



## Avaliação dos procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (HV-UPF)

Cleaning, disinfection, and biosecurity procedures  
at Universidade de Passo Fundo Veterinary Hospital (HV-UPF)

Luciana Ruschel dos Santos<sup>1</sup>, João Francisco Scalco Neto<sup>1,2</sup>, Natalie Nadin Rizzo<sup>1,3</sup>,  
Paulo Vinícius Bastiani<sup>1,4</sup>, Laura Beatriz Rodrigues<sup>1</sup>, Daiane Ferreira<sup>1</sup>, Naiara Schwants<sup>1</sup>,  
Heloísa Helena de Alcântara Barcellos<sup>1</sup> & Maurício Veloso Brun<sup>1</sup>

### RESUMO

Os hospitais veterinários têm particularidades que os distinguem de hospitais humanos, embora os princípios básicos de limpeza e esterilização sejam os mesmos. Devido aos riscos de contaminações cruzadas e infecções, é fundamental utilizar protocolos padronizados e avaliar a eficácia dos processos empregados na limpeza e desinfecção dos ambientes hospitalares. Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar os procedimentos dos funcionários e dos médicos veterinários para a limpeza, desinfecção e biossegurança no Hospital Veterinário da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF (HV-UPF), a qualidade microbiológica e físico-química da água utilizada na higienização e a contaminação ambiental dos ambulatórios do HV-UPF. As análises de água indicaram padrões físico-químicos e microbiológicos adequados, ausência de coliformes termotolerantes, coliformes totais  $<1,1\text{NMP/mL}$  e bactérias heterotróficas  $1,0 \times 10^2\text{UFC/mL}$ . A avaliação das contagens de sedimentação simples e os resultados dos *swabs* de superfície realizados antes e após a limpeza e desinfecção dos ambulatórios estavam em conformidade com a APHA, que recomenda até  $30\text{ ufc/cm}^2$  e  $2\text{ ufc/cm}^2$ , respectivamente. Entretanto, algumas contagens bacterianas aumentaram após a desinfecção, indicando que os procedimentos devem ser revistos e que testes de eficácia de desinfetantes *in vitro* devem ser realizados. As atividades dos funcionários e médicos veterinários do HV-UPF não são padronizadas, reforçando a necessidade de cursos de treinamento na área, com noções básicas de microbiologia e o estabelecimento de protocolos para os procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança.

**Descritores:** desinfecção, biossegurança, contaminação ambiental, hospitais veterinários.

### ABSTRACT

Veterinary hospitals show remarkable differences from human hospitals, although the basic principles that underlie cleaning and sterilization measures are just the same. The use of standardized protocols and the assessment of the efficacy of cleaning and disinfection procedures in hospital facilities are of utmost importance, due to the risk of cross-contaminations and infections. Therefore, this study aimed to assess the cleaning, disinfection, and biosecurity procedures followed by the cleaning staff and by veterinary doctors at Universidade de Passo Fundo Veterinary Hospital (HV-UPF), as well as the microbiological, physical and chemical quality of the water used for sanitation, and the environmental contamination of HV-UPF outpatient units. The quality of the water used met the physical and chemical standards, showed absence of heat-resistant coliforms, a total coliform count  $<1.1\text{MPN/mL}$  and a heterotrophic bacterial count of  $1.0 \times 10^2\text{CFU/mL}$ . The simple sedimentation and surface swabbing results obtained before and after cleaning and disinfection of the outpatient facilities were consistent with APHA recommendations (up to  $30\text{ cfu/cm}^2$  and  $2\text{ cfu/cm}^2$ , respectively). However, some bacterial counts increased after disinfection, indicating that the procedure must be reassessed and that *in vitro* tests must be carried out to evaluate the efficacy of disinfectants. The cleaning staff and veterinary doctors at HV-UPF do not use standardized protocols for cleaning and disinfection, which demonstrates the necessity for training courses that provide basic instruction in the concepts of microbiology, and for the implementation of cleaning, disinfection, and biosecurity protocols.

