

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Solange Alves da Silva Costa

**EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA E
ESTABILIDADE FÍSICA DE SOLUÇÕES DE
ÁCIDO PERACÉTICO NO PROCESSO DE
DESINFECÇÃO TERMINAL**

Taubaté - SP
2010

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Solange Alves da Silva Costa

**EFETIVIDADE ANTIMICROBIANA E
ESTABILIDADE FÍSICA DE SOLUÇÕES DE
ÁCIDO PERACÉTICO NO PROCESSO DE
DESINFECÇÃO TERMINAL**

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
graduação em Odontologia do Departamento
de Odontologia da Universidade de Taubaté.
Área de Concentração: Biologia Odontológica
Orientadora: Profa. Dra. Silvana Soléo Ferreira
dos Santos

Taubaté - SP
2010

SOLANGE ALVES DA SILVA COSTA

Data: _____

Resultado: _____

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho à minha família

Meus pais - por sempre acreditarem que o céu será o meu limite e pelo suporte que dão em minha vida;

Meu esposo - por ser o meu porto seguro, onde renovo sempre minhas energias, pelo apoio e pelo grande companheiro em minha vida;

Minhas filhas - Sabrina e Bianca por serem a motivação da minha existência, por acreditarem que sou capaz e pelo enorme amor que nos envolve. Amo muito vocês.

Meus irmãos - por se fazerem presentes em minha vida pelo apoio e companheirismo que nos une.

Meus sobrinho e sobrinhas - por trazerem alegria, esperança, amor e garantirem o futuro da nossa família.

Meu sogro e sogra - por saber que posso contar com as suas interseções ao Pai Celeste. Obrigada pelo exemplo da castanheira.

AGRADECIMENTOS

Começo pelo grande mantenedor do Universo DEUS, por permitir mais esta conquista em minha vida.

A meus pais Raul e Lourdes, meu esposo, Samuel Jorge, companheiro e amigo, minhas filhas, Sabrina e Bianca, por me ensinarem que a vida só vale a pena quando temos sonhos e os tornamos realidades, meus irmãos Ana, Rosângela, Samuel e Sulamita, meus cunhados Barbosa, César e Ray e Raimundo (*in memoriam*), minha cunhada Márcia e com muito carinho aos meus sobrinho e sobrinhas.

A Maria Augusta Ramanhaes, por ser minha amiga em todos os momentos e também pelos que ainda virão. Amigos verdadeiros são raros como você, te amo.

A professora doutora Ana Cristina Claro Neves, coordenadora do Mestrado em Odontologia da Universidade de Taubaté, por me dar a oportunidade de ver a vida de maneira diferente e mostrar que mesmo durante a dificuldade somos capazes de tirar do coração a esperança do amanhã.

A todos os professores do curso de Mestrado em Odontologia da Universidade de Taubaté, sintam-se homenageados através da professora doutora Edna Maria Querido de Oliveira Chamon que nos ensinou que ser professor é aprender com nossos alunos, e que os melhores momentos do ser professor estão em nos tornamos alunos. Quando nos esquecemos do brilho de nossa própria estrela e passamos a admirar o brilho dos nossos alunos.

Aos amigos verdadeiros que fiz ao longo deste curso.

Aos auxiliares docentes Ivan da Silva de Faria e Jane Rose Dias Dionisio Rodrigues e aos funcionários do laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté Cristiane de Moura e Marisa Fátima Santos Silva e às alunas do curso de Biologia Olivia e Carolina, por todo auxílio para a execução da metodologia deste trabalho.

Ao professor doutor Davi Aquino pela análise estatística dos dados obtidos no trabalho

A SEMPER, na pessoa do Dr. Silvio Sakuno, pelo interesse pela pesquisa e doação do ácido peracético Proxitane Alfa®.

Ao Felipe Soléo Ferreira dos Santos, filho da minha orientadora, que me ensinou que não importam quais são as nossas limitações, sempre somos capazes de sonhar e tirar lições para toda nossa existência. Obrigada pelo exercício de paciência.

Enfim, a minha orientadora professora doutora Silvana Soléo Ferreira dos Santos, por todo o empenho para que este trabalho pudesse ser concluído.

Costa SAS. Efetividade antimicrobiana e estabilidade física de soluções de ácido peracético no processo de desinfecção terminal [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2010. 51p.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a efetividade antimicrobiana e estabilidade física de duas formulações de ácido peracético no processo de desinfecção terminal estabilidade de ácido peracético no processo de desinfecção terminal. **Metodologia:** Corpos-de-prova em aço inoxidável foram contaminados com *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, sangue e saliva e depois imersos em ácido peracético (Sekusept Aktiv® 2% ou Proxitane Alfa® 0,25%) por dez, 15 e trinta minutos e depois colocados em solução de tiosulfato de sódio, agitados e a suspensão obtida semeada em meios seletivos e enriquecido para contagem de unidades formadoras de colônia. Este procedimento foi realizado seis vezes ao dia por 24 dias não consecutivos. Corpos-de-prova contaminados e não submetidos à desinfecção foram utilizados para controle. Foram monitorados a temperatura ambiente, pH e concentração das soluções desinfetantes. **Resultado:** A concentração de ácido peracético na solução Sekusept Aktiv® (SA) variou de 250mg/mL a indetectável e seu pH se manteve estável (pH 5,0) e para a solução Proxitane Alfa® (PA) a concentração variou entre 500 e 400mg/mL e o pH de 2,0 a 3,0. A temperatura ambiente durante o experimento foi superior ($p= 0,0230$) à temperatura de armazenamento. As duas formulações de ácido peracético reduziram o número de micro-organismos ($p= 0,0001$). SA demonstrou diminuição do potencial inibitório após o quarto dia e PA manteve este potencial durante todo o período experimental. A redução microbiana, para cada produto, não diferiu significativamente nos diferentes tempos de exposição. **Conclusão:** O ácido peracético Proxitane Alfa® demonstrou estabilidade superior, mantendo sua efetividade no processo de desinfecção terminal por doze dias consecutivos, enquanto o Sekusept Aktiv® demonstrou esta habilidade por somente quatro dias.

Palavras-chave: Ácido peracético; Estabilidade; Desinfecção.

Costa SAS. Antimicrobial effectiveness and physical stability of peracetic acid solutions in the terminal disinfection process [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2010. 51p.

ABSTRACT

Aim: To evaluate the antimicrobial effectiveness and physical stability of two formulations of peracetic acid in the terminal disinfection process. **Methods:** Stainless steel specimens were contaminated with *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, blood and saliva and then immersed in peracetic acid (Sekusept Aktiv®2% or Proxitane Alpha® 0.25%) for ten, 15 and thirty minutes and then mixed in sterile of sodium thiosulfate solution. The obtained suspensions were plated on selective and enriched media for counting colony forming units. This procedure was performed six times a day, for 24 non-consecutive days. Not contaminated specimens were used as control. Room temperature, pH and concentration of solutions were also investigated. **Results:** The concentration of peracetic acid in the Sekusept Aktiv® (SA) solution ranged from 250mg/ml to undetectable and its pH remained stable (pH 5.0) and for Proxitane Alpha® (PA) solution, the concentration ranged between 500 and 400mg/ml and pH between 2.0 to 3.0. The temperature during the experiment was higher ($p = 0.0230$) than the storage temperature. Both formulations of peracetic acid reduced the number of microorganisms ($p = 0.0001$). SA showed decreasing inhibitory potential after four days and PA maintained its potential throughout the experiment period. The microbial reduction for each product did not differ in the different times of exposition. **Conclusion:** Proxitane Alpha® peracetic acid showed higher stability, keeping its disinfection effectiveness for twelve consecutive days, while Sekusept Aktiv® showed this ability for only for four days.

Keywords: Peracetic acid; Stability; Disinfection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Corpos-de-prova em aço inoxidável	24
Figura 2 -	Sequência para o preparo da suspensão contaminante: (A) Preparo das suspensões microbianas, (B) suspensões microbianas preparadas, (C) sangue, (D) saliva em coletor universal esterilizado descartável e (E) corpos de prova esterilizados e suspensão contaminante	26
Figura 3 -	Corpos-de-prova imersos na suspensão contaminante	26
Figura 4 -	Meios de cultura utilizados para contagem de micro-organismos no controle da contaminação dos corpos-de-prova. Da esquerda para a direita: ágar BHI, manitol salgado, MacConkey e Sabouraud com cloranfenicol	27
Figura 5 -	Corpos-de-prova imersos em soluções de ácido peracético	28
Figura 6 -	Verificação do pH, concentração do ácido peracético e temperatura do ambiente no início e final do experimento diário (A), fitas indicadora de ácido peracético Merckoquant 100-500, Merck (B) e fitas indicadoras de pH Macherey-Nagel (C)	30
Figura 7 -	Médias da variação diária da temperatura de armazenamento, inicial, máxima e final do ambiente	33
Figura 8 -	Variação na concentração do ácido peracético das marcas Proxitane® Alfa e Sekusept®, durante o período experimental	34

- Figura 9 - Variação do pH do ácido peracético das marcas Proxitane® Alfa e Sekusept®, durante o período experimental 34
- Figura 10 - Variação no potencial de inibição microbiana do produto Sekusept® active, ao longo dos dias do experimento (*teste *Mann-Whitney*, onde $p < 0,05$) 38
- Figura 11 - Variação no potencial de inibição microbiana do produto Sekusept® active, considerando os tempos de exposição de 10, 15 ou 30 min (teste *Kruskal-Wallis*, onde $p=0,5008$) 40
- Figura 12 - Variação no potencial de inibição microbiana do produto Proxitane® alfa, ao longo dos dias do experimento (teste *Mann-Whitney*, onde $p > 0,05$) 41

