

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS

Avaliação microbiológica dos níveis de
contaminação microbiana dos fotopolimerizadores
odontológicos e da influência da presença de uma
barreira de proteção nas pontas fotopolimerizáveis
quanto aos valores de resistência à flexão de resina
composta

FIP-2020/24852-1S

Coordenadores: Maria Eugênia Alvarez-Leite
Alberto Nogueira da Gama Antunes

Belo Horizonte

2022

Sumário:

1) Introdução	4
2) Revisão de Literatura	8
3) Metodologia	13
3.1- Análise da contaminação microbiana dos aparelhos fotopolimerizáveis	13
3.2 - Avaliação da influência da presença de uma barreira de proteção nos valores de resistência à flexão e módulo de elasticidade de resina composta.....	16
4) Resultados.....	18
5) Discussão.....	24
6) Conclusão.....	28
4) Referências Bibliográficas.....	29

Lista de Tabelas:

Tab. 1 – Avaliação quantitativa da contaminação microbiana (log do número de UFC) dos aparelhos fotopolimerizadores odontológicos antes do atendimento (T0), depois do atendimento (T1) e após atendimento e desinfecção dos artigos (T2).....	18
Tab. 2 – Avaliação qualitativa da contaminação microbiana (índice de turbidez) dos aparelhos fotopolimerizadores odontológicos antes do atendimento (T0), depois do atendimento (T1) e após atendimento e desinfecção dos artigos (T2).....	20
Tabela 3 – Valores médios e desvio-padrão em MPa da resistência à flexão dos corpos de provas produzidos com a resina composta Forma: sem barreira e com barreira.....	21
Tabela 4 – Valores médios e desvio-padrão em GPa do módulo de elasticidade dos corpos de provas produzidos com a resina composta Forma: sem barreira e com barreira.....	21
Tabela 5 – Valores médios e desvio-padrão em MPa da resistência à flexão dos corpos de provas produzidos com a resina composta Tetric Ceram: sem barreira e com barreira.....	22
Tabela 6 – Valores médios e desvio-padrão em GPa do módulo de elasticidade dos corpos de provas produzidos com a resina composta Tetric Ceram: sem barreira e com barreira.....	22
Tabela 7 - Valores médios e desvio-padrão em MPa da resistência à flexão dos corpos de provas produzidos com a resina composta Z100: sem barreira e com barreira.....	22
Tabela 8 - Valores médios e desvio-padrão em GPa do módulo de elasticidade dos corpos de provas produzidos com a resina composta Z100: sem barreira e com barreira.....	23

1) INTRODUÇÃO

A cavidade oral é povoada por vários tipos de microrganismos, sendo assim existe uma variedade de espécies formando microecossistemas, com diferenças de necessidades de oxigênio, pH e nutrientes. Esse conjunto de microrganismos é chamado de microbiota indígena, e habita o corpo humano, funcionando como uma barreira protetora, desde o nascimento, sofrendo diversas sucessões ecológicas ao longo dos anos, até a formação da chamada comunidade clímax. Apesar de trazer benefícios, na maioria das vezes, esta microbiota apresenta um caráter anfibiótico, que quando em desequilíbrio, pode causar doenças endógenas, entre elas, a cárie e a doença periodontal.

Segundo Lorenzo et al. (2004), a infecção cruzada é a transmissão de organismos patogênicos de uma pessoa doente ou portador sadio para um indivíduo suscetível; sua ocorrência depende da cadeia de infecção. Assim, o patógeno deve ter alto grau de virulência e o hospedeiro ser suscetível a ele. A Infecção cruzada se dá de paciente para profissional, por meio de contato direto (fluidos orgânicos e lesões), contato indireto (instrumentos, superfícies e mãos) e inalação (aerossóis microbianos) e de paciente para paciente (via profissional com mãos infectadas, via instrumentos, equipamentos e áreas contaminadas).

O fundamento principal de um programa de controle de infecção consiste em uma técnica asséptica correta. Esta técnica envolve, particularmente em Odontologia, procedimentos que “quebrem” a cadeia de infecção microbiana e reduzam o potencial de infecção cruzada.

A paramentação é uma das principais barreiras contra os microrganismos provenientes do aerossol produzido na prática odontológica e das injúrias mucocutâneas e percutâneas como os gorro, óculos, máscara, luva, avental e sapatos fechados; o uso de barreiras (filme de PVC) nas superfícies contamináveis e a esterilização dos instrumentais também são de extrema importância no controle da infecção cruzada.

O não uso dessas barreiras permite a contaminação por contato direto com os microrganismos, por contato indireto ou por fluidos como sangue, saliva e secreções das vias aéreas superiores, expondo tanto o paciente quanto o dentista a doenças como Aids, hepatites B e C, infecções por herpes simples tipo 1 e 2, gripe, pneumonia, tuberculose e outras doenças infectocontagiosas.

Na odontologia, os aerossóis gerados durante o atendimento pelo uso das canetas de baixa e alta rotação, seringa tríplice e ultrassom propiciam a contaminação, pela suspensão de microrganismos no ar, tendo maiores chances de serem inalados, tanto pelo paciente quanto pelo dentista. Tais fatores podem aumentar o risco de disseminação de várias doenças respiratórias, entre elas a COVID-19 para os profissionais em exercício, como também para os pacientes.

Sangue ou saliva em superfícies ambientais como em laboratórios e áreas clínicas podem servir como fonte de contaminação para pacientes, equipe odontológica ou itens que entrem em contato com elas. Por isso, equipamentos e superfícies (particularmente aquelas de difícil limpeza) contamináveis devem ser cobertas com envoltórios plásticos, folhas de alumínio ou outros materiais impermeáveis semelhantes, para prevenir a contaminação. Depois do atendimento ao paciente ou depois que o item for usado, os envoltórios devem ser removidos e descartados. Se as superfícies não podem ser recobertas e tornam-se contaminadas, devem ser limpas primeiramente e, posteriormente, desinfetadas com agentes considerados como de nível intermediário ou alto (RATHBUN, 1994).

O aparelho fotopolimerizador é utilizado nas restaurações de resina composta sendo, a polimerização, o processo de endurecimento das mesmas, decorrente da conversão de monômeros em polímeros em uma reação por adição (CALDARELLI et al. 2011). Essa reação tem início quando da presença de radicais livres, gerados por ativação química, nos compósitos de polimerização química, ou por uma fonte de energia externa, no caso a luz, nos compósitos de fotopolimerizáveis (PHILLIPS, 1998).

A resina composta é um dos materiais de uso odontológico rotineiro (CAIRES; FERREIRA, 2012), assim como o aparelho fotopolimerizador; o uso e compartilhamento constante deste equipamento aliado à dificuldade de esterilização faz com que ele se torne fonte potencial de infecção cruzada.