**Key words:** disinfection, biosecurity, cross-contaminations, veterinary hospital.

## INTRODUÇÃO

Os princípios básicos de limpeza, desinfecção, esterilização e biossegurança são equivalentes nos hospitais veterinários (HVs) e hospitais humanos. Entretanto, devido às particularidades dos HVs, estes processos não são devidamente padronizados e avaliados, embora nestes locais exista o risco de contaminações cruzadas e infecções hospitalares. Neste sentido, os pacientes atendidos em HVs, mesmo não apresentando sintomas específicos, deveriam ser considerados potenciais veiculadores de doenças transmissíveis, induzindo os médicos veterinários a adotar uma postura de precaução para não se infectar ou transmitir patógenos para os outros pacientes. Conseqüentemente, o controle das contaminações é fundamental e requer proteção do paciente e dos profissionais com uso de luvas, limpeza, desinfecção e/ou esterilização de superfícies e equipamentos, eliminação apropriada de resíduos hospitalares e, principalmente, a correta padronização e execução destas atividades [7]. A água utilizada e a aplicação dos germicidas têm papel fundamental neste processo, uma vez que os padrões microbiológico e físico-químicos da água, diluições dos produtos e os tempos de contato com as superfícies interferem diretamente na qualidade da desinfecção [11].

Este trabalho teve por objetivos avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da água empregada nos processos de limpeza e desinfecção do HV-UPF, verificar os procedimentos dos funcionários e dos médicos veterinários quanto a este processo e identificar os níveis de contaminação nos equipamentos e instalações do HV-UPF antes e após a limpeza e desinfecção dos mesmos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas das amostras foram feitas nos ambulatórios do Hospital Veterinário da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF (HV-UPF) e as análises no Laboratório de Bacteriologia e Micologia do HV-UPF e nos laboratórios de Microbiologia e de Ensaio Físico-Químicos de Água do Centro de Pesquisa em Alimentos (CEPA/UPF). Para as análises microbiológicas de água coletou-se amostras entre agosto de 2005 e janeiro de 2006, totalizando seis amostras, pesquisando-se coliformes termotolerantes (NMP/mL), coliformes totais (NMP/mL) e contagem de bactérias heterotróficas (UFC/mL), conforme a metodologia da APHA [1]. Para os ensaios físico-químicos foram avaliados pH, turbidez, condutividade, cloretos, du-

reza total, sódio, potássio, nitritos, ferro total, alumínio, manganês, cobre, zinco, nitrato, cromo, cor e odor [3].

Para avaliação dos procedimentos de limpeza e desinfecção no HV-UPF foram realizadas entrevistas com funcionários encarregados da limpeza de quatro ambulatórios, centro de tratamento intensivo (CTI), três salas de internação, setor de isolamento (uma sala de enfermagem e três salas de internação) e áreas de circulação do HV-UPF. As questões foram referentes ao treinamento para a função, padronização dos procedimentos para a limpeza e desinfecção do ambiente e dos equipamentos, frequência dos procedimentos e modo de preparo das soluções e diluições. Os médicos veterinários foram argüidos quanto aos procedimentos de biossegurança nos atendimentos aos pacientes.

Para avaliação da contaminação ambiental pela técnica de sedimentação simples antes e depois da limpeza utilizou-se a metodologia preconizada pela APHA [1], que recomenda até 30 ufc/cm<sup>2</sup>. Foram distribuídas placas com agar para contagem (PCA) em duplicata em diferentes pontos dos ambulatórios (entrada e centro da sala, próximo da mesa de atendimento dos animais e pia), antes e depois da limpeza do piso com hipoclorito de sódio, diluído empiricamente pelos funcionários. Após 15 minutos de exposição as placas foram incubadas por 48 horas a 35°C. Procedeu-se então a leitura das placas e contagem das colônias, expressando-se o resultado em ufc/cm<sup>2</sup>. O cálculo foi realizado com a seguinte fórmula [2]:

$$\text{ufc/cm}^2 \cdot \text{semana}^1 = \frac{\text{número de colônias} \times 10080}{(\pi \times r^2) \times t}$$

onde: r = raio da placa de Petri em centímetro; t = tempo de sedimentação em minutos; 10080 = minutos por semana.

