

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

WELLINTON MUNIZ DO NASCIMENTO

Padronização da técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente para  
estudo da microbiota das mãos

Maringá  
2015

WELLINTON MUNIZ DO NASCIMENTO

Padronização da técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente para estudo da microbiota das mãos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde  
Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Prof.Dr. Celso Luiz Cardoso

Maringá  
2015

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

# FOLHA DE APROVAÇÃO

WELLINTON MUNIZ DO NASCIMENTO

Padronização da técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente para estudo da microbiota das mãos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Celso Luiz Cardoso  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lourdes Botelho Garcia  
Universidade Estadual de Maringá

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cristina Bronharo Tognim  
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 27 de Março de 2015.

Local da defesa: Sala 110, Bloco I-90, Campus da Universidade Estadual de Maringá.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus pela minha vida, por me fortalecer nos momentos de fraqueza, por me capacitar nos momentos de necessidade, pelas imensuráveis bênçãos recebidas. Obrigada também meu Deus pelas pessoas maravilhosas que sempre colocastes em minha vida.

Aos meus pais Evanildo e Vaneide, por todo o ensinamento, o exemplo que me deram para ser uma pessoa melhor e o apoio incondicional que sempre me proporcionaram.

À minha avó Rosa, por estar sempre ao meu lado, em todos os momentos difíceis da minha vida.

Aos meus irmãos Raphael e Leticia pelo companheirismo e auxílio em todos os momentos.

A meu orientador, professor Dr. Celso Luiz Cardoso, pela atenção, estímulo e amizade em todas as etapas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Vanderly Janeiro, ao Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim e ao pós-graduando Luiz Rafael Clóvis pelas sugestões e realização da análise estatística do presente estudo.

Aos professores Dr. Benício Alves de Abreu Filho, Dra. Lourdes Botelho Garcia e Dra. Maria Cristina Bronharo Tognim pelos ensinamentos recebidos durante a realização da parte experimental deste estudo no laboratório de microbiologia.

Aos alunos estagiários do Laboratório de Microbiologia, Leilane, Ellen, Gabriel, Carolina, Nahida, Erlen, Fernando e Leonardo, pelo auxílio na realização dos experimentos.

Aos funcionários do Setor de Microbiologia, especialmente o pessoal da sala de lavagem e esterilização pela valiosa ajuda no preparo do material utilizado no presente estudo.

Ao meu colega Gerson Zanusso Júnior, pelo grande incentivo para que eu realizasse esse trabalho.

Aos meus colegas de Pós-Graduação: Miriam, Thatiany, Kelly, Darío, Sandra, Jânio, Náhida, Joyce e Maísa pelo companheirismo e pelos incontáveis momentos de alegria e descontração.

Às professoras Cinthia Regiane Kotaka, Sheila Alexandra Belini Nishiyama e Ana Paula Uber, por terem sido as primeiras pessoas a me mostrarem a beleza do mundo da microbiologia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá (PCS/UEM) pela oportunidade da realização deste trabalho. À Olívia, secretária do PCS, pela presteza e ajuda em todas as fases desta dissertação.

Finalmente, a Faculdade Ingá pelo apoio durante a realização do presente estudo.

## EPÍGRAFE

“Não fique triste quando ninguém notar  
o que fez de bom. Afinal...  
... o sol faz um enorme espetáculo ao  
nascer, e mesmo assim, a maioria de nós  
continua dormindo.”

(Charles Chaplin)

Padronização da técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente para estudo da microbiota das mãos

## RESUMO

**Introdução.** A técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente é comumente usada em estudos qualitativos para investigar a contaminação das mãos na prática hospitalar. Entretanto, ela não está padronizada para estudos quantitativos da microbiota transitória das mãos.

**Objetivo.** Propor uma adaptação da técnica de deslizamento na tentativa de padronizá-la para avaliar o grau de contaminação das mãos.

**Métodos.** Como microrganismos testes foram usados as seguintes espécies microbianas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, provenientes de coleção de cultura. A contaminação das pontas dos dedos de voluntários humanos foi realizada aplicando-se 20µL do cultivo em caldo de 24 horas do microrganismo teste e das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  no experimento 1 (comparação das técnicas) e das diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$  no experimento 2 (correlação das técnicas). Os microrganismos testes foram recuperados das mãos utilizando-se as técnicas do deslizamento (método proposto) e dos tubos com pérolas (método de referência).