Nas restaurações de resina composta é necessário um campo operatório isolado, seco e limpo (MONDELLI, 2017), além de evitar a umidade e controlar o contato com agentes contaminantes (CUNHA, 2010). Para tal, utiliza-se o isolamento absoluto com o dique de borracha ou relativo, com rolos de algodão. O primeiro evita o contato com a mucosa do paciente, porém o segundo não proporciona o mesmo efeito, fazendo com que a ponta do aparelho fotopolimerizador seja contaminado pela saliva e passível de “infecção cruzada”.

Segundo Spaulding (1968), os artigos utilizados no atendimento odontológico, podem ser classificados conforme o risco potencial de infecção; são eles, artigos críticos, aqueles que penetram na pele, mucosa, tecidos subepiteliais e tecido vascular e, pelo seu alto risco, devem ser sempre esterilizados; artigos semicríticos: que entram em contato com pele não íntegra ou mucosa íntegra, devendo ser esterilizados, se possível, ou na impossibilidade, desinfetados; já os não críticos entram em contato somente com pele íntegra e requerem limpeza ou desinfecção.

A ponta dos aparelhos fotopolimerizáveis utilizados nas cadeiras odontológicas é classificada como artigo semicrítico. Usualmente, recomenda-se que ela seja desinfetada com álcool 70% com fricção por, no mínimo, um minuto, alcançando uma desinfecção de média eficácia. Contudo, ainda pode ser o foco para infecções cruzadas durante os procedimentos clínicos, pela grande demanda de uso e/ou desatenção durante a técnica de desinfecção.

Apesar do risco iminente, os acadêmicos e profissionais da Odontologia, muitas vezes, não tomam as devidas precauções em relação a esse controle. Ainda que a literatura seja escassa, sabe-se que as justificativas para tal descuido são inúmeras, sendo que a possível interferência no processo de polimerização e o fato deste procedimento não ser invasivo parecem ser as mais comuns e levam a uma crença de que há menor risco de contaminação cruzada, nessa prática odontológica.

Da mesma maneira, pouco se sabe a respeito dos cuidados efetivamente tomados, pelos acadêmicos, para se evitar a ocorrência de infecção cruzada nestes procedimentos. Essa carência de dados é ainda maior quando se leva em consideração apenas a realidade brasileira.

A técnica de desinfecção mais adequada é aquela que, além de produzir uma superfície livre de fatores que possam aumentar o risco de infecção, não comprometam a eficácia de um tratamento restaurador, por exemplo. O uso de barreiras como o filme de PVC pode ser considerado um método prático na prevenção da infecção, porém não se sabe, ao certo, o quanto este filme pode vir a interferir na eficácia da polimerização de uma resina composta, especialmente nos casos clínicos em que já existe uma distância considerável da ponta do aparelho fotopolimerizador em relação ao incremento do material resinoso.

As restaurações de resinas compostas têm como objetivo devolver a estética e a funcionalidade dos dentes. A longevidade e o sucesso clínico das restaurações dependem diretamente de uma adequada polimerização, haja visto a interferência dos mecanismos

de cura sobre as propriedades físicas e mecânicas. Portanto, é de extrema importância manter a eficácia dos fotopolimerizadores e diminuir as chances de que ocorram infecções cruzadas.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar, quali-quantitativamente e por cultura microbiológica, a contaminação das pontas de fotopolimerizadores utilizados nas clínicas odontológicas, a partir de amostras coletadas antes, durante e após o atendimento. Adicionalmente, avaliou-se a influência da presença de uma barreira de proteção nos valores de resistência à flexão e módulo de elasticidade de marcas comerciais de resina composta.

2) REVISÃO DE LITERATURA

Contaminação de superfícies e artigos odontológicos

O estudo realizado por Gomes Pinto (2013) teve o objetivo de avaliar a desinfecção das canetas de alta rotação (CAR) com álcool 70% p/v, sem limpeza prévia com vistas a avaliar o risco de infecção cruzada. Para tanto, foram divididos 03 grupos: o grupo experimental (100 CAR, desinfetadas por 90 segundos em fricção contínua), controle negativo (10 CAR, limpas e esterilizadas) e controle positivo (10 CAR, sem limpeza ou desinfecção); em seguida, coletaram amostras do grupo experimental através de gazes embebidas em 5ml de Cloreto de sódio 0,9% friccionadas em movimentos circulares em toda extensão das canetas, por 30 segundos. A semeadura aconteceu por dois métodos: um quantitativo e outro qualitativo, ambos incubados por 21 dias a 37°C. Os grupos controle negativo e positivo tiveram suas amostras coletadas da mesma forma do grupo experimental. Os resultados mostraram que no método quantitativo, foi observado crescimento em 54% das amostras (100-102 UFC/amostra), tendo predomínio de *Staphylococcus* spp, *Bacillus* spp e *Candida* spp. Já no método qualitativo, houve 24% de crescimento positivo, tendo presença dos microrganismos: Bacilos Gram positivos inespecíficos, *Staphylococcus* spp e *Peptostreptococcus* spp. O grupo controle negativo não apresentou crescimento microbiano, como esperado, e o controle positivo teve um crescimento médio de 17,5 UFCs/placa. Concluindo que a prática de desinfecção das CAR com álcool 70% p/v, sem limpeza prévia, não deve ser utilizada, pela permanência de microrganismos na superfície dos equipamentos. Outro aspecto considerável, é que os microrganismos encontrados na pesquisa apresentam caráter anfibiótico, podendo causar agressões ao hospedeiro.

Murofuse *et al* (2008), através de um estudo observacional na Unioeste, afirmaram que, independentemente das atividades realizadas nas clínicas odontológicas, os trabalhadores e usuários estavam expostos a diversos riscos ocupacionais pelo contato com material biológico proveniente da cavidade oral, das vias respiratórias e dos aerossóis, desde os docentes e acadêmicos até os técnicos administrativos, que recebem a “documentação contaminada”. Concluem que o uso do EPI completo deve ser conscientizado e que os alunos devem saber os riscos que correm ao não os utilizar.