Para avaliação da eficácia da higienização antes e após a limpeza e desinfecção dos ambulatórios utilizou-se a técnica de *swabs* de superfície preconizada pela APHA [1], que recomenda até 2 ufc/cm<sup>2</sup>. Os pontos de coleta foram: mesas de atendimento aos animais, pias de aço inoxidável e mesas de trabalho dos veterinários. A amostragem e semeadura dos meios foi realizada em duplicata, antes e após o processo de limpeza concorrente e desinfecção das superfícies com amônia quaternária 3,5%, rotina no HV-UPF. Foram usados *swabs* comerciais, umedecidos

e transportados em água peptonada 0,1% (AP 0,1%). Um molde (10 X 10cm) foi colocado sobre a superfície a ser avaliada e o *swab* espalhado vinte vezes num sentido e vinte vezes no sentido oposto [2]. Os *swabs* foram colocados em tubos com 10 mL de AP 0,1% e semeados em alíquotas de 100 mL nos meios PCA, agar Baird-Parker, agar VRB e agar Cetrimide. O agar PCA é usado para determinar a contagem total de microrganismos contidos em leite, água e outros materiais. O agar Baird-Parker (BP) é usado para isolamento de *Staphylococcus aureus*. O agar VRB (Violet Red Bile Agar) é empregado para detecção e enumeração de coliformes, enquanto que o agar Cetrimide (*Pseudomonas selective Agar*) e usado para isolamento e diferenciação de *Pseudomonas aeruginosa*. Após incubação, realizou-se a leitura das placas e as colônias suspeitas identificadas por coloração de Gram e provas bioquímicas confirmatórias conforme McFadin [9].

#### RESULTADOS

Os resultados das análises microbiológicas de água foram: coliformes termotolerantes (NMP/mL) e coliformes totais (NMP/mL) < 1,1 (ausente) e contagem de bactérias heterotróficas (UFC/mL)  $1,0 \times 10^2$ . As análises físico-químicas demonstraram padrões de potabilidade em conformidade com a Portaria n°. 518 [3].

Nas entrevistas com os funcionários da limpeza observou-se que estes recebem instruções sobre suas funções, os locais onde devem atuar, o tipo de limpeza que devem efetuar, os procedimentos e a frequência para limpeza e desinfecção do ambiente e equipamentos do HV-UPF. Entretanto, estão instruções são repassadas por outros funcionários, que por sua vez usam estas técnicas de forma empírica, já que não existem protocolos determinados no HV-UPF. Segundo os médicos veterinários argüidos, a lavagem de mãos é realizada antes e após cada consulta com um sabão comum, não degermante, disponibilizado nos ambulatórios. O tempo de lavagem variou de 20 e 30 segundos até 3 a 5 minutos e a secagem é feita com papel toalha ou com compressas estéreis, não existindo protocolos estabelecidos. Para anti-sepsia de mãos são utilizadas solução alcoólica de clorexidina 0,5%, escova de clorexidina 2% ou PVPI 1%, antes e após cada atendimento dos pacientes. Os médicos veterinários citaram que costumam higienizar as mesas de atendimento aos pacientes entre os procedi-

mentos, usando amônia quaternária 3,5% ou álcool 70%, mas não mencionaram os tempos de contato.

Os resultados das contagens das placas de sedimentação simples com Agar PCA após 15 minutos de exposição, antes e após a limpeza concorrente. HV-UPF mostraram contagens entre 2 e 12,8 ufc/cm<sup>2</sup>.

Os resultados da avaliação da eficácia da higienização pela técnica de *swabs* de superfície antes e após a limpeza e desinfecção dos ambulatórios mostrou que, no meio PCA, houve diminuição nas contagens até os níveis recomendados pela APHA (2 ufc/cm<sup>2</sup>). Os meios de cultura VRB e Cetrimide não revelaram crescimento, meio BP com 1 ufc/cm<sup>2</sup> na mesa do veterinário e 5 ufc/cm<sup>2</sup> na balança antes da limpeza e meio VRB com 3 ufc/cm<sup>2</sup> depois da limpeza. Nos *swabs* de pia, onde as placas foram negativas antes da limpeza, houve um aumento para 5 ufc/cm<sup>2</sup> após a aplicação de amônia quaternária.

#### DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas da água empregada no HV-UPF estavam em concordância com os parâmetros estabelecidos pela APHA [1] e pela Portaria n°. 518 [3], respectivamente. A ausência de coliformes fecais e totais e contagens de  $5,0 \times 10^2$  para bactérias heterotróficas indicam água própria para o consumo e conseqüentemente, para utilização na higienização do HV-UPF.

A qualidade da água é importante tanto para limpeza como para desinfecção. Quando da desinfecção, a utilização de águas contaminadas por coliformes e *Streptococcus faecalis* causa diminuição da eficácia do desinfetante, uma vez que parte deste é consumida para desinfetar a água de diluição antes da solução ser aplicada sobre uma superfície [12]. Além disso, a água contaminada pode gerar recontaminação dos locais já higienizados. Os desinfetantes de uso corrente no HV-UPF são o hipoclorito de sódio e a amônia quaternária. Segundo Contreras [4], os produtos a base de cloro podem ser utilizados em água de dureza elevada, enquanto que a os compostos quaternários de amônia são incompatíveis com água duras. Assim, a dureza da água do HV-UPF não estaria afetando a ação destes produtos.

Com relação aos procedimentos adotados pelos funcionários responsáveis pela limpeza do HV-UPF pôde-se inferir que possivelmente as diluições, tempos de exposição, pH e a temperatura das soluções desinfetantes não estejam adequados. O hipoclorito

de sódio, usado na limpeza geral, é preparado no momento do uso pelo próprio funcionário, que o faz de forma empírica, não observando as diluições recomendadas. Outra não conformidade refere-se à descontaminação das superfícies antes da desinfecção. Segundo Sobestiansky [12], uma limpeza prévia das instalações antes da aplicação dos desinfetantes tem por finalidade a obtenção de superfícies limpas, uma vez que a maioria dos desinfetantes são inativados pela matéria orgânica e sua presença sobre as superfícies dificulta ou até mesmo inviabiliza a penetração dos desinfetantes em todas as frestas onde possam se alojar os microrganismos. Desta maneira, uma limpeza prévia permite uma ação direta do produto sobre os agentes causadores de doença. Segundo o mesmo autor, aumentar a dose do produto desinfetante não iria compensar a falta de uma limpeza prévia.

No HV-UPF, as mesas de atendimentos dos médicos veterinários são potencialmente contaminadas na manipulação dos animais, inclusive por estes algumas vezes defecarem ou urinarem durante as consultas. Pelo verificado nas entrevistas, a retirada da matéria orgânica está sendo realizada sem descontaminação prévia. Conforme o Manual de Controle de Infecção da USP [7], sempre que houver presença de matéria orgânica como sangue e secreções sobre uma superfície, deve-se proceder a retirada do material com papel toalha, desprezando-se em lixeira de resíduo infectante, seguindo-se com lavagem com água e sabão, secagem e só então se aplicando o produto desinfetante. Segundo os autores, o princípio ativo de eleição para estas situações é o hipoclorito de sódio.

Conforme os médicos veterinários do HV-UPF, a lavagem de mãos é realizada antes e após cada consulta com um sabão comum, não degermante, disponibilizado nos ambulatórios, sem protocolos estabelecidos. Sabe-se que a lavagem freqüente das mãos é um importante meio de proteção pessoal e de prevenção de doenças, embora se estime que apenas 40% dos profissionais o façam rotineiramente [7]. Conforme Contreras [4], as mãos são a principal via de transmissão de infecção hospitalar e sua adequada lavagem é fundamental para o seu controle. A equipe hospitalar, ao iniciar suas atividades em áreas críticas, deve retirar adornos e lavar as mãos até o cotovelo, com sabão degermante por 3 a 5 minutos. Em unidades de alto risco, há necessidade de se remover a

flora residente e transitória, por isso o uso de anti-sépticos, enquanto que nas demais unidades o uso de água e sabão seria suficiente [11].

Para anti-sepsia de mãos utiliza-se no HV-UPF uma solução de clorexidina 0,5%. A recomendação do fabricante é aplicar o produto com gaze esterilizada durante três minutos, deixar secar completamente e repetir o procedimento. O produto a base de iodo usado nos ambulatórios (Polivinil Pirrolidona Iodo (PVP-I) – 10%) tem ação rápida e efeito prolongado mesmo em presença de matéria orgânica. É ativo contra bactérias não esporuladas, fungos e vírus, sem irritar nem sensibilizar a pele, sendo facilmente removido com água. É indicado para anti-sepsia pré-operatória complementar das mãos da equipe cirúrgica e do campo operatório, bem como anti-sepsia de pele para flebotomias, punções, biopsias e injeções intramusculares e endovenosas. Para desinfecção de mãos, a recomendação é usar um produto degermante e aplicar o produto, friccionando-o até a secagem, não enxaguar e calçar luvas estéreis. Como o sabão disponibilizado nos ambulatórios do HV-UPF não é degermante, falhas no processo de anti-sepsia das mãos dos médicos veterinários podem estar ocorrendo.

Para a desinfecção de superfícies, como mesas de atendimento, utiliza-se no HV-UPF álcool etílico, que tem boa atividade germicida, baixo custo e baixa toxicidade. É usado para desinfecção de nível intermediário ou médio de artigos e superfícies, com tempo de exposição médio de 10 minutos. É contra indicado em acrílico e enrijece borracha e tubos plásticos. Tem espectro de ação amplo e rápido contra bactérias vegetativas, vírus e fungos, mas não é esporicida e as apresentações mais freqüentes são álcool etílico e álcool isopropílico [8].

Quanto aos resultados das placas de sedimentação simples com Agar PCA, a recomendação da APHA foi atendida, ou seja, até 30 ufc/cm<sup>2</sup>. Entretanto, deve-se destacar que, após a limpeza, houve um aumento das contagens no piso próximo a mesa dos veterinários e da balança de pesagem dos animais. No HV-UPF utiliza-se o hipoclorito de sódio para desinfecção de pisos. A recomendação de uso do fornecedor deste produto é uma diluição 0,1% e tempo de contato de 30 minutos. Possivelmente as diluições e tempo de contato dos produtos estejam incorretos, possibilitando que os locais já higienizados permaneçam contaminados.

A recomendação da APHA [1] para avaliação de superfícies pelo método de *swab* de superfície é até 2 ufc/cm<sup>2</sup>. Quando da leitura das placas do meio PCA, verificou-se que, de modo geral, houve diminuição nas contagens até os níveis recomendados. Os demais meios de cultura (BP, VRB e Cetrimide) não revelaram crescimento, ou apenas crescimento nos meios BP (1 ufc/cm<sup>2</sup> na mesa do veterinário e 5 ufc/cm<sup>2</sup> na balança antes da limpeza) e VRB (para 3 ufc/cm<sup>2</sup> depois da limpeza). Também no *swab* da pia, onde as placas foram negativas antes da limpeza, houve um aumento para 5 ufc/cm<sup>2</sup> após a aplicação de amônia quaternária. Este fato pode ser atribuído a uma falha no processo de desinfecção, como diluição e tempo de contato inferior ao recomendado, por exemplo.

A desinfecção de superfícies no HV-UPF é realizada com um composto de amônia quaternária a 3,5%. Estes compostos são largamente utilizados como anti-sépticos e desinfetantes devido à sua ação surfactante e à baixa toxicidade, aliado ao seu poder microbicida. São considerados antimicrobianos de pequeno espectro de ação por agirem sobre bactérias não esporuladas, fungos e vírus com envoltório lipídico [5]. São efetivos contra um amplo número de bactérias como *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia*. Sua ação é efetiva quando em permanência por no mínimo 10 minutos a temperatura ambiente, em superfícies inanimadas, duras e não porosas. Tem um alto poder bacteriostático, potencializado pela formação de filmes ou películas sobre a superfície, com poder residual longo [12]. Os compostos quaternários, quando em contato com populações bacterianas, exercem rapidamente sua ação antimicrobiana. Entretanto, as bactérias remanescentes

apresentam uma resistência surpreendente e aumentada [6].