**Resultados.** No experimento 1, a técnica de deslizamento mostrou, em média, crescimento confluyente para doses contaminantes de 10 milhões de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo) (alta contaminação), semiconfluyente para 130.000 UFC/dedo (média contaminação) e de colônias contáveis para 6.000 UFC/dedo (baixa contaminação). No experimento 2 houve correlação entre as técnicas, encontrando-se uma média±DP do coeficiente de correlação de Spearman de  $0,81±0,16$  para os microrganismos testados.

**Conclusões.** Os resultados sugerem que o método proposto pode ser utilizado para estimar o grau de contaminação das mãos pela microbiota transitória.

**Palavras-chave:** contaminação, higiene das mãos, microbiota transitória, ponta de dedos.



# Standardization of the finger-streak plate culture technique to study microbiota on hands

## **ABSTRACT**

**Introduction.** The finger-streak technique is commonly used in qualitative studies to investigate contamination of hands in hospital practice. However, it has not yet been standardized for quantitative studies with regard to transient microbiota on the hands.

**Objective.** Current investigation proposes an adaptation of finger-streak technique for its standardization to assess the degree of hand contamination.

**Methods.** Test organisms in current study were derived from culture collections and included the following microbial species: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The contamination of fingertips from human volunteers was carried out by the application of 20µL of a broth culture of test organism and  $10^{-1}$  to  $10^{-6}$  dilutions in experiment 1 (comparison techniques) and  $10^{-2}$  to  $10^{-5}$  in experiment 2 (correlation techniques). The test organisms were recovered from the fingertips by the finger-streak technique (proposed method) and by glass-bead tube technique (reference method).

**Results.** In experiment 1, the finger-streak technique showed an average confluent growth for contaminant doses of 10 million colony-forming units (CFU) per fingertip (high contamination); semi-confluent with 130,000 CFU per fingertip (medium contamination) and countable colonies of 6,000 CFU per fingertip (low contamination). In experiment 2 there was a correlation between the techniques. Spearman's mean±SD correlation coefficient was  $0.81\pm 0.16$  for the tested organisms.

**Conclusions.** Results suggest that the proposed method may be used to estimate the degree of hand contamination by transient microbiota.

**Keywords:** contamination, hand hygiene, transient microbiota, fingertips.

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulo I) e da publicação científica (Capítulo II): *American Journal of Infection Control*.

disponível em:

<<http://www.ajicjournal.org>>

## SUMÁRIO

<b>1. CAPÍTULO I</b> .....	12
1.1. Introdução.....	12
1.2. Justificativa .....	16
1.3. Objetivos .....	17
1.4. Referências .....	18
<b>2. CAPÍTULO II</b> .....	26
2.1. Manuscrito: Avaliação do grau de contaminação das mãos pela técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente .....	26
2.1.1. Página Título .....	27
2.1.2. Resumo .....	28
2.1.3. Introdução.....	29
2.1.4. Métodos .....	30
2.1.5. Resultados .....	34
2.1.6. Discussão.....	61
2.1.7. Referências .....	66
2.1.8. Anexo 1– Termo de consentimento livre e esclarecido .....	68
<b>3. CAPÍTULO III</b> .....	69
3.1. Conclusões .....	69
3.2. Perspectivas futuras.....	70

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO

A contaminação das mãos dos profissionais da saúde constitui uma das principais formas de transmissão das infecções relacionadas à assistência à saúde. Entre as medidas consideradas de alta eficácia para a prevenção e controle destas infecções, a higienização das mãos ocupa lugar de destaque e pode ser realizada na prática hospitalar com sabão líquido não medicamentoso (higienização simples das mãos), com antisséptico degermante, como por exemplo, clorexidina ou povidona-iodo associado a um detergente (higienização antisséptica das mãos) e com preparações alcoólicas na forma líquida, de gel ou de espuma (fricção antisséptica das mãos) (BOYCE & PITTET, 2002; BRASIL, 2009; WHO, 2009).

A pele das mãos apresenta uma população de microrganismos que pode ser diferenciada em flora residente (normal) e flora transitória (PRICE, 1938). Os microrganismos pertencentes à flora residente estão firmemente aderidos, multiplicam-se e persistem sobre a pele, sendo representados principalmente por bactérias de baixa virulência, como estafilococos coagulase negativos, micrococos e corinebactérias aeróbias e anaeróbias, as quais raramente estão associadas às infecções transmitidas pelas mãos (LARSON, 1985; BRASIL, 2007). As bactérias residentes praticamente não são removidas pela ação mecânica da lavagem das mãos com água e sabão comum, entretanto, podem ser reduzidas pelo uso de antissépticos degermantes ