium sp.*

Os resultados da avaliação da eficiência dos sanitizantes estão descritos nas Tabelas 3 e 4.

TABELA 3. Verificação do crescimento das bactérias isoladas após contato com diferentes sanitizantes em diferentes tempos.

Sanitizante	Bactéria	UFC				
		Tempo (minutos)				
		5	10	15	30	45
Álcool 70%	Preta (142±5,0*)	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA**
	Irregular (156±1,4*)	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
Hipoclorito de sódio 2,5%	Preta	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
	Irregular	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
Glutaraldeído 2%	Preta	NA	NA	<1,0	<1,0	<1,0
	Irregular	NA	NA	<1,0	<1,0	<1,0
Ácido peracético+ peróxido de hidrogênio 0,2%	Preta	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
	Irregular	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA

* Tempo zero (controle)

**NA: Não avaliado

TABELA 4. Verificação do crescimento dos fungos isolados após contato com diferentes sanitizantes em diferentes tempos.

Sanitizante	Fungo	UFC/ml				
		Tempo (minutos)				
		5	10	15	30	45
Álcool 70%	Amarelo esverdeado (14,5±0,7*)	1,5±0,7	<1,0	<1,0	NA	NA**
	Branco (9±1,4*)	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
Hipoclorito de sódio 2,5%	Amarelo esverdeado	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
	Branco	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
Glutaraldeído 2%	Amarelo esverdeado	NA	NA	<1,0	<1,0	<1,0
	Branco	NA	NA	<1,0	<1,0	<1,0
Ácido peracético+ peróxido de hidrogênio 0,2%	Amarelo esverdeado	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA
	Branco	<1,0	<1,0	<1,0	NA	NA

* Tempo zero (controle)

**NA: Não avaliado

O único microrganismo que apresentou sobreviventes, foi um dos fungos testados com o álcool 70% no tempo de 5min. O crescimento, apesar de baixo, demonstra que o álcool 70% não é totalmente eficiente para determinados tipos de fungos.

O tempo de redução decimal, que é o tempo necessário para se reduzir 90% da população inicial, determinado por Mazzola et al (2003), foi no máximo de 25 min de contato com o glutaraldeído 2% e 5 min para o ácido peracético + H₂O₂ 0,2%, sendo este tempo 3 vezes maior que o determinado para os organismos mais resistentes testados por Mazzola et al (2003). Estes dados confirmam que os testes realizados possuem resultados coerentes.

A aplicação dos sanitizantes não foi realizada no próprio local como realizado por Yassaka (2007), pois após aplicados os sanitizantes até o tempo para a próxima coleta poderia haver uma precipitação de células existentes na atmosfera alterando os resultados.

CONCLUSÃO

A maior densidade dos microrganismos em 150 cm² dos principais equipamentos e da atmosfera da sala de Radiologia em estudo foi de bactérias heterotróficas.

A análise macroscópica realizada com os microrganismos encontrados permitiu a caracterização de seis colônias bacterianas e oito tipos de colônias fúngicas, identificadas de acordo com pigmentação e textura apresentados. A análise microscópica dos isolados bacterianos, através da coloração de Gram, revelou a predominância de cocos Gram + com arranjos estafilo.

Os resultados das provas bioquímicas possibilitaram estabelecer uma relação com os gêneros *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Clavibacter sp.*, *Mobiluncus sp.* e *Corynebacterium sp.*;

Os quatro produtos avaliados, dois já utilizados pelo hospital (álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5%) e os dois sanitizantes alternativos ácido peracético+H₂O₂ 0,2% e glutaraldeído

2%) apresentaram-se eficientes como agentes sanitizantes e/ou desinfetantes para a microbiota selecionada e isolada a partir da sala de exames do setor de Radiologia em seus principais equipamentos.

REFERÊNCIAS

ANVISA: **Aspectos da Segurança no Ambiente Hospitalar**. 2003 Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/manual_seg_hosp.htm > acesso em: 15/03/2006.

BARNETT, H.L.; HUNTER, H.H. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. 4th Edition. The American Phytopathological Society, 1998.

BLACK. J. G. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002, 829p.

BLUME, S.I.; RIBEIRO, G.A. **Qualidade sanitária de talheres e pratos utilizados no restaurante escola da universidade federal de Pelotas - UFPEL**. Anais do XV Congresso de Iniciação Científica em Pelotas. 2006 [acessado em: 10/05/2008] CB_01064 disponível em: www.ufpel.edu.br/cic/2006/arquivos/CB_01064.rtf

GRAZIANO K. U. **Limpeza, desinfecção e esterilização de materiais de uso hospitalar**. 2003 Disponível em: <<http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2029/paginas/materia%2016-29.html>> acesso em: 18/10/2007

HOEFEL, H. H. K. et al. **Controle e prevenção de infecções: Desinfecção**. 1999. Disponível em: < www.cih.com.br/desinfetantes.htm#d4 > acesso em 10/06/08

HOLT, J.G. *et al.* **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9th edition. Baltimore: Williams & Wilkings, 2000.

MAZZA, L.M.; PEZZLO, M.T.; BARON, E.J. **Atlas de diagnóstico em Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2001.

MAZZOLA, P.G.; PENNA, T.C.V. Martins AMS. **Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes**. Biomed central [internet]. 2003 Outubro. [acessado em: 20/05/2008] doi:10.1186/1471-2334-3-24 disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/3/24> NEDER, R.N. **Microbiologia: manual de laboratório**. São Paulo: Nobel, 1992.

RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. **Microbiologia Prática Roteiro e manual, bactérias e fungos**. 4ª reimpresão da 1ª edição. São Paulo: Atheneu, 2005.

ROMANO C. J. e QUELHAS F. C. M. **Esterilização por glutaraldeído**. 1998. Disponível em: <<http://www.hospvirt.org.br/enfermagem/port/glutar.html>> acesso em: 17/10/2007

SANTOS, A. A. M, et al. **Importancia do álcool no controle de infecções em serviços de saúde**. 2002. Disponível em <[\[alcool.pdf\]\(#\)> acesso em 27/06/08.](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/controle_</p>
</div>
<div data-bbox=)

SANTOS, L.C. **Laboratório Ambiental-UNIOESTE**. Cascavel: Editora e gráfica Universitária. 1999.

SOUZA, J. B. **Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de E. coli, colifagos e C. perfringens em água com elevada concentração de matéria orgânica**. Eng. Sanit. Ambient. vol.10 no.2 Rio de Janeiro Abr/Jun 2005

SREBERNICH, S. M. **Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado**. Ciênc. Tecnol. Aliment. Vol. 27 no.4 Campinas Out/Dez. 2007

TORTORA, G.J. *et al.* **Microbiologia**. 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2000.

YASSAKA, C. **Análise qualitativa e quantitativa dos microrganismos presentes em ambientes de ensino**. VI Seminário de iniciação científica da UTP, 2007 Novembro [acessado em 15/05/2008]. disponível em: http://www.utp.br/proppe/V%20seminario_iniacao/AN%C1LISE%20QUALITATIVA%20E%20QUANTITATIVA%20DOS%20MICROORGANISMOS....doc