De acordo com Merianos [10], a capacidade dos compostos a base de amônia quaternária em destruir células bacterianas depende de fatores como a concentração do desinfetante, a natureza e densidade da célula bacteriana, tempo de contato, temperatura do meio, o pH e a presença de matéria orgânica. Como foi identificado nas entrevistas com funcionários da limpeza do HV-UPF, a descontaminação das superfícies dos equipamentos não está sendo realizada, além de não estarem sendo respeitadas a concentração do produto, tempo de contato e pH, o que pode estar influenciando na atividade da amônia quaternária, embora, de modo geral, este produto tenha apresentado bons resultados nos testes de avaliação pela técnica de *swabs* de superfície.

#### CONCLUSÕES

As análises de água indicaram padrões físico-químicos adequados, ausência de coliformes termotolerantes, coliformes totais <1,1NMP/mL e bactérias heterotróficas 1,0X10<sup>2</sup>UFC/mL. A avaliação das contagens de sedimentação simples e os resultados dos *swabs* de superfície realizados antes e após a limpeza e desinfecção dos ambulatórios estavam em conformidade com a APHA, que recomenda até 30 ufc/cm<sup>2</sup> e 2 ufc/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Entretanto, algumas contagens bacterianas aumentaram após a desinfecção, indicando que os procedimentos devem ser revistos, além da realização de testes de eficácia de desinfetantes *in vitro*. As atividades dos funcionários e médicos veterinários do HV-UPF não são padronizadas, indicando a necessidade de cursos de treinamento na área, com noções básicas de microbiologia e o estabelecimento de protocolos para os procedimentos de limpeza, desinfecção e biossegurança.

#### REFERÊNCIAS

- 1 **American Public Health Association. 1998.** *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th edn. New York: American Public Health Association, 848p.
- 2 **Andrade N.J. 2005.** Metodologias para avaliar condições higiênicas de ambientes de processamento de alimentos. In: *XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia* (Santos, Brasil). 1 CD-ROM.
- 3 **BRASIL. Ministério da Saúde. 2004.** Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. DOU 26/03/2004, seção I, p 266. Brasília, 2004.
- 4 **Contreras C.C. 2002.** *Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados*. São Paulo: Varela, 181p.
- 5 **Heit M.C. & Riviere J.E. 1995.** Antiseptics and disinfectants. In: Adams A.R. (Ed.) *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 7th edn. Iowa: Iowa State University, pp. 741-752.
- 6 **Huber G.W. 1992.** Anti-sépticos e Desinfetantes. In: Booth N.H. & McDonald L.E. (Eds). *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.617-632.

- 7 **Manual de Controle de Infecção USP. 2005.** Publicado no Diário Oficial da União em 16 de dezembro de 1995. Disponível em <http://www.forp.usp.br/restauradora/etica/sanitaria>. Acessado em 12 de abril de 2005.
- 8 **Mazzola P.G., Martins A.M.S. & Penna T.C.V. 2003.** Determination of decimal reduction time (D-value) of chemical agents used in hospital disinfection. *Brazilian Journal of Microbiology*. 34: 1-24.
- 9 **McFaddin J.F. 1980.** *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Baltimore: Willian & Wilkins, 678p.
- 10 **Merianos J.J. 1991.** Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: Block S.S. (Ed). *Disinfection, Sterilization and Preservation*. 4th edn. Philadelphia: Lea & Febiger, pp.225-253.
- 11 **Mozachi N.O. 2005.** *Hospital: manual do ambiente hospitalar*. Curitiba: Os autores, 816p.
- 12 **Sobestiansky J. 2002.** *Sistema Intensivo de Produção de Suínos: Programa de Biossegurança*. Goiânia: Art 3 Impressos Especiais, 108p.
- 13 **Wiest J.M. 1984.** Desinfecção e desinfetantes. In: Guerreiro et al. (Eds) *Bacteriologia especial: com interesse em saúde animal e saúde pública*. Porto Alegre: Sulina, pp.51-66.