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Temperaturas de armazenamento do ácido peracético e temperatura ambiente inicial, máxima e final a cada dia do experimento 32
- Tabela 2 - Média, mediana e desvio padrão para a contagem total de micro-organismos do controle do experimento, onde as unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) estão expressos em logaritmo (Log) de base 10 35
- Tabela 3 – Unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL), expressos em logaritmo (Log) de base 10, para o ácido cítrico, considerando-se o tempo de exposição (em minutos) e o número de repetições do experimento em um mesmo dia 36
- Tabela 4 - Contagem total de micro-organismos após exposição ao ácido peracético da marca e Sekusept active (SA) considerando as repetições em cada tempo de exposição em cada dia do experimento, onde as unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) estão expressos em logaritmo (Log) de base 10 37
- Tabela 5 - Contagem total de micro-organismos após exposição ao ácido peracético da marca Proxitane alfa (PA) considerando as repetições em cada tempo de exposição em cada dia do experimento, onde as unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) estão expressos em logaritmo (Log) de base 10 39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISAO DA LITERATURA	14
2.1 RISCOS DE TRANSMISSÃO DE AGENTES INFECCIOSOS POR INSTRUMENTAIS	14
2.2 DESINFECÇÃO TERMINAL	16
2.3 GLUTARALDEÍDO	18
2.4 ÁCIDO PERACÉTICO	19
3 PROPOSIÇÃO	23
4 METODOLOGIA	24
4.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA	24
4.2 PREPARO DAS SUSPENSÕES MICROBIANAS	24
4.3 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DE SALIVA E SANGUE	25
4.4 CONTAMINAÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA	25
4.5 CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO	27
4.6 DESINFECÇÃO	28
4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICO DA EFETIVIDADE DOS PRODUTOS	28
4.8 ANALISE FÍSICA DOS PRODUTOS	29
4.9 CONTROLE DA AÇÃO DA ACIDEZ SOBRE OS MICRO-ORGANISMOS	30
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5 RESULTADOS	32
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Na Odontologia, assim como nas demais áreas da saúde, os instrumentos utilizados na prática clínica estão constantemente expostos à contaminação por micro-organismos.

A esterilização deve ser a conduta para o controle de infecção cruzada por instrumentais, entretanto, é necessário que seja realizado o correto processamento do instrumental contaminado antes da esterilização, para a redução de sujidades e resíduos orgânicos, e conseqüentemente redução do risco de infecção ocupacional (Ministério da Saúde, 2000).

Dettenkofer & Block (2005), em estudo sobre medidas de segurança na área da saúde, relataram que a realização de desinfecção química dos instrumentais é uma eficiente medida de segurança contra doenças infecciosas.

De acordo com Lipscomb et al. (2007) a contaminação bacteriana e transmissão de *prions* via instrumental cirúrgico, já foi detectado experimentalmente. Desta forma, a remoção de todo material protéico nos procedimentos de desinfecção e lavagem, prévios à esterilização, é extremamente importante para esterilização efetiva dos instrumentais. No entanto, a desinfecção pré-lavagem, que utiliza a imersão do instrumental em agentes desinfetantes, este um assunto permanece pouco estudado na literatura

O glutaraldeído, produto normalmente utilizado na desinfecção pré-lavagem, embora seja um desinfetante de elevada efetividade, apresenta toxicidade ao epitélio nasal. Apesar de ser considerada uma substância não-carcinogênica após a

inalação, sua toxicidade inerente é um fator limitante, uma vez que os aldeídos presentes na sua fórmula produzem danos, particularmente nas proteínas envolvidas no controle de diferenciação celular, diminuindo o potencial para reparação dos ácidos nucleicos (McGregor et al., 2006).

Tendo em vista a toxicidade do Glutaraldeído e a preservação da saúde dos trabalhadores e usuários de serviços de saúde, a Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, em fevereiro de 2007, limitou o uso deste produto (São Paulo, 2007).

A limitação para a utilização do Glutaraldeído nos serviços de saúde despertou o interesse de pesquisadores na busca de um produto não tóxico que pudesse ser utilizado com a mesma finalidade.

Neste sentido, é crescente o número de pesquisas utilizando o ácido peracético, produto liberado no Brasil para uso como desinfetante e esterilizante desde 1988 (Brasil, 1988).

O ácido peracético é considerado um agente biocida potente, mesmo em baixas concentrações (0,0001% a 0,2%). Apresenta como principais vantagens o fato de permanecer ativo mesmo na presença de matéria orgânica, apresentar como produto de decomposição substâncias não tóxicas e não-mutagênicas (ácido acético e oxigênio), possuir baixa dependência de pH e necessitar de pouco tempo de contato para promover uma efetiva desinfecção (Kunigk & Almeida, 2001; Wutzler & Sauerbrei, 2004; Bore & Langsrud, 2005).

A necessidade de definir parâmetros para a utilização correta do ácido peracético como desinfetante pré-lavagem, nos estimulou a desenvolver este trabalho que avaliou a estabilidade deste produto químico durante o processo de desinfecção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Desde os primórdios das atividades referentes à área de saúde, o ser humano tem-se batido com o fator infecção, sendo frequentemente derrotado. Essas derrotas, porém, vêm, através da história, diminuindo em número devido às atenções que gradualmente foram sendo dispensadas à limpeza, à higiene, às boas condições ambientais e alimentares, evoluindo para a desinfecção e a esterilização de materiais hospitalares, entre outros fatores não menos importantes (Meireles & Costa, 1994).

2.1 RISCOS DE TRANSMISSÃO DE AGENTES INFECCIOSOS POR INSTRUMENTAIS

A prática da odontologia abrange uma grande variedade de procedimentos, que podem incluir desde um simples exame até uma cirurgia mais complexa. Estes procedimentos geralmente implicam em contato com secreções da cavidade bucal, algumas vezes representados simplesmente pelo contato com saliva, outras vezes pelo contato com sangue, secreções respiratórias e aerossóis. Isto tudo acaba resultando em possibilidade de transmissão de infecções, tanto de paciente para paciente, como dos profissionais para pacientes ou dos pacientes para os profissionais. Efetivas medidas de controle de infecção visam quebrar ou minimizar o risco de transmissão de infecções na prática da odontologia. Revisões sobre o assunto e recomendações de consenso têm sido publicadas, em diferentes países e

estados do Brasil, no sentido de orientar os profissionais nessa prática (Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar, 2000; Tripple et al., 2004)

Biofilme é a formação de colônias bacterianas organizadas, sobre uma superfície úmida, envoltas por uma matriz. Essa matriz é composta principalmente de polissacarídeos que facilitam a adesão na superfície. Os micro-organismos do biofilme, se não removidos, podem ser transferidos para o paciente por meio de instrumentais durante procedimentos invasivos (Vickery et al., 2004).

Segundo Murdoch et al. (2006) a presença de resíduos de tecidos biológicos e outros fluidos corporais pode resultar na formação de camadas de matéria orgânica, que podem ser mais difíceis de serem removidas e esta situação é exacerbada pela formação de biofilme.

Procedimentos invasivos, ou seja, aqueles que envolvem o contato entre um dispositivo médico ou odontológico com a mucosa ou tecido subcutâneo de um paciente, representam um importante risco para a introdução de micro-organismos patogênicos e desenvolvimento de infecção. A observação de procedimentos adequados de lavagem, desinfecção e esterilização de equipamentos e instrumentais reutilizáveis são recomendações para melhorar as práticas em serviços de saúde, reduzindo assim a aquisição de infecções associadas a instrumentais contaminados (Harte & Molinari, 2007).

Para Dettenkofer & Spencer (2007), medidas preventivas podem garantir que a saúde dos pacientes e dos profissionais da área da saúde não seja colocada em risco. A desinfecção do instrumental, prévia a limpeza adequada, reduz o risco de contaminação.

A sobrevivência de micro-organismos em superfícies e instrumentais cirúrgicos estão relacionados com a transmissão iatrogênica de agentes causadores de infecções hospitalares, que levam a cerca de noventa mil mortes por ano. O efetivo reprocessamento dos instrumentais pode interferir nesse problema (Lipscomb et al., 2007, Howie et al., 2008).

Um item essencial na redução do risco de contaminação de profissionais da saúde, em especial os Cirurgiões-dentistas, diz respeito a desinfecção do instrumental, logo após o seu uso, antes de serem lavados.

2.2 DESINFECÇÃO TERMINAL

O termo descontaminação se refere à primeira etapa de um processo de esterilização ou desinfecção. Também denominada desinfecção prévia ou desinfecção terminal, é realizada pela imersão de materiais médico-odontológico com presença de matéria orgânica, micro-organismos e outros resíduos decorrentes do uso, em uma solução desinfetante por um período de tempo de exposição, objetivando a eliminação ou redução dos micro-organismos presentes, antes de submetê-los à limpeza mecânica com água e sabão, com vistas a minimizar os riscos ocupacionais (Souza et al., 1998).

Descontaminação é o termo usado para descrever um processo ou tratamento que torna um material odontológico ou hospitalar, instrumento ou superfície, seguro para o manuseio e uso. Um processo de descontaminação não

significa, necessariamente, que este material está seguro para sua utilização no paciente (Block, 1991; Gilmour, 2008).

Na prática clínica, após o uso, o instrumental deve ser imerso em solução desinfetante (desinfecção terminal), para então ser submetido à limpeza mecânica com água e sabão. Somente depois destes procedimentos, os instrumentais serão destinados à guarda, desinfecção ou esterilização, conforme a indicação de uso de cada um (Stier et al., 1995; Souza et al., 1998).