De acordo com o estudo de Alvarez-Leite *et al* (2006), a tubulação das cadeiras odontológicas, podem acumular biofilme depois do atendimento, o que gera uma maior

possibilidade de infecção cruzada. Sendo assim, foram coletadas amostras de água das tubulações de 07 equipamentos, antes do atendimento, depois do atendimento e após a desinfecção da tubulação pelo Sistema Flush (sistema de descontaminação por cloração, na concentração de 500 ppm - DABI Ind. Med. Odontol. Ribeirão Preto – BR) nas clínicas da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. As amostras foram depositadas em frascos e encaminhadas ao laboratório de microbiologia, onde, em fluxo laminar, os espécimes sofreram diluições seriadas de 10^{-1} , homogeneização e plaqueamento (por alíquotas de 0,1ml), em meio de cultura Triptic Soy Agar (difco), suplementado com extrato de levedura (5mg/mL) e sangue desfibrinado de carneiro (5%) – TSA – S, incubados em aerobiose (estufa bacteriológica), a 37°C, por 48-72 horas. Os resultados indicaram que, após o atendimento, somente um equipamento não foi contaminado, e mesmo após a o sistema flush, quatro equipamentos ainda apresentaram contaminação; contudo, foi observado um menor número de UFCs, o que comprova a eficiência da desinfecção pós-atendimento, minimizando as chances de infecção cruzada.

Freitas *et al* (2012) realizaram um estudo na Universidade Federal do Maranhão, no curso de odontologia, através de uma análise microbiológica das cabines de raios-x. Foram coletadas amostras de quatro cabines de raios-x ao fim de um dia de atendimento, com um swab e solução salina, sendo que os swabs foram colocados no caldo BHI sob vibração, e imediatamente levados para incubação. As amostras foram dispostas em placas de ágar sangue (incubados a 37°C por 48h), ágar mitis salivarius (incubado em anaerobiose, a 37°C por 48h), ágar standart (permaneceu em temperatura ambiente, durante 5 dias) e ágar MacConkey (incubados a 37°C por 48h); além das placas citadas, foi incluída uma placa controle, sem nenhuma sementeira. Foi confirmado, macroscopicamente, o crescimento de colônias nas placas e, em um total de 20 superfícies analisadas, 14 estavam contaminadas, enquanto 06 não apresentavam contaminação ou crescimento microbiano, revelando um percentual de contaminação de 70%. Posteriormente, foi feita a identificação dos microrganismos encontrados, tendo sido encontrado, com maior frequência, bactérias do gênero *Staphylococcus*. Com isso, apesar de procedimentos radiográficos não serem tão invasivos quanto à prática clínica, os autores sugerem a possibilidade de infecção cruzada; portanto, medidas de conscientização de biossegurança devem ser tomadas, nesse ambiente.

Pereira (2010) avaliou pelo método de cultura microbiológica (qualitativa e quantitativa), a ocorrência de microrganismos na superfície de 20 alicates ortodônticos (removedores de banda) contaminados durante atendimento clínico de rotina, antes e após

os processos de desinfecção química e esterilização pelo vapor d'água saturado sob pressão; Os alicates foram submetidos a testes microbiológicos em dois momentos distintos: t0 – 10 a 15 minutos após o uso e t1 – logo após a descontaminação. Foram realizadas análises microbiológicas qualitativas e quantitativas de todas as amostras coletadas. Concluiu que a desinfecção com álcool etílico 70% ainda que apresentasse redução nos níveis iniciais de contaminação, não garantiriam o controle de infecção cruzada nos consultórios ortodônticos;

Segundo o estudo de Batista, Gomes, e Alvarez-Leite (2013), o uso compartilhado dos tubos de resina e outros objetos utilizados na prática odontológica, como o pincel de pelo Marta e seringas de ácido podem ser importantes vias de infecção cruzada. Em um estudo microbiológico quanti-qualitativo, os autores selecionaram 02 grupos, um grupo-caso: no qual foram usados materiais que entraram em contato com o paciente durante o atendimento, e um grupo controle: no qual os materiais não tinham sido utilizados previamente; a partir disso, foram coletadas amostras com swab e, em seguida, os espécimes foram semeados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubados em condição de anaerobiose; foi feita, então, a análise qualitativa, avaliando-se a turbidez dos tubos de caldo BHI, indicando ou não a presença de crescimento microbiano. Nos tubos onde houve crescimento, foram semeados, por diluições seriadas, alíquotas de 0,1ml em ágar BHI, em ágar hipertônico manitol (*Staphylococcus* spp) e ágar mitis salivarius (estreptococos orais) e incubados a 35,5°C em estufa bacteriológica por 72h. Após esse período, a análise foi feita pela contagem de crescimento número de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) nas placas semeadas. Os resultados mostraram o crescimento significativo de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* nos tubos de resina e pincéis pelo Marta. As seringas de ácido foram os artigos menos contaminados em ambos os grupos, enquanto o pincel pelo Marta e os tubetes de resina apresentaram crescimento significativo, com contaminação em aproximadamente metade deles e sendo considerados então, artigos críticos no que se refere ao risco de infecção cruzada.

Aparelhos fotopolimerizáveis e resinas compostas: fatores que influenciam sua potência e polimerização

Segundo Caldarelli *et al* (2011), a quantidade dos fótons liberados por um fotopolimerizador é diretamente proporcional à formação de radicais livres, garantindo,

assim, completa polimerização das resinas compostas. Dessa forma, o sucesso clínico de uma restauração com resina composta fotopolimerizável, no que se refere ao controle da sensibilidade pós-operatória imediata, da infiltração marginal (que pode resultar em sensibilidade pós-operatória imediata e/ou cárie secundária;), da manutenção da cor inicial e da resistência ao desgaste está diretamente relacionado à qualidade do polímero formado por determinada fonte de luz; portanto, é necessário considerar a qualidade do aparelho fotopolimerizador. Isso implica afirmar que, na fotopolimerização das resinas compostas, o grau de conversão dos monômeros depende de alguns fatores, a saber: intensidade e comprimento de onda da luz emitida pelo aparelho, tempo de exposição à luz, volume de material restaurador a ser fotopolimerizado, quantidade e tipo de fotoiniciador presente no material, tipo de partícula de carga presente, distância da ponta do aparelho fotopolimerizador em relação ao incremento a ser fotopolimerizado (técnica de fotopolimerização), a cor e o grau de translucidez da resina utilizada.

Contarin *et al* (2016) avaliaram a potência dos aparelhos fotopolimerizadores utilizados no curso de Odontologia da Faculdade Meridional de Passo Fundo – RS. Foram utilizados 26 aparelhos fotopolimerizadores caracterizados em novos e usados e aferidos suas potências, através de um radiômetro. Para determinar tal potência, posicionou-se a ponteira ativa do cabo condutor de luz dos fotopolimerizadores verticalmente sobre a parte central da superfície fotossensível do radiômetro. O fotopolimerizador foi acionado por 1 minuto antes de qualquer leitura, a fim de se assegurar um registro que se aproximasse da realidade. Cada fotopolimerizador foi aferido por três vezes, foram inicialmente submetidos à leitura do radiômetro por 20 segundos cada. Posteriormente, novas leituras foram feitas, com o intervalo entre uma e outra leitura de 30 segundos e calculada a média. As variáveis dependentes foram os fotopolimerizadores divididos em novos e usados, para mensurar, através dos dados coletados, a diferença entre os dois aparelhos. Os resultados das medições apontaram que os fotopolimerizadores usados são mais potentes que os novos.

Beltrani *et al* (2012) realizaram a avaliação da intensidade de luz e dos componentes dos aparelhos fotopolimerizadores da Clínica Odontológica da Universidade Estadual de Londrina, conseguindo realizar a comprovação da elevada relação do comportamento clínico dos materiais restauradores resinosos e os fotopolimerizáveis e que eles mantêm relação direta com a intensidade de luz emitida pelos aparelhos empregados para a fotopolimerização. Para a mensuração da intensidade da luz emitida, foi empregado um radiômetro digital para luz halógena e LED, da marca

ECEL-RD-7, bateria 9V, da marca Dabi-Atlante. A avaliação foi feita em cada aparelho, individualmente, e por um único avaliador. Para tanto, antes das leituras, cada aparelho foi acionado por 60 segundos, para aquecimento da lâmpada. Na sequência, cada aparelho foi novamente acionado, por dez segundos e por 3 vezes, sendo registrada a intensidade da luz emitida ao término dos dez segundos de contato da ponteira de fibra óptica com o radiômetro; para análise, foi considerada a média aritmética obtida das três leituras, expressa em mW/cm². Os resultados mostraram que a maioria dos aparelhos avaliados tem intensidade de luz entre 201 e 399 mW/cm² (sendo 91,6% na primeira avaliação e 75,0% na segunda avaliação), concluindo a partir disso que as manutenções periódicas nos aparelhos fotopolimerizadores devem acontecer, para que se tenha uma correta polimerização.

Martins et al (2002) realizaram uma pesquisa com o objetivo de avaliar a microdureza de resinas em função da cor e luz halógena. Para a realização da pesquisa foram confeccionados corpos de provas utilizando-se matrizes de poliéster envoltas por um anel de cobre, contendo uma cavidade padronizada de 6 mm de diâmetro por 2 mm de espessura. Estas cavidades foram preenchidas com resina composta selecionada, Fill Magic - Vigodent, com as cores A3, B3, C3, D3 e I, fotopolimerizadas através de um fotopolimerizador Elipar, calibrado para produzir 3 intensidades de luz diferentes: 450 mW/cm², 800 mW/cm² e uma intensidade de luz crescente de 100 a 800 mW/cm². Foram confeccionados 90 corpos de prova em que o tempo de exposição da resina à luz halógena foi de 40 segundos. As amostras foram armazenadas em tubos de ensaio com água destilada a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Após este período, foram realizados os testes de dureza Knoop na região de superfície e fundo. Os resultados mostraram que houve diferença estatística em relação a intensidade de luz, entretanto em relação a cor, não houve diferença estatística.

3) METODOLOGIA

3.1- Análise da contaminação microbiana dos aparelhos fotopolimerizáveis

Os procedimentos laboratoriais foram realizados no laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da PUC Minas (ICBS – PUC Minas). Durante os experimentos e coletas todas as precauções de biossegurança foram rigorosamente observadas e seguidas.

Foram analisadas 29 pontas de aparelhos fotopolimerizadores das clínicas do Departamento de Odontologia da PUCMinas, em 3 momentos distintos:

T0: antes do uso do aparelho;

T1: após o atendimento do paciente;

T2: após o atendimento do paciente e a desinfecção da ponta (T2).

A área coletada foi delimitada e abrangerá desde a ponta ativa do aparelho até 1cm ao longo da base (figura 1); importa ressaltar que esta é a parte do aparelho que entra em contato com o dente, fluidos orais e a mucosa, quando em procedimentos de restaurações de resina composta.

Nos três momentos (T0, T1 e T2), os espécimes foram coletados por meio de fricção do swab umedecido com cloreto de sódio 0,85% durante um minuto, na base delimitada da ponteira, em condições assépticas.



Figura 1.: Coleta 1cm a partir da ponta ativa até a base do aparelho fotopolimerizador).

- Processamento dos espécimes clínicos - avaliação microbiológica quantitativa e qualitativa

Os espécimes foram transportados para o laboratório de Microbiologia, em embalagem de inox estéril e hermeticamente fechada. O processamento ocorreu em tempo não inferior a 10 minutos e não superior a 20 minutos.

A primeira coleta foi feita antes de qualquer procedimento com o aparelho fotopolimerizável. Neste momento, foi avaliado o nível de contaminação inicial (t0).

Em um segundo momento, o mesmo processo de coleta foi repetido após o atendimento do paciente e sem qualquer método de desinfecção posterior, para a avaliação dos níveis de contaminação após a utilização do aparelho (t1).

Finalmente, após feita desinfecção da ponta com álcool etílico 70% (v/v) na área avaliada, por fricção durante um minuto, a última coleta foi feita.

Para a avaliação qualitativa, os espécimes foram processados, em capela de fluxo laminar, através de imersão dos swabs em 4 ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) e, posteriormente, submetidos à agitação em vórtex, durante 60 segundos (CAIRES e FERREIRA, 2012; BATISTA et al., 2013). Os tubos foram então incubados em estufa bacteriológica, a 37°C por 48 horas, em condições de aerobiose;

A leitura qualitativa foi feita, através da presença ou ausência de turbidez; em caso de presença foi semeada uma alíquota de 0,1 ml em ágar BHI, em duplicata e incubados nas mesmas condições do Caldo BHI.

A partir dos crescimentos obtidos, foram realizadas a contagem e a observação das características morfológicas coloniais típicas de cada grupo microbiano estudado.

Os resultados foram submetidos a análise estatística usando teste ANOVA no programa GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, EUA).

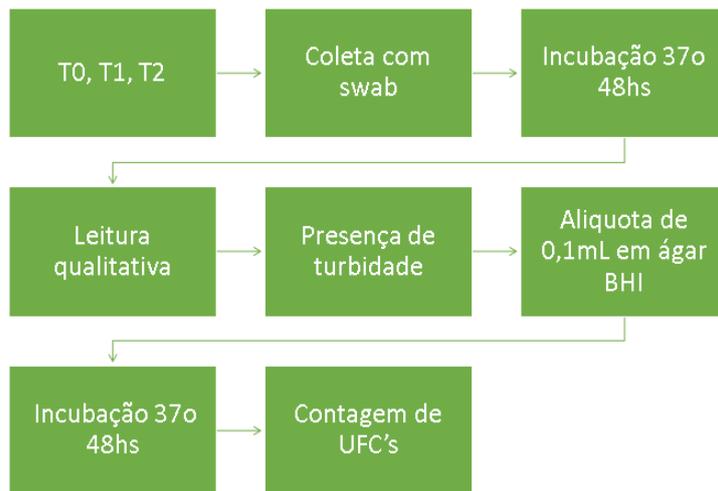


Figura 2. Sequência de coleta e cultura microbiológica.



Figura 3, 4, 5 e 6: Fotos ilustrativas da sequência da coleta

3.2) Avaliação da influência da presença de uma barreira de proteção nos valores de resistência à flexão e módulo de elasticidade da resina composta.

Produção dos corpos de provas de resina composta

Para cada condição experimental foram produzidos 10 corpo-de-provas no formato de barras, com as dimensões de 12 mm x 2 mm x 2 mm em um molde de borracha de rigidez média para espécimes em barra (ODEME- Dental Research, Santa Catarina, Brasil). Feito isso, a fotopolimerização foi feita com o aparelho ECEL modelo SPACELED (ECEL Indústria e Comércio Ltda, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) disponível na clínica de Odontologia da PUC, na região central de cada espécime pelo tempo indicado no quadro 1.

Quadro 1- Materiais que serão usados no estudo com o indicativo de suas cores e fabricante

Resina composta	Cor	Tempo de fotoativação (segundos)	Fabricante
Forma	2A2 esmalte	20	ULTRADENT
Forma	2A2 dentina	20	ULTRADENT
Z100 A2	2A2	40	3M ESPE, EUA
Tetric N Ceram	2A2 esmalte	40	IVOCLAR VIVADENT AG - LIECHTENSTEIN
Tetric N Ceram	EA2 dentina	20	IVOCLAR VIVADENT AG - LIECHTENSTEIN

Como foi citado acima, foram feitos corpos de provas no formato de barra nas condições apresentadas no quadro 1. A fotoativação foi realizada com a ponta do aparelho fotopolimerizador fixada com um gabarito metálico a 5mm de distância da superfície mais externa da resina composta inserida no interior do molde de borracha em incremento único. Foram produzidos 10 corpos-de-prova em cada condição citada no quadro 1, mas com a presença ou não de uma barreira de filme plástico envolto na ponta do aparelho. Sendo assim, um total de 100 barras de resinas compostas foram feitas.

Cálculo da resistência a flexão e do módulo de elasticidade das resinas compostas

Após a confecção dos corpos de provas (n=10) de resina composta, os mesmos foram submetidos ao ensaio de resistência à flexão de três pontos em máquina de ensaio

mecânico (EMIC 5kN, Paraná, Brasil) sob velocidade de 0,5mm/s e célula de carga de 500N. Cada corpo-de-prova no formato de barra foi colocado centro do dispositivo da máquina com a superfície mais próxima da fonte de luz voltada para cima. Os valores do módulo de elasticidade e a resistência à flexão dos materiais foram calculados da seguinte maneira:

a) Cálculo da resistência a flexão:

$$\sigma_f = \frac{3PL}{2bd^2}$$

P = carga em Newtons (N)
L = comprimento do espécime (mm)
b = largura do espécime (mm)
d = espessura do espécime (mm)

b) Cálculo do módulo de elasticidade:

$$E_f = \frac{PL^3}{4bd^3D}$$

P = carga em Newtons (N)
L = comprimento do espécime (mm)
b = largura do espécime (mm)
d = espessura do espécime (mm)
D = deslocamento em mm (mm)

Após a quebra das barras, seus valores em MPa (resistência a flexão) e GPa (módulo de elasticidade) foram submetidos a análise de normalidade usando o GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, EUA).

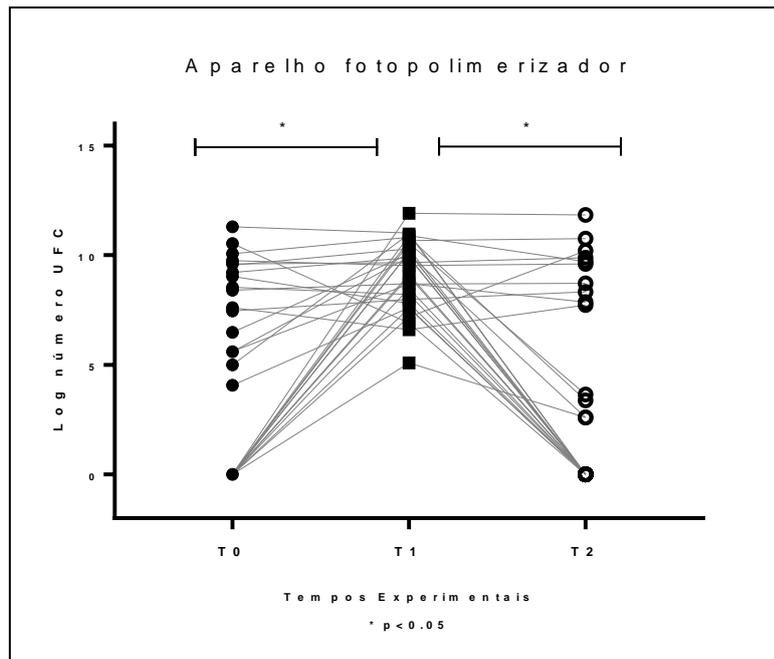
4) Resultados

4.1- Análise da contaminação microbiana dos aparelhos fotopolimerizáveis

Os resultados dos testes microbiológicos quantitativos realizados estão ilustrados na tabela 1 e gráfico 1.

Tab. 1 – Avaliação quantitativa da contaminação microbiana (log do número de UFC) dos aparelhos fotopolimerizadores odontológicos antes do atendimento (T0), depois do atendimento (T1) e após atendimento e desinfecção dos artigos (T2)

Fotopolimerizador	Logarítmo do número de UFC		
	T0	T1	T2
1	9,602	9,662	9,88
2	6,477	10,05	2,6
3	10,07	10811	3,38
4	0	9,12	0
5	8,53	8,204	0
6	0	10,54	3,647
7	0	11,911	11,837
9	0	5,09	2,6
10	0	10,885	9,709
11	5,6	9,924	0
12	4,07	7,6	0
13	0	10,133	0
14	0	10,66	10,76
15	5	10,96	0
16	9,537	10,296	0
17	7,459	7,989	8,324
18	0	7,579	0
19	9,212	9,894	0
20	0	9,033	0
21	0	8,482	0
22	8,408	8,698	7,857
23	0	7,181	10,204
24	10,526	6,903	0
26	11,29	11,01	0
28	5,619	8,681	8,723
30	9,757	9,521	9,602
31	7,602	6,602	7,729
34	0	10,107	0
Média	4,75	9,15	3,69
Desvio Padrão	4,36	10,75	4,45



Graf. 1 - Avaliação quantitativa da contaminação microbiana (log do no. de UFC) dos fotopolimerizadores odontológicos em três tempos experimentais: antes do atendimento (T0), depois do atendimento (T1) e após atendimento e desinfecção dos artigos (T2)

*1 - Cada ponto representa a diferença de contaminação em cada um dos aparelhos nos diferentes tempos experimentais

*2 - As linhas ligam os valores de cada aparelho individualmente nos diversos tempo.

Em T0 observou-se uma média de contaminação de $4,75 \pm 4,36$ (Log₁₀ UFC/4ml). Em T1, após o uso no atendimento dos pacientes, a média de contaminação foi de $9,15 \pm 10,75$ (Log₁₀ UFC/4ml) e em T2, a média foi de $3,69 \pm 4,45$ (Log₁₀ UFC/4ml). Os níveis de contaminação foram semelhantes nos tempos T0 e T2, ou seja, antes do uso no atendimento e após a desinfecção. Em contrapartida, observou-se um aumento significativo de UFCs nos fotopolimerizadores, após o uso em atendimento de pacientes. Ademais, em T2, após a descontaminação do aparelho, houve redução estatisticamente significativa do número de colônias bacterianas quando comparados T1 e T2.

Em 5 amostras (17,4%), a desinfecção após o atendimento (T2) não foi capaz de reduzir os níveis de contaminação microbiana (log UFC) em relação a T1. O percentual médio de redução de contaminação após a desinfecção (em log UFC) foi de 55% com desvio padrão de 43%.

A avaliação qualitativa evidenciada por meio da ausência ou presença de turbidez dos meios (Tabela 2), evidenciou a contaminação de 60,7% dos tubos no tempo experimental T0 enquanto no tempo experimental subsequente (T1), o crescimento se deu em todos os meios; no tempo avaliado após a descontaminação dos aparelhos com álcool 70% (T2), observou-se crescimento em mais da metade dos tubos (57,1%).

Tab. 2 – Avaliação qualitativa da contaminação microbiana (índice de turbidez) dos aparelhos fotopolimerizadores odontológicos antes do atendimento (T0), depois do atendimento (T1) e após atendimento e desinfecção dos artigos (T2)

FOTOPOLIMERIZADOR	AVALIAÇÃO QUALITATIVA		
	T0	T1	T2
1	+++	+++	+++
2	+	+++	+++
3	+++	+++	+
4	-	+++	-
5	++	+++	-
6	-	++	+
7	-	+++	+++
9	-	+	+
10	-	+++	+++
11	+	+++	+
12	-	+	-
13	-	++	-
14		++	++
15	+	++	-
16	+	++	-
17	+	+	+
18	-	+	-
19	+	+	-
20	+	+	-
22	+	++	-
23	-	++	++
24	++	++	+
26	++	++	-
28	+	+	+
30	+	+	+
31	+	+	+
34	-	+	++
36	+	+	-
% de presença de turbidez	17/28 (60,7%)	28/28 (100%)	16/28 (57,1%)

*Obs: (-) AUSÊNCIA DE TURBIDEZ = AUSÊNCIA DE CRESCIMENTO MICROBIANO
 (+) PRESENÇA DE TURBIDEZ = PRESENÇA DE CRESCIMENTO MICROBIANA

4.2) Avaliação da influência da presença de uma barreira de proteção nos valores de resistência à flexão e módulo de elasticidade da resina composta.

A tabela 3 mostra os valores da resistência a flexão em Mpa das resinas compostas da marca Forma fotoativadas sem e com a barreira de plástico ($p=0,4379$). A tabela 4 mostra os valores do módulo de elasticidade em GPa ($p=0,5193$). Em ambas, não houve diferenças estatisticamente significante em nenhuma das condições (cor de esmalte e dentina e tempo de polimerização).

Tabela 3 – Valores médios e desvio-padrão em MPa da resistência à flexão dos corpos de provas produzidos com a resina composta Forma: sem barreira e com barreira

Resina composta/ tempo de polimerização	Sem barreira	Com barreira
Forma esmalte/ 20 segundos	178,11 (25,66)	175,57 (14,47)
Forma dentina/ 20 segundos	176,95 (30,91)	164,25 (21,74)
Forma esmalte/ 40 segundos	173,10 (7,23)	182,96 (26,14)
Forma dentina/ 40 segundos	167,37 (19,54)	187,87 (11,28)

Análise variância 2-fatores com nível de significância de 95%. Valor de $p=0,4379$.

Tabela 4 – Valores médios e desvio-padrão em GPa do módulo de elasticidade dos corpos de provas produzidos com a resina composta Forma: sem barreira e com barreira

Resina composta/ tempo de polimerização	Sem barreira	Com barreira
Forma esmalte/ 20 segundos	2,2 (0,19)	2,59 (0,45)
Forma dentina/ 20 segundos	2,38 (0,29)	2,23 (0,46)
Forma esmalte/ 40 segundos	2,48 (0,43)	2,84 (0,49)
Forma dentina/ 40 segundos	2,30 (0,47)	2,86 (0,27)

Análise variância 2-fatores com nível de significância de 95%. Valor de $p=0,5193$.

As tabelas 5 e 6 são referentes à resina composta Tetric Ceram. A tabela 3 mostra os valores do ensaio de resistência à flexão ($p=0,3862$). A tabela 4 dispõem o valor do módulo de elasticidade ($p=0,6062$). Assim como os grupos produzidos com a resina composta Forma, a Tetric Ceram não mostrou valores diferentes estatisticamente

significantes, seja no ensaio de resistência á flexão como no valor do módulo de elasticidade.

Tabela 5 – Valores médios e desvio-padrão em MPa da resistência à flexão dos corpos de provas produzidos com a resina composta Tetric Ceram: sem barreira e com barreira

Resina composta/ tempo de polimerização	Sem barreira	Com barreira
Tetric esmalte/ 20 segundos	155,07 (16,11)	168,49 (8,83)
Tetric dentina/ 20 segundos	152,65 (14,24)	164,98 (12,10)
Tetric esmalte/ 40 segundos	176,97 (24,17)	166,42 (13,93)
Tetric dentina/ 40 segundos	158,05 (16,11)	153,18 (14,97)

Análise variância 2-fatores com nível de significância de 95%. Valor de $p=0,3862$.