Os métodos de desinfecção empregados na prática odontológica se resumem na desinfecção química, através de desinfetantes líquidos. A decisão para a escolha de um desinfetante deveria levar em consideração aspectos que envolvam efetividade, toxicidade, compatibilidade, efeito residual, solubilidade, estabilidade, odor, facilidade de uso e custos, entre outros (Apecih, 2000). Além disso, é importante que o desinfetante seja recomendado e aprovado pelo Ministério da Saúde.

A efetividade dos procedimentos de desinfecção de instrumentais na etapa pré-lavagem, visando à diminuição de agentes contaminantes oriundos principalmente de saliva e sangue, está relacionada com uma adequada seleção do agente químico. Para tanto, o produto selecionado deve realizar, efetivamente a desinfecção, sem alterar a superfície do material e sem ser tóxico para o manipulador (Silva et al., 2004).

Dettenkofer & Block (2005), em estudo sobre medidas de segurança na área da saúde, enfatizam que a realização de desinfecção química dos instrumentos metálicos é notadamente eficaz como medida de segurança contra o contágio de doenças infecciosas na área da saúde.

Para Silva et al. (2008) a presença de matéria orgânica (sangue ou secreções) pode interferir com a atividade antimicrobiana dos desinfetantes ou mesmo constituir uma barreira física de proteção aos micro-organismos durante os processos de desinfecção e/ou esterilização por meios físicos ou químicos.

2.3 GLUTARALDEÍDO

Nos Estados Unidos, o limite de exposição ao Glutaraldeído é de 0,2ppm por, no máximo, dez minutos. Acima deste período, mesmo nesta concentração, o Glutaraldeído é irritante para os olhos, nariz e garganta. Devido a sua toxicidade, os profissionais que o manipulam são orientados a utilizar equipamentos de proteção individual (EPI), tais como avental, luvas de nitrila ou dupla luva de látex, óculos de proteção e máscara com filtro químico N-95 (Takigawa & Endo, 2006).

Seu efeito tóxico e irritativo, principalmente à mucosa respiratória, aumenta quando utilizado em ambientes com baixa ventilação. Além disso, a solução de Glutaraldeído agrega proteínas, tornando indispensável à limpeza cuidadosa do instrumental para a remoção dos resíduos antes da desinfecção (McGregor et al., 2006).

Apesar de ser um desinfetante de alto nível largamente utilizado, em fevereiro de 2007 a Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo limitou o uso deste produto em serviços de saúde (São Paulo, 2007).

Os sinais e sintomas relacionados à negligência no uso de óculos protetores e máscara com filtro químico são: prurido, manchas no corpo, falta de ar e edema de

face. Um fator de grande preocupação é que, na maioria das vezes, o profissional da saúde não associa estes sinais e sintomas com o uso do produto, dificultando o diagnóstico precoce, o que agrava o quadro clínico (Santana et al., 2009).

2.4 ÁCIDO PERACÉTICO

Freer e Novy em 1902 observaram a ação antimicrobiana do ácido peracético (AP), abrindo campo para novas pesquisas e a possibilidade da utilização em âmbito hospitalar. Greenspan e Marguiles em 1950 patentearam o AP e, em 1955, o lançaram no mercado como um produto que atuava como germicida no tratamento de frutas e vegetais. É um produto que mostra excelente armazenamento quando é preparado a partir de 90% de peróxido de hidrogênio, apresentando 75% de peróxido de hidrogênio remanescente após quarenta e nove dias em temperatura ambiente em uma preparação estabilizada (Block, 1991).

Para o AP em solução aquosa foram verificadas três potenciais reações de decomposição: espontânea, hidrólise e decomposição catalisada por metais de transição, que são responsáveis pelo consumo de ácido peracético. A reação de decomposição segue uma cinética de segunda ordem com taxa máxima em pH 8,2 (Greenspan, 1946).

De acordo com Kitis (2004) o pH na faixa de 5,5 a 8,2 resulta na decomposição espontânea em ácido acético e oxigênio.

A temperatura também pode influenciar na estabilidade do AP com constantes de velocidade de decomposição entre $1,71 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ para 25°C, $3,73 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ para

35°C, $5,38 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ para 40°C e $9,64 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ para 45°C, ou seja, o ácido peracético demonstra maior eficácia a 25°C, enquanto o aumento da temperatura para 45°C provoca rápida decomposição do produto (Kunigk et al., 2001).

O AP apresenta vantagens sobre o hipoclorito de sódio, desinfetante mais utilizado no Brasil, entre elas está o seu processo de decomposição que gera ácido acético, peróxido de hidrogênio, oxigênio e água. As proteínas não afetam sua eficiência e nenhuma resistência microbiana a este desinfetante foi observada. É compatível com aço inoxidável, vidro, Teflon®, Viton®, silicone e alguns tipos de borracha e incompatível com álcalis, ferrugem, ferro, cobre e níquel (Kunigk & Almeida, 2001).

Sua atividade desinfetante é baseada oxidação dos constituintes celulares, ou seja, na liberação de oxigênio ativo que interage com ligações de enxofre nas proteínas, enzimas e outros metabólitos dos micro-organismos. Também interrompe a função osmótica, o transporte por lipoproteínas da membrana citoplasmática e causa deslocamento ou ruptura da parede celular, desta forma, facilitando sua ação contra micro-organismos Gram-negativos. A sua ação na desnaturação de proteínas ajuda a explicar suas características esporicida e ovicida. Age também sobre as bases da molécula de DNA, além de inativar a catalase, uma enzima que neutraliza a ação dos radicais livres de hidroxila (Kitis, 2004).

A ação do AP foi testada sobre esporos de *Bacillus thermoacidurans* e outros germes não esporulados, comprovando sua eficiência como esporicida (Borges, 2005).

Segundo Chassot et al. (2006) o AP, usado como desinfetante de resinas acrílicas, demonstrou ser mais eficaz que o Glutaraldeído e o hipoclorito de sódio, por não deixar resíduos tóxicos.

Baggio et al. (2007) afirmaram em seu trabalho que a reprodução de impressões intrabucais deve ser fiel, porém a contaminação do molde pode disseminar as principais doenças infecto-contagiosas, entre todos que o manuseiam. Desta forma, é necessário o uso de um produto que não cause distorção das impressões e haja sobre diversos agentes infectantes, ou seja, amplo espectro de ação. Dentre os agentes desinfetantes testados pelos autores, o AP apresentou desempenho superior.

Em trabalho realizado por Silva et al. (2008), para *S. aureus* sedimentados sobre superfície de aço inoxidável, foi necessário um tempo de contato do AP três vezes maior do que quando esses micro-organismos estavam em suspensão.

Segundo Finnegan (2010) existem várias formulações comerciais de AP não corrosivo e que apresentam rápida ação sobre micro-organismos, o que facilita seu uso em instrumental cirúrgico e odontológico.

Lorena et al. (2010) observaram em seu experimento que o *Mycobacterim massiliense* BRA100 foi resistente a altas concentrações de glutaraldeído (até 7%), o que demonstrou a ineficácia deste composto na presença desse micro-organismo, mas foi sensível ao ácido peracético em baixas concentrações. Os autores sugeriram que esse composto seja substituído pelo ácido peracético nos processos de desinfecção de alto nível.

A literatura revisada nos mostra o empenho dos pesquisadores na busca de parâmetros que norteiam o uso de desinfetantes, em especial na área de saúde, para que haja uma melhor aplicação dos mesmos.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade antimicrobiana e estabilidade física de duas formulações de ácido peracético no processo de desinfecção terminal.

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA

Para este experimento foram utilizados corpos-de-prova (CP) de aço inoxidável, com cinco centímetros de comprimento e dois milímetros de diâmetro (Figura 1). Todos os CP foram esmerilhados para adquirir ranhuras e tiveram os cantos arredondados com auxílio de lixadeira (DPU 10, Panambra industrial e técnica S/A, São Paulo, São Paulo, Brasil).



Figura 1 – Corpos-de-prova em aço inoxidável

4.2 PREPARO DAS SUSPENSÕES MICROBIANAS

A partir de culturas de 24h de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) em ágar manitol salgado (Oxoid, Hampshire, England) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) em

ágar MacConkey (Oxoid), foram preparadas suspensões em solução salina (NaCl 0,9%) esterilizada, com turvação compatível ao padrão 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ células por mililitro).

A partir de cultura de 24h de *Candida albicans* (ATCC 18804) em ágar Sabouraud (Difco, Detroit, EUA), foi preparada uma suspensão em solução salina (NaCl 0,9%) esterilizada, com turvação compatível ao padrão um da escala de McFarland (aproximadamente 3×10^8 células por mililitro).

4.3 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS DE SALIVA E SANGUE

Para cada dia do experimento foram coletados aproximadamente 5mL de saliva, do pesquisador, em coletor universal esterilizado descartável (J Prolab, São José do Pinhais, PR, Brasil).

O sangue, utilizado na pesquisa, foi obtido de uma mesma bolsa de sangue proveniente de bolsas de doadores do Hemonúcleo de Taubaté, as quais não haviam sido utilizadas para transfusão por apresentarem anticorpos clinicamente significativos contra antígenos eritrocitários.

4.4 CONTAMINAÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA

Em um Becker esterilizado com capacidade para 150mL foram adicionados 4 mL de cada suspensão microbiana, 2mL de saliva, e 0,4mL de sangue, obtendo-se assim a suspensão contaminante (Figura 2).

A cada ciclo do experimento, seis por dia, 12 CP foram imersos na suspensão contaminante, recém preparada, por trinta minutos (Figura 3). Exceção para o primeiro experimento de cada dia, onde 14 CP eram contaminados, pois dois seguiam para o controle da contaminação (item 4.5).



Figura 2 – Sequência para o preparo da suspensão contaminante: (A) Preparo das suspensões microbianas, (B) suspensões microbianas preparadas, (C) sangue, (D) saliva em coletor universal esterilizado descartável e (E) corpos de prova esterilizados e suspensão contaminante

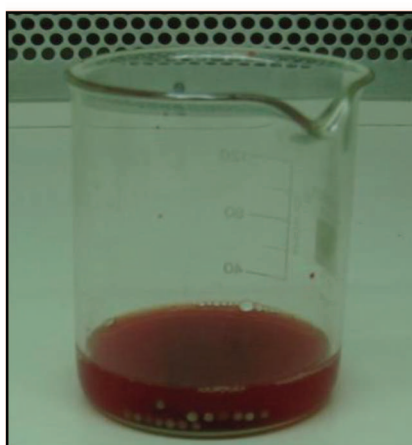


Figura 3 – Corpos-de-prova imersos na suspensão contaminante

4.5 CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO

Após a contaminação dos CP do primeiro experimento de cada dia (n=14), dois CP foram transferidos com auxílio de pinça esterilizada para tubos de ensaio contendo pérolas de vidro (n=20) e 8mL de água destilada esterilizada adicionada de solução neutralizante específica (tiosulfato de sódio, Na₂S₂O₃, VETEC, em concentração de 2g/L baseado em Kunigk & Almeida (2001) e agitados em Vortex (Vortex, Phoenix, Araraquara, SP, Brasil) por um minuto.

Da suspensão obtida, 100µL foram semeados, em duplicata, em ágar BHI (Brain Infusion Heart, Difco, Detroit, EUA), ágar manitol salgado (Oxoid Hampshire, England), ágar MacConkey (Oxoid) e ágar Sabouraud (Oxoid) adicionado de 0,1mg/mL de cloranfenicol (Quemicetina Succinato/ Carlo Erba[®], Milano, MI, Itália), para contagem total dos microrganismos e para as espécies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, respectivamente (Figura 4 e Tabela 2, em Resultados).

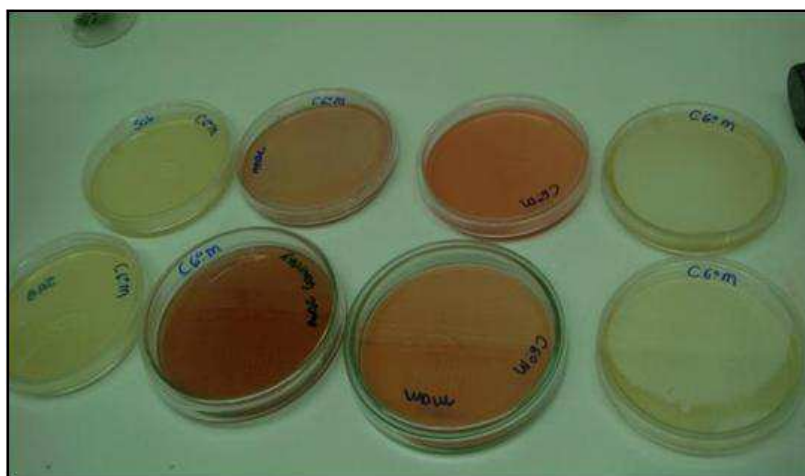


Figura 4 - Meios de cultura utilizados para contagem de microrganismos no controle da contaminação dos corpos-de-prova. Da esquerda para a direita: ágar BHI, manitol salgado, MacConkey e Sabouraud com cloranfenicol

4.6 DESINFECÇÃO

Após a contaminação, seis CP foram transferidos, com auxílio de pinça esterilizada, para 100mL de solução líquida constituída por ácido peracético 0,25%, (peróxido de hidrogênio e veículo estabilizante, Proxitane® Alfa, Thech Desinfecção Ltda., SP) e outros seis CP para 100mL de solução a 2% preparada com um produto em pó a base de ácido peracético (Sekusept Aktiv, Henkel-Ecolab, Alemanha) e água destilada esterilizada. As soluções foram colocadas em vasilhas plásticas com tampa (Plasvale) com capacidade para 250mL (Figura 5).



Figura 5 – Corpos-de-prova imersos em soluções de ácido peracético

4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA EFETIVIDADE DOS PRODUTOS

Para cada tempo decorrido de imersão na solução desinfetante (dez, 15 e trinta minutos), dois CP de cada desinfetante foram removidos, colocados em tubos

de ensaio contendo pérolas de vidro (n=20) e 8mL de água destilada esterilizada adicionada de solução neutralizante específica (tiosulfato de sódio, Na₂S₂O₃, VETEC, em concentração de 2g/L) e agitados em Vortex por um minuto.

De cada suspensão obtida, 100µL foram semeados em ágar BHI (Brain Infusion Heart, Difco, Detroit, EUA), em duplicata. Todas as placas foram incubadas por 48h a 37°C para contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) por placa e cálculo de UFC por mililitro.

Todos os procedimentos da análise microbiológica foram repetidos seis vezes por dia, quatro vezes por semana, por 24 dias com as mesmas soluções desinfetantes.

4.8 ANÁLISE FÍSICA DOS PRODUTOS

O pH e concentração das soluções de ácido peracético, onde foram imersos os CP, foram verificados com fitas indicadoras (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha e Merckoquant 100-500, Merck, respectivamente) no início e final do experimento de cada dia (Figura 6).

A temperatura de armazenagem do produto durante o período experimental e as temperaturas iniciais, máxima e final a cada dia do experimento foi verificada utilizando um termômetro analógico de ambiente com escala de -30 a +50°C (Incoterm, Porto Alegre, RS).



Figura 6 - Verificação do pH, concentração do ácido peracético e temperatura do ambiente no início e final do experimento diário (A), fitas indicadora de ácido peracético Merckoquant 100-500, Merck (B) e fitas indicadoras de pH Macherey-Nagel (C)

4.9 CONTROLE DA AÇÃO DA ACIDEZ SOBRE OS MICRORGANISMOS

Para avaliar a ação do baixo pH do produto sobre os microrganismos, foi preparada uma solução de ácido cítrico a 10% com pH 2,5 e os mesmos procedimentos utilizados no experimento para o ácido peracético foram repetidos (itens 4.1 a 4.7).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação da variação da temperatura ambiente foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste *t* de *Student*.

O teste não paramétrico de *Wilcoxon* foi utilizado para verificar a redução de microrganismos pelo ácido cítrico (controle da acidez), considerando os tempos de exposição e o número de repetições do experimento em um mesmo dia.

O teste de *Mann-Whitney* foi utilizado para analisar a ação do ácido peracético quando comparado o log de UFC/mL do controle com a média do log de UFC/mL, após exposição ao produto, em cada dia do experimento e o log de UFC/mL, independente do tempo de exposição, entre os dias do experimento.

O teste de *Kruskal-Wallis* comparou cada tempo de exposição entre os dias do experimento.

Todos os dados foram analisados considerando-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS

Durante todo o período experimental a temperatura de armazenamento do ácido peracético, das marcas Sekusept Aktiv® e Proxitane Alfa® variou entre 23 e 27 °C ($25,7 \pm 1,4$), a temperatura inicial diária variou entre 24 e 31 °C ($27,1 \pm 2,2$), a máxima entre 26 e 33 °C ($29,1 \pm 2,1$) e a final entre 25 e 31 °C ($27,7 \pm 1,6$). Houve variação significativa da temperatura ($p = 0,0230$) durante o período experimental (Tabela 1).

Tabela 1 – Temperaturas de armazenamento do ácido peracético e temperatura ambiente inicial, máxima e final a cada dia do experimento

Dia uso	Armazenagem	Temperatura do ambiente		
		inicial	Máxima*	final
1	25	24	27	27
2	25	25	28	26
3	26	26	26	26
4	25	25	26	25
8	26	27	30	27
9	23	29	27	27
10	23	24	30	28
11	28	30	29	29
15	26	26	32	28
16	26	28	30	27
17	26	26	28	27
18	26	28	30	28
22	27	29	30	29
23	26	31	33	30
24	27	29	31	31

*ANOVA/ teste *t* de Student, $p = 0,0230$

As médias da variação diária da temperatura de armazenamento, inicial, máxima e final do ambiente estão expressas na figura 7.

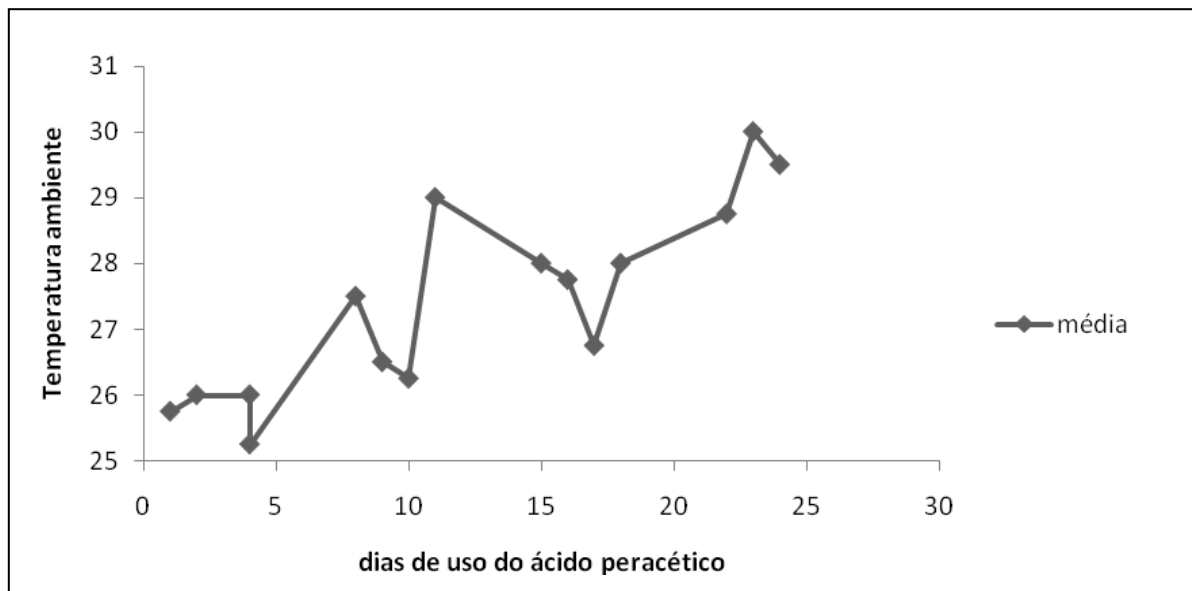


Figura 7 – Médias da variação diária da temperatura de armazenamento, inicial, máxima e final do ambiente

A concentração do ácido peracético da marca Sekusept Aktiv® variou de indetectável a 250mg/L no período experimental, sendo 250mg/L no primeiro dia, 200mg/L no segundo dia, 100mg/L no terceiro dia, menor que cem e maior que zero no quarto dia e indetectável a partir do oitavo dia. O ácido peracético da marca Proxitane Alfa® apresentou concentração de 500mg/L no primeiro dia e 400mg/L do segundo ao 24º dia do experimento (Figura 8).

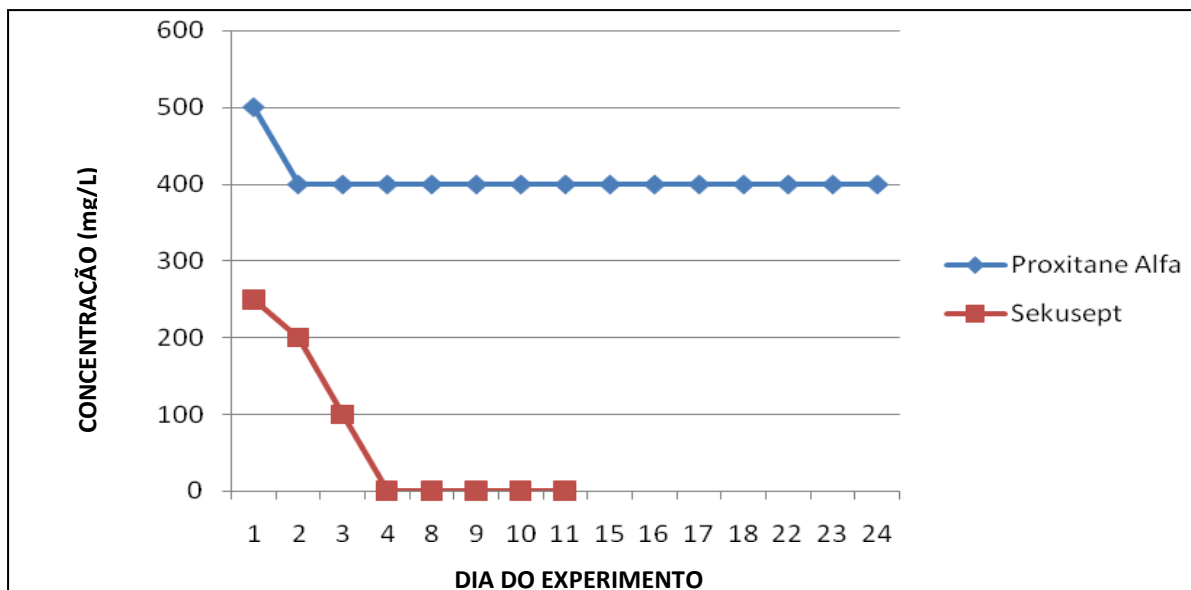


Figura 8 – Variação na concentração do ácido peracético das marcas Proxitane Alfa® e Sekusept Aktiv®, durante o período experimental

O ácido peracético da marca Sekusept Aktiv® manteve pH 5,0 durante o período experimental. Proxitane Alfa® apresentou pH 2,0 no primeiro dia do experimento, 2,5 do segundo ao 18º dia e 3,0 do 22º ao 24º dia (Figura 9).

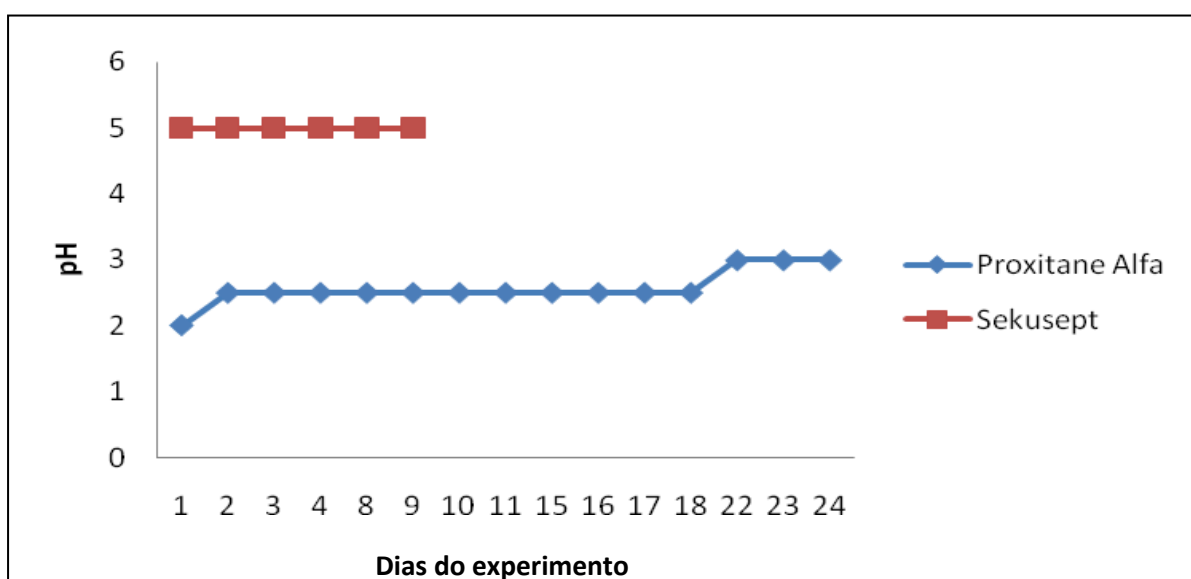


Figura 9 – Variação do pH do ácido peracético das marcas Proxitane Alfa® e Sekusept Aktiv®, durante o período experimental

O log de UFC/mL, média, mediana e desvio padrão para a contagem total de microrganismos do controle do experimento incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2 – Média, mediana e desvio padrão para a contagem total de microrganismos do controle do experimento, onde as unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) estão expressos em logaritmo (Log) de base 10

Dia do experimento	Log de UFC/mL			Contagem total
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	
1	4,31	2,79	3,31	4,51
2	3,59	3,89	3,2	4,32
3	4,04	4,18	3,73	4,75
4	4,12	4,44	3,62	4,83
8	3,4	3,52	3,43	4,17
9	3,71	3,05	3,63	4,68
10	3,36	2,85	2,77	4,14
11	3,69	2,82	2,8	4,15
15	3,72	3,67	3,25	4,2
16	3,66	3,43	3,24	4,28
17	3,3	1,69	2,92	3,75
18	3,9	4,01	3,65	4,49
22	3,06	3,58	2,63	3,93
23	3,81	4,08	3,72	4,25
24	3,27	3,56	2,77	3,87
MÉDIA	3,66	3,43	3,24	4,28
MEDIANA	3,69	3,56	3,25	4,25
Desvio padrão	0,34	0,7	0,38	0,31

A tabela 3 apresenta o log de UFC/mL para o ácido cítrico (controle do efeito da acidez do produto sobre os microrganismos), considerando-se o tempo de exposição (dez, 15 e trinta minutos) e o número de repetições do experimento em um mesmo dia (n=6).

Houve redução significativa entre o tempo zero (contagem total de microrganismos no 24° dia do experimento – Tabela 2) e os demais tempos

avaliados ($p= 0,0277$), mas não houve decréscimo significativo quando considerado o número de repetições no mesmo dia ($p= 0,7220$), ou mesmo o tempo de exposição ($p=0,3173$).

Tabela 3 – Unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL), expressos em logaritmo (Log) de base 10, para o grupo teste com ácido cítrico, considerando-se o tempo de exposição (em minutos) e o número de repetições do experimento em um mesmo dia

Repetições	Log de UFC/mL para o ácido cítrico			
	Tempo 0*	10 minutos	15 minutos	30 minutos
1	3,87	2,00	1,95	1,84
2	3,87	2,60	2,39	2,10
3	3,87	2,55	2,56	2,23
4	3,87	2,69	2,24	2,10
5	3,87	2,82	2,32	2,59
6	3,87	2,85	2,54	2,38
MÉDIA	3,87	2,58	2,33	2,21
MEDIANA	3,87	2,64	2,35	2,16
DESVIO PADRÃO	0	0,31	0,22	0,26

Teste *Wilcoxon*, $p= 0,0277$

A contagem total de microrganismos (log de UFC/mL) após exposição ao ácido peracético da marca Sekusept Aktiv®, para cada repetição diária e tempo de exposição são apresentados na tabela 4.

Houve redução significativa dos microrganismos ($p=0, 0001$) quando comparada a contagem total (controle, Tabela 2) e as médias de redução de microrganismos para cada dia do experimento.

Tabela 4 - Contagem total de microrganismos após exposição ao ácido peracético da marca e Sekusept Aktiv® (SA) considerando as repetições em cada tempo de exposição em cada dia do experimento, onde as unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) estão expressos em logaritmo (Log) de base 10

Dia do experimento	Tempo de exposição	Log de UFC/mL em cada repetição						Média diária de UFC/mL (Log)
		1 SA	2 SA	3 AS	4 SA	5 SA	6 SA	
1	10	0	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
2	10	0	0	0	1,56	1,61	0	0,18
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
3	10	0	1,61	0	0	1,04	0	0,15
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
4	10	1,20	0	0,78	0	0,78	0	0,34
	15	0	0	0	0	0,78	0	
	30	0	0	0	0	1,71	0,78	
8	10	1,79	1,56	1,20	1,56	0	1,41	0,94
	15	1,20	1,96	1,04	1,20	0,78	1,20	
	30	0	0	0	1,20	0,78	0	
9	10	2,55	2,00	1,96	1,79	1,85	2,10	2,01
	15	2,50	2,08	2,00	1,96	1,82	1,82	
	30	2,38	1,79	1,93	1,91	1,91	1,96	
10	10	2,19	0	2,06	2,33	2,68	2,60	2,12
	15	2,21	2,12	1,79	2,47	2,41	2,26	
	30	2,08	1,71	1,98	2,23	2,74	2,37	
11	10	2,55	2,45	2,53	2,49	2,71	2,46	2,41
	15	2,38	2,56	2,15	2,46	2,80	2,35	
	30	2,03	2,23	2,10	2,46	2,40	2,27	

Teste *Mann-Whitney*, $p=0,0001$ (contagem total do controle X média diária)

A figura 10 apresenta a variação do potencial de inibição do crescimento dos microrganismos testados, pelo produto da marca Sekusept Aktiv®, entre os dias de experimento. Não houve alteração significativa na taxa de inibição dos microrganismos do primeiro ao quarto dia, entretanto houve um decréscimo significativo no potencial de inibição dos microrganismos, por este produto, do quarto para o oitavo dia ($p=0,0164$) e do oitavo para o nono dia ($p=0,0015$).

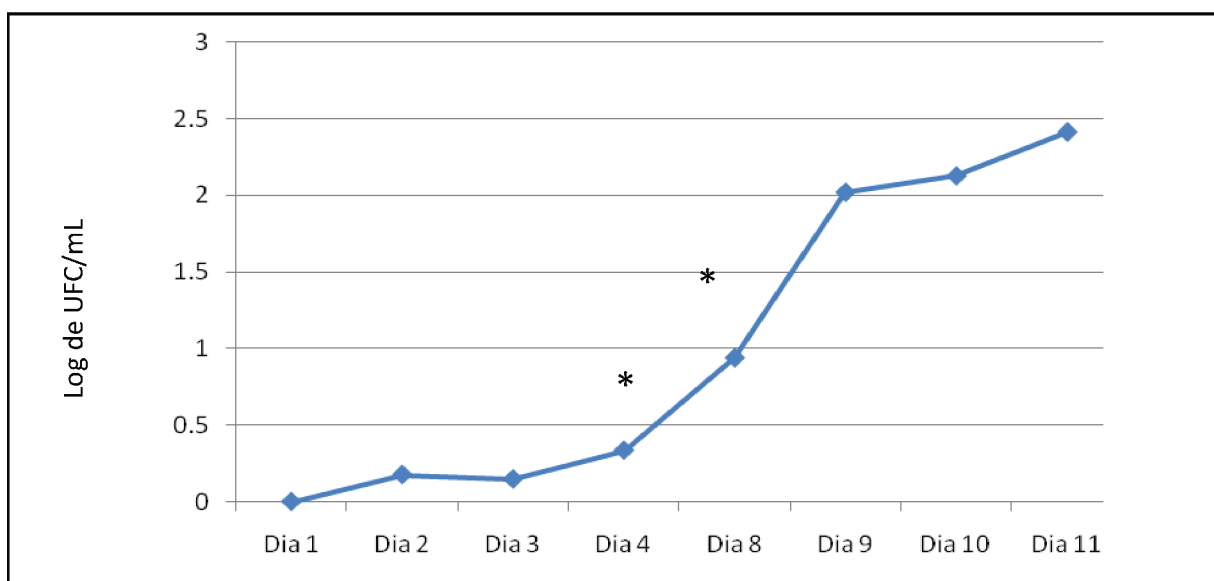


Figura 10 - Variação no potencial de inibição microbiana do produto Sekusept Aktiv®, ao longo dos dias do experimento (* teste *Mann-Whitney*, onde $p < 0,05$)

Considerando o tempo de exposição ao produto não houve variação significativa ($p = 0,5008$).

A contagem total de microrganismos (log de UFC/mL) após exposição ao ácido peracético da marca Proxitane Alfa®, para cada repetição diária e tempo de exposição são apresentados na tabela 5.

Houve redução significativa dos microrganismos ($p = 0,0001$) quando comparada a contagem total (controle, Tabela 2) e as médias de redução de microrganismos para cada dia do experimento (Tabela 5).

Tabela 5 - Contagem total de microrganismos após exposição ao ácido peracético da marca Proxitane Alfa® (PA) considerando as repetições em cada tempo de exposição em cada dia do experimento, onde as unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL) estão expressos em logaritmo (Log) de base 10

Dia do experimento	Tempo de exposição	Log de UFC/mL em cada repetição						Média diária de UFC/mL (Log)
		1 PA	2 PA	3 PA	4 PA	5 PA	6 PA	
1	10	0	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
2	10	0	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
3	10	0	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
4	10	0	0	0	0	0	0	0,2
	15	1,32	0,78	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	1,41	
8	10	0	0	0	0,78	0	0	0,16
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	1,32	0,78	0	0	0	
9	10	0	0	0	0	0	0	0,04
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0,78	0	0	0	0	
10	10	0	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
11	10	1,04	0	1,04	0	0	0	0,22
	15	0	1,04	0	0	0	0	
	30	0	0,78	0	0	0	0	
15	10	0	0	0	1,32	0	0	0,17
	15	0	0	0,78	0	0	0	
	30	0	1,04	0	0	0	0	
16	10	0	0	0	0	0	0	0,23
	15	1,61	0	0	0	0	0,78	
	30	0	1,04	0,78	0	0	0	
17	10	0,78	0	0	0	0	0	0,14
	15	0	0	0	0	0	0	
	30	0	0	0	0	1,66	0	
18	10	0	0	0	0	0	0	0,04
	15	0	0	0	0	0,78	0	
	30	0	0	0	0	0	0	
22	10	0	2,18	0	1,04	0,78	1,04	0,72
	15	0	0	1,75	0,78	0	0,78	
	30	0	0	0,78	0	1,61	2,26	
23	10	0,78	0	0	0	0	1,32	0,52
	15	0,78	1,91	0	0	1,20	0	
	30	0	1,04	0	0	2,29	0	
24	10	0	0	1,04	0	2,36	0	0,33
	15	0	0	1,04	0	0,78	0	
	30	0	0	0	0	0,78	0	

Teste Mann-Whitney, $p=0,0001$

A figura 11 apresenta a variação do potencial de inibição do crescimento dos microrganismos testados, pelo produto da marca Proxianet Alfa®, entre os dias de experimento.

Embora tenha ocorrido um maior crescimento microbiano com o passar dos dias, não houve alteração significativa ($p > 0,05$) na taxa de inibição dos microrganismos para todos os dias experimentais.

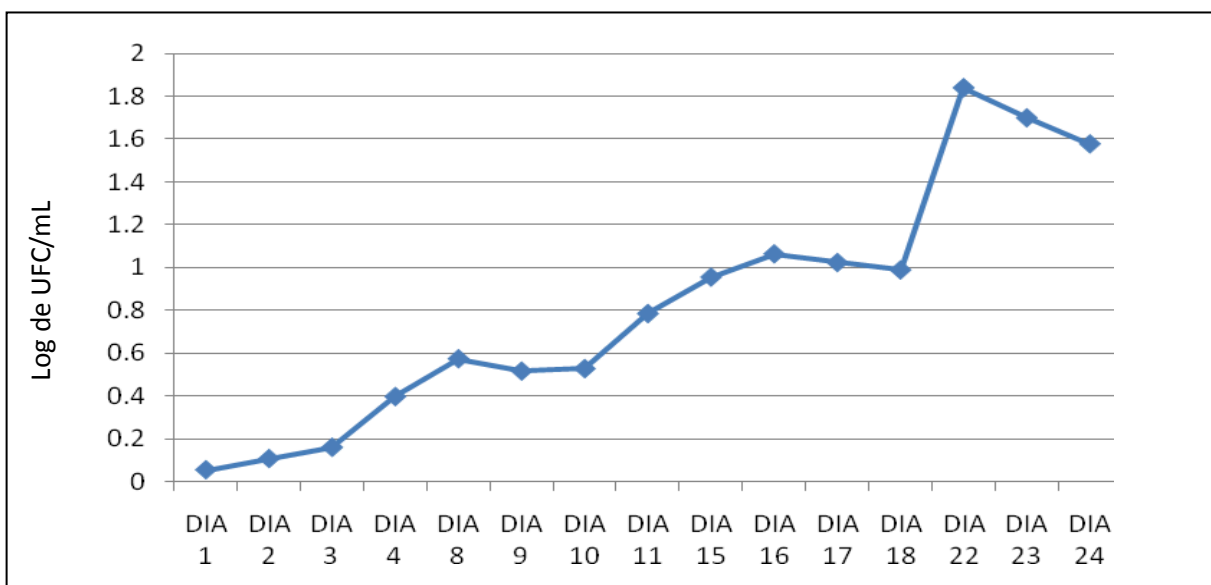


Figura 11 - Variação no potencial de inibição microbiana do produto Proxitane Alfa®, ao longo dos dias do experimento (teste *Mann-Whitney*, onde $p > 0,05$)

Considerando o tempo de exposição ao produto da marca Proxitane Alfa®, não houve variação significativa ($p=0,9498$).