Tabela 6 – Valores médios e desvio-padrão em GPa do módulo de elasticidade dos corpos de provas produzidos com a resina composta Tetric Ceram: sem barreira e com barreira

Resina composta/ tempo de polimerização	Sem barreira	Com barreira
Tetric esmalte/ 20 segundos	2,23 (0,19)	2,21 (0,28)
Tetric dentina/ 20 segundos	1,85 (0,63)	2,26 (0,19)
Tetric esmalte/ 40 segundos	2,14 (0,26)	2,27 (0,28)
Tetric dentina/ 40 segundos	2,00 (0,37)	2,13 (0,24)

Análise variância 2-fatores com nível de significância de 95%. Valor de $p=0,6062$.

Nas tabelas 7 e 8 são mostrados os dados relativos aos grupos construídos com a resina Z100. De maneira similar aos dois compósitos anteriores, não houve diferenças estatisticamente significante no ensaio de resistência a flexão ($p=0,1592$) e no módulo de elasticidade ($p=0,3170$). É importante lembrar que este compósito não apresenta diferenciação na cor de esmalte e de dentina.

Tabela 7 - Valores médios e desvio-padrão em MPa da resistência à flexão dos corpos de provas produzidos com a resina composta Z100: sem barreira e com barreira

Resina composta/ tempo de polimerização	Sem barreira	Com barreira
Z100/ 20 segundos	182,42 (22,32)	177,05 (21,92)
Z100/ 40 segundos	192,62 (21,05)	183,42 (28,09)

Análise variância 2-fatores com nível de significância de 95%. Valor de $p=0,1592$.

Tabela 8 - Valores médios e desvio-padrão em GPa do módulo de elasticidade dos corpos de provas produzidos com a resina composta Z100: sem barreira e com barreira

Resina composta/ tempo de polimerização	Sem barreira	Com barreira
Z100/ 20 segundos	2,99 (0,33)	2,81 (0,37)
Z100/ 40 segundos	3,10 (0,66)	2,84 (0,81)

Análise variância 2-fatores com nível de significância de 95%. Valor de $p=0,3170$.

5) Discussão

Os aparelhos fotopolimerizadores são rotineiramente utilizados durante a maioria dos procedimentos clínicos realizados em um consultório odontológico. Na grande maioria das vezes, tais instrumentos entram em contato direto com a mucosa bucal e saliva. Em algumas situações e, dependendo da função no momento de uso do aparelho, entram em contato indireto com sangue através das mãos/luvas e, excepcionalmente, podem entrar em contato direto com sangue. Sendo assim, devem ser classificados como artigos semicríticos. Por se tratarem de artigos semicríticos e seu potencial risco de gerar infecção cruzada, a recomendação vigente é que estes artigos sejam desinfetados, preferencialmente, com desinfetantes de alto nível. Desinfetantes de alto nível são germicidas capazes de inativar todas as formas microbianas, com exceção de alguns endosporos bacterianos. Os álcoois são desinfetantes de nível intermediário, portanto podem inativar bactérias vegetativas (incluindo o bacilo da tuberculose), vírus lipídicos e alguns hidrofílicos, mas não podem inativar endosporos bacterianos (Favero & Bond 2001). Optou-se pelo álcool 70%, pois ele ainda é o desinfetante de escolha para muitos profissionais assim como no protocolo de clínicas e faculdades odontológicas.

Avaliação microbiológica qualitativa e quantitativa

A avaliação da turbidez do meio de cultura expressa uma qualidade positiva ou negativa. Dessa maneira, o presente trabalho, avaliou, primeiramente, a qualidade da descontaminação utilizada nos fotopolimerizadores. A grande maioria dos artigos testados e desinfetados, como esperado, apresentaram uma redução da contaminação; foi observado, entretanto, que em mais da metade deles, algum nível residual de contaminação persistiu. A avaliação qualitativa é mais sensível do que a quantitativa, porém não permite uma avaliação numérica do nível de descontaminação atingido. O resultado do estudo quantitativo mostrou que o processo de desinfecção testado diminuiu, de maneira estatisticamente significativa, os níveis de contaminação após o uso em atendimentos clínicos de pacientes. Porém não há diferenças entre as contaminações do aparelho nos tempos em que precedem o atendimento quando comparados com o momento experimental após o uso de álcool 70% como desinfetante. Ademais, ainda que tenham reduzido, como mostrado nos resultados da avaliação qualitativa, mais da metade continuam contaminados, sendo, portanto, um risco potencial de infecção cruzada. A literatura é escassa quando se avalia contaminação e desinfecção especificamente de

fotopolimerizadores mas estes resultados corroboram estudos científicos semelhantes que utilizaram este mesmo agente desinfetante e outros artigos odontológicos afins (Gomes Pinto, 2013; Pereira, 2010).

A eficácia da desinfecção com álcool 70% varia de acordo com o tipo de microrganismo presente, pelas condições do artigo desinfetado (presença ou ausência de sujidade visível) assim como pela técnica aplicada. Esta variação pode ocorrer também em função do tipo e critério de limpeza do artigo. Um estudo que avaliou a eficácia de 4 desinfetantes químicos, observou viabilidade do *S. mutans* por até 60 minutos de imersão em álcool etílico 70%. Além disso, foi observada formação de grânulos bacterianos (aglutinações de células microbianas) que podem ter aumentado a viabilidade dessas bactérias mesmo após 60 minutos de imersão em solução alcoólica (Vieira, 2005). Deve-se considerar, ainda no presente experimento, as condições de armazenamento da solução desinfetante, a execução da desinfecção propriamente dito e a falta de possibilidade de monitoramento. Tudo isso corrobora com a hipótese de que, essa variabilidade de crescimento microbiano observada após desinfecção poderá ser ainda maior em condições clínicas rotineiras. Ainda deve-se considerar que, por limitações técnicas, este experimento avaliou somente a ocorrência de bactérias em condições de aerobiose e, possivelmente, se as condições de incubação estivessem se estendido também em anaerobiose os resultados poderiam ter sido ainda mais significativos. Portanto, a desinfecção com álcool 70%, ainda que tenha exercido redução significativa da contaminação após o uso em pacientes odontológicos, pode não garantir a ausência de microrganismos viáveis e, de consequência, não impedir a ocorrência da contaminação cruzada.

Avaliação da influência da presença de uma barreira de proteção nos valores de resistência à flexão e módulo de elasticidade da resina composta.

O uso de barreiras como o filme de PVC em superfícies contamináveis, quando descartadas entre pacientes é um instrumento potente para garantir a prevenção da infecção cruzada; entretanto, no caso do uso das pontas dos fotopolimerizadores, a possibilidade de interferência na eficácia da polimerização de uma resina composta, especialmente nos casos clínicos em que já existe uma distância considerável da ponta do aparelho fotopolimerizador em relação ao incremento do material resinoso é considerado como um empecilho para a implementação de seu uso.

Os dados deste estudo referentes à avaliação da influência da presença de uma barreira de proteção nos fotopolimerizadores mostraram que os grupos testados e produzidos com a resina composta Forma, a Tetric Ceram e a Z100 não apresentaram valores diferentes estatisticamente significantes com ou sem o uso de barreiras, seja no ensaio de resistência à flexão ou no valor do módulo de elasticidade. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa em relação à translucidez do material. Cores de esmalte foram similares às cores de dentina. Nesta perspectiva, o uso das barreiras físicas (filmes de PVC, p. ex) pode ser um método prático e simples para a prevenção e controle de infecção cruzada na medida em que a contaminação microbológica decorrente da utilização da ponta ativa dos equipamentos fotopolimerizáveis passaria a ser localizada na superfície externa da barreira, que, por sua vez, poderá ser retirada e descartada adequadamente após o procedimento. Assim, tais resultados apontam a barreira física como processo alternativo e mais eficiente do que os métodos de desinfecção concorrente utilizando-se da solução de álcool 70%.

6) Conclusão

Nas condições testadas, a desinfecção com álcool etílico a 70% reduziu significativamente os níveis de contaminação nos fotopolimerizadores após seu uso em atendimento odontológico, porém não garantiu a inviabilidade de todas as formas microbianas presentes. O processo de desinfecção dos fotopolimerizadores está sujeito a uma série de fatores, como carga e tipo microbiano, limpeza prévia, condição da solução desinfetante, bem como a técnica utilizada, os quais impedem o controle seguro de infecção cruzada entre pacientes.

O uso de barreiras como o filme de PVC nos fotopolimerizadores não alterou, significativamente, os valores de resistência à flexão e módulo de elasticidade da resina composta testadas, tornando-se uma alternativa viável e mais segura na prevenção da infecção cruzada advindas dos aparelhos fotopolimerizadores.

7) Referências Bibliográficas

1. Alvarez-Leite, M.E et al. *Análise quantitativa da contaminação da água das tubulações de equipamentos odontológicos*. Arquivo Brasileiro de Odontologia, 20/08/2006.
2. Ather A, Patel B, Repare NB, Diogenes A, Hargreaves KM. Coronavirus Disease 19 (COVID-19): Implications for Clinical Dental Care. JOE.2020, v.46, n.5, p.584-595.
3. Batista, M. E., Gomes, P. e Alvarez-Leite, M.E. *Avaliação da contaminação microbiológica de tubos de resina composta, seringas de ácido e pincéis de pelo marta utilizados em diferentes restaurações na clínica odontológica*. Rev. Odontol. Univ. Cid. São Paulo 2013; v.25, n.2, p.115-25, maio-ago 2013.
4. Belo Horizonte. *PORTARIA SMSA/SUS-BH N° 008/2006. Estabelece condições para instalação e funcionamento de estabelecimentos de Assistência*. Disponível em:<www.pbh.gov.br/smsa/biblioteca/gevis/port_008_06.pdf>.
5. Beltrani F. C. et al, Avaliação da intensidade de luz e dos componentes dos aparelhos fotopolimerizadores da Clínica Odontológica da Universidade Estadual de Londrina, Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde v.14, n.1, p. 5-11, 2012.
6. Caires, F. Avaliação da contaminação dos tubos de resina composta nas clínicas do Curso de Odontologia de uma universidade particular em Manaus-AM. *J Health Sci Inst.* v.30, n.3, p.206-10, 2012.
7. Caldarelli. P. G. et al, Aparelhos fotopolimerizadores: evolução e aplicação clínica - uma revisão da literatura, 2011.
8. Contarin, CR et al, Avaliação da potência dos aparelhos fotopolimerizadores utilizados no curso de odontologia da IMED, 2016.
9. Cunha et al. Agentes externos influenciam o comportamento mecânico dos compósitos poliméricos – estudo de casos. *HOLOS*, Ano 26, Vol.5, 2010.
10. Favero MS, Bond WW. Chemical disinfection of medical and surgical materials. [In] Block SS. *Disinfection, sterilization and preservation*. 5 ed. Philadelphia : Lippincott Williams e Wilkins, 2001, 43, pp. 881-918.
11. Freitas, C et al. Avaliação da contaminação microbiológica em equipamentos radiográficos de uma Faculdade de Odontologia. *Braz Dent Sci* v.15, n.1, p.39-46, jan/mar2012.
12. Gomes-Pinto, F; Desinfecção das canetas de alta rotação com álcool 70% P/V sem limpeza prévia: avaliação do risco de infecção cruzada. 2013. *Dissertação de doutorado – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013*.
13. Lorenzo J. Microbiologia para estudantes de odontologia. São Paulo: Atheneu; 2004.
14. Martins F. et al Microdureza de resinas em função da cor e luz halógena. 2002
15. Minas Gerais. *Resolução SES/MG n° 1559/2008 de 13 de Agosto de 2008. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece condições para a instalação e funcionamento dos Estabelecimentos de Assistência Odontológica/EAO no*

Estado de Minas Gerais. Disponível em:
<http://www.saude.mg.gov.br/atos_normativos/legislacao-sanitaria/estabelecimentos-de-saude/odontologia/odontologia>.

16. Mondelli, J. Fundamentos de Dentística Operatória. Santos; Edição: 2^a, 2017
17. Murofuse, N. T. et al. Comportamento dos acadêmicos, decentes e técnicos-administrativos da clínica odontológica da Unioste: riscos ocupacionais e atividades desenvolvidas. *Acta Sci Health Sci*, Maringá, v. 30, n. 1, p. 81-87, 2008.
18. Pereira, C. L.S. Avaliação microbiológica da eficácia dos métodos de descontaminação de alicates ortodônticos. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração: Ortodontia. Belo Horizonte. 2010.
19. Phillips, R.W. Materiais dentários de Skinner. Trad. da 10. ed. norte-americana. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, p.161-177, 1998.
20. Rathbun, W.E. Sterilization and asepsis. In: NISENGARD, R.J., NEWMAN, M.G. Oral microbiology and immunology. 2. ed. St.Louis: W.B. Saunders, 1994. p. 402-23
21. Vieira CD, Farias LM, Diniz CG, Alvarez-Leite ME, Camargo ERS, Carvalho MAR. New methods in the evaluation of chemical disinfectants used in Health Care Services. *Am J Infect Control*. 2005, Vol. 33, 3, pp. 162-9.