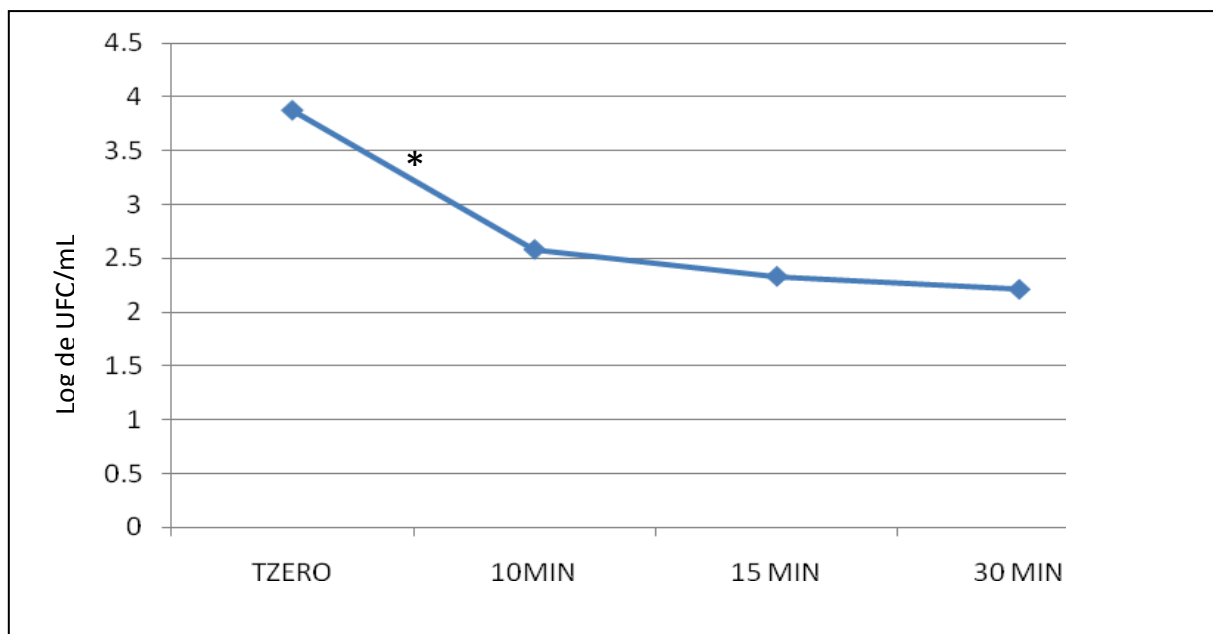


Figura 12 - Variação no potencial de inibição microbiana do produto Sekusept Aktiv®, considerando os tempos de exposição de dez, 15 ou trinta minutos (teste *Kruskal-Wallis*, onde $p = 0,5008$)

6 DISCUSSÃO

A desinfecção terminal ou desinfecção prévia a lavagem ou ainda “expurgo”, como é denominada em ambiente hospitalar, é um procedimento preconizado por órgãos que regulamentam a atuação em estabelecimentos de saúde nacionais, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Ministério da Saúde, 2006), e também por órgãos internacionais com a mesma finalidade como o Center for Disease Control and Prevention (Rutala & Weber, 2008).

Por definição, desinfecção é um processo que elimina muitos ou todos os microrganismos patogênicos, com exceção de esporos bacterianos, em objetos inanimados (Ministério da Saúde, 2006; Rutala & Weber, 2008).

A substância química mais utilizada com esta finalidade, até o ano de 2007, era o glutaraldeído. Nesta época, o Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo (CVS-SP) proibiu a utilização deste produto no processo de desinfecção terminal nos estabelecimentos de saúde dentro do Estado. Assim, foram iniciados novos estudos na área odontológica, principalmente no Estado de São Paulo, com o ácido peracético, em busca de um desinfetante de alto nível que apresentasse propriedades adequadas para ser utilizado no lugar do glutaraldeído.

Vários trabalhos comprovaram a eficácia do ácido peracético (AP) no processo de esterilização e desinfecção, em baixas concentrações e curto intervalo de tempo (Borges, 2005; Chassot et al., 2006; Baggio et al., 2007; Lorena et al., 2010), entretanto, até a conclusão deste trabalho, não foi encontrado na literatura um trabalho que verificasse a estabilidade deste produto quando em uso, ou seja, por quanto tempo o mesmo AP pode ser utilizado, mantendo sua capacidade

desinfetante, quando em contato com o instrumental contaminado por microrganismos e material orgânico como sangue e saliva. Este foi justamente o foco desta pesquisa.

No Brasil a variação média da temperatura ambiente é bastante diferente nas diversas regiões do país e, dependendo da região tem grandes variações em um mesmo dia. Block (1991) relatou a influência da temperatura na ação biocida do AP e também que este produto perdeu 15% da quantidade de peróxido de hidrogênio num período de 49 dias quando armazenado em temperatura ambiente, mas não cita a perda de peróxido de hidrogênio quando este ácido está em uso.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que no período experimental, embora tenha ocorrido uma variação significativa de temperatura (23 a 33°C, $p= 0,0230$), o AP manteve sua capacidade desinfetante.

Kunigk et al. (2001), avaliando a vida de prateleira do AP, demonstraram que a 45°C, a concentração do AP foi reduzida para a metade em 72 horas, mas a 25°C a perda em dez dias foi de apenas 33%.

No presente trabalho, onde a concentração do produto foi verificada quando o mesmo estava em uso (durante o processo de desinfecção dos corpos-de-prova), o produto da marca Sekusept Aktiv® demonstrou uma perda de 20% na sua concentração em 24 horas e de 60% em 72 horas, enquanto o Proxitane Alfa® apresentou perda de concentração (20%) somente nas primeiras 24 horas.

Cabe comentar, que o Proxitane Alfa® apresenta concentração de 2500mg/L e a fita indicadora utilizada neste trabalho detectava no máximo 500mg/L. Considerando que no primeiro dia foi detectada a concentração máxima que a tira reagente nos proporcionava, detectou-se uma perda concentração de 84% no

segundo dia do experimento (2500mg/L, informado pelo fabricante, para 400mg/L), tendo permanecido estável, na concentração de 400mg/L, até o final do experimento. Para podermos considerar ter ocorrido uma perda menor de concentração, teríamos que ter utilizado uma fita indicadora que detectasse concentrações maiores, entretanto, isto não pôde ser verificado neste experimento. A fita indicadora de AP na faixa de 100 a 500mg/L foi escolhida para este experimento por atingir a faixa de concentração suficiente para o processo de desinfecção (Block, 1991).

A variação de temperatura ambiente, observada neste experimento, parece não ter influenciado a concentração do AP da marca Proxitane alfa®, entretanto não é possível descartar esta influência na decomposição do produto da marca Sekusept Aktiv®, apesar de as primeiras 72 horas não terem apresentado as maiores temperaturas (24 a 28 °C) do período experimental.

De acordo com Greenspan (1946) e Kitis (2004) o pH na faixa de 5,5 a 8,2 resulta na decomposição espontânea do AP em ácido acético e oxigênio. Este pode ter sido um fator importante para a diferença na estabilidade entre as marcas comerciais avaliadas, pois embora o AP da marca Sekusept Aktiv® tenha apresentado pH 5,0 (0,5 abaixo da faixa de decomposição), este pH pode ter favorecido sua decomposição espontânea. Já o Proxitane Alfa® apresentou pH bem abaixo do crítico (pH 2,0 a 3,0) em todo o período experimental, o que pode ter contribuído para a sua maior estabilidade.

A maioria das bactérias cresce melhor dentro de variações pequenas de pH, sempre perto da neutralidade (pH entre 6,5 e 7,5), embora algumas bactérias, denominadas acidófilas, apresentem alto grau de tolerância a acidez (Tortora et al.,

2006). Baseado no conhecimento da influência do pH no crescimento microbiano, neste trabalho foi realizado o controle da acidez, utilizando o ácido cítrico.

O ácido cítrico foi o produto escolhido porque é um ácido orgânico com baixa toxicidade, obtido por fermentação microbiana e por possuir ampla gama de utilizações (Anastassiadis et al., 2008).

A ação do baixo pH sobre os microrganismos pôde ser observada pela redução do número de microrganismos, do controle para o primeiro tempo de exposição (dez minutos) no ácido cítrico. Porém a redução obtida, mesmo que numericamente significativa (de 3,87 para 2,21 log de ufc/mL após trinta minutos de exposição, $p = 0,0277$), não foi tão efetiva quanto à redução obtida com o ácido peracético, de mesmo pH (Proxitane Alfa®). O resultado obtido para o ácido cítrico foi para uma única utilização, já o Proxitane Alfa®, somente a partir do 22º dia de utilização foram observados números tão elevados de microrganismos após o processo de desinfecção terminal (2,26 log de ufc/mL após trinta minutos de exposição).

Os resultados do presente trabalho demonstraram que o produto Sekusept Aktiv® manteve sua efetividade no processo de desinfecção até o quarto dia de utilização (média de crescimento de 0,34 log de ufc/mL após o processo de desinfecção terminal) e o Proxitane Alfa® até o 24º dia (média de crescimento de 0,33 log de ufc/mL após o processo de desinfecção). Considerando a oscilação do 22º e 23º dias do experimento, onde o log médio de ufc foi respectivamente de 0,72 e 0,52, para garantia de uma menor quantidade de microrganismos e menor risco de contaminação no processo de lavagem do instrumental, prévia a esterilização, os resultados sugerem que o AP da marca Proxitane Alfa® seja reutilizado por no

máximo 18 dias para utilização não consecutiva ou por 12 dias consecutivos de desinfecção terminal.

Os tempos de exposição não interferiram de forma significativa para a redução microbiana para os produtos testados (Sekusept Aktiv®, $p= 0,5008$ e Proxitane Alfa®, $p= 0,9498$). Este resultado sugere que o ácido peracético, das marcas avaliadas, possam ser utilizadas no processo de desinfecção terminal por dez minutos. Este tempo, comparado ao necessário para o mesmo procedimento utilizando o glutaraldeído (trinta minutos), vai permitir uma otimização no processamento dos instrumentais.

É preciso lembrar ao profissional da saúde, que o processo de desinfecção terminal (aquele que visa à redução microbiana, diminuindo assim o risco de contaminação no processo de lavagem do instrumental) difere do processo de desinfecção, pois no primeiro o instrumento normalmente está sujo, ou seja, além dos microrganismos, normalmente encontra-se com sangue, restos teciduais ou saliva. Já para submeter um artigo ao processo de desinfecção este deverá estar livre de sujidades para que o processo seja efetivo.

Os resultados do presente trabalho demonstraram a efetividade do ácido peracético, das duas marcas avaliadas, no processo de desinfecção terminal. Entretanto considerando a grande diferença na estabilidade de ambos os produtos no processo de desinfecção terminal, sugere-se que outros trabalhos sejam realizados, com outras marcas comerciais de AP, pelos fabricantes ou por pesquisadores independentes, a fim de estabelecer um prazo confiável para a reutilização de cada um, ou seja, por quanto tempo podem permanecer ativos quando em uso.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados do presente trabalho foi possível chegar às seguintes conclusões:

- a) as formulações de ácido peracético testadas apresentaram diferenças quanto à estabilidade no processo de desinfecção terminal;
- b) o ácido peracético da marca Proxitane Alfa® demonstrou estabilidade superior, mantendo sua efetividade no processo de desinfecção terminal por 12 dias consecutivos e o da marca Sekusept Aktiv® por quatro dias.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (BR). Controle de infecções e a prática odontológica em tempos de AIDS. Brasília: manual de condutas. Brasília; 2000. 118p.
2. Dettenkofer M, Block C. Hospital disinfection: efficacy and safety issues. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18(4):320-25.
3. Lipscomb IP, Pinchim H, Collin R, Keevil CW. Effect of drying time, ambient temperature and pre-soaks on prion-infected tissue contamination level on surgical stainless steel: concerns over prolonged transportation of instruments from theatre to central sterile service departments. *J Hosp Infect* 2007; 65(1):72-7.
4. McGregor D, Bolt H, Cogliano V, Ritchter-Reichhelm HB. Formaldehyde and glutaraldehyde and nasal cytotoxicity: case study within the context of the 2006 IPCS Human Framework for the Analysis of a cancer mode of action for humans. *Crit Rev Toxicol* 2006; 36(10):821-835.
5. São Paulo (Estado). Secretaria da Saúde. Resolução SS-SP Nº 27, 1º de janeiro de 2007. Dispõe sobre as normas técnica para o uso do glutaraldeído em estabelecimentos de saúde. *Diário Oficial [do] Estado, Poder Executivo, São Paulo, SP. Seção 1, p. 20-23.*
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Departamento Técnico Normativo. Portaria nº 15 de 23 de agosto de 1988. Dispõe sobre a atualização do regulamento para o registro de produtos saneantes domissanitários com ação antimicrobiana. [citado 2010 nov 14]. Disponível em: URL: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/15_88.htm
7. Kunigk L, Almeida MCB. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. *Braz J Microbiol* 2001; 32:38-41.
8. Wutzler P, Sauerbrei A. Virucidal activity of the new disinfectant monopercitric acid. *Letters Appl Microbiol* 2004; 39(2):194-198.
9. Bore E, Langsrud S. Characterization of micro-organisms isolated from dairy industry after cleaning and fogging disinfection with alkyl amine and peracetic acid. *J Appl Microbiol* 2005; 98(1):96-105.

10. Meirelles KE, Costa AJF. Desinfecção e esterilização. *Acta Ortop Bras* 1994; 2(4):1-4.
11. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar. Controle de Infecção na prática odontológica. São Paulo: APECIH; 2000. 87 p.
12. Tipple AFV, Souza ACS, Almeida ANG, Souza SB, Siqueira KM. Acidente com material biológico entre trabalhadores da área de expurgo em centros de material e esterilização *Acta Scientiarum Health Science* 2004; 26(2):271-278.
13. Vickery K, Pajkos A, Cossart Y. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. *Am J Inf Control* 2004; 32(3):170-176.
14. Murdoch H, Taylor D, Dickinson J, Walker JT, Perrett D, Raven ND, et al. Surface decontamination of surgical instruments: an ongoing dilemma. *J Hosp Infect* 2006; 63:432-438.
15. Harte JA, Molinari JA. Instrument cassettes for office safety and infection control. *Compend Contin Educ Dent* 2007; 28(11):596-600.
16. Dettenkofer M, Spencer R. Importance of environmental decontamination – a critical view. *J Hosp Infect* 2007; 65(suppl 2):55-57.
17. Howie R, Alfa MJ, Coombs K. Survival of enveloped and non-enveloped viruses on surfaces compared with other micro-organisms and impact of suboptimal disinfectant exposure. *J Hosp Infect* 2008; 69(4):368-376.
18. Souza ACS, Pereira MS, Rodrigues MAV. Descontaminação prévia de materiais médico-cirúrgicos: estudo da eficácia de desinfetantes químicos e água e sabão. *Rev Lat Am Enf Ribeirão Preto* 1998; 6(3):95-105.
19. Block SS. Peroxygen compounds. In: Block SS. *Disinfection, sterilization and preservation*. 4th ed. Philadelphia: Lea Febiger; 1991. p.167-181.
20. Gilmour D. Instrument integrity and sterility: the perioperative practitioner's responsibilities. *J Perioper Pract* 2008; 18(7):292-6.
21. Stier CJN, Fugmann CFM, Cruz EDA, Bragagnolo KL, Martins LTF, Castro ME, et al. *Rotinas em controle de Infecção hospitalar*. Curitiba: Netsul; 1995.196p.

22. Silva FC, Rosa LP, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Desinfecção de placas acrílicas ortodônticas com hipoclorito de sódio e glutaraldeído: estudo in vitro. Rev Odontol UNICID 2004; 16(1):35-40.
23. Silva FC, Paradella TC, Navas EAFA, Claro APRA, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Influência de agentes desinfetantes sobre a aderência de *Staphylococcus aureus* em aço inoxidável. Cienc Odontol Bras 2008; (3): 60-65.
24. Takigawa T, Endo Y. Effects of glutaraldehyde exposure on human health. J Occup Health 2006; 48(2):75-87.
25. Santana RC, Dominciano LCC, Santos MCC. Avaliação da utilização, manipulação e descarte do glutaraldeído pela equipe de enfermagem em instituições de saúde pública e privada. Rev Inst Ciênc Saúde 2009; 27(4):338-344.
26. Greenspan FP. The convenient preparation of per-acids. J Am Chem Soc 1946; 68(5):907.
27. Kitis M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. Environment International 2004; 30: 47–55.
28. Kunigk LDR, Gomes FF, 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):217-220.
29. Borges LC. Ácido peracético: uma revolução na biossegurança. 2005. [citado 2010 nov 14]. Disponível em: URL: [http://www.apcd-saude.org.br/artigo.asp?cdnoticia=1&numero=2\[2005dez.1\]](http://www.apcd-saude.org.br/artigo.asp?cdnoticia=1&numero=2[2005dez.1])
30. Chassot ALC, Poisl MIP, Samuel SMW. In vivo and in vitro evaluation of the efficacy of a peracetic acid-based disinfectant for decontamination of acrylic resins. Braz Dent J 2006; 17(2):117-121.
31. Baggio F, Juchem G, Correa C, Medina AS, Werner SM. A influência da imersão em ácido peracético sobre a reprodução de detalhes e compatibilidade dos elastômeros com gesso. Rev Odonto Ciênc – Fac Odonto/PUCRS 2007; 22(55):61-65.

32. Finnegan M, Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard JY. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(10):2108-2015.
33. Lorena NOS, Pitomboli MB, Côrtes PB, Mayall MCA, Silva MG, Carvalho AC, et al. *Mycobacterium massiliense* BRA100 strain recovered from postsurgical infections: resistance to high concentrations of glutaraldehyde and alternative solutions for high level disinfection. *Acta Cir Bras* 2010; 25(5):455-459.
34. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Serviços odontológicos: prevenção e controle de riscos. Brasília; 2006. 156p.
35. Rutala WA, Weber DJ. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008. CDC. [citado 2010 nov 14]. Disponível em: URL: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf
36. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Crescimento microbiano. In: Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. 8a ed. São Paulo: Artmed; 2006. p.155-182.
37. Anastassiadis S, Morgunov IG, Kamzolova SV, Finogenova TV. Citric acid production patent review. *Recent Pat Biotechnol* 2008; 2(2):107-23.

Autorizo a cópia total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais sem prévia autorização do autor.

Solange Alves da Silva Costa

Taubaté, novembro de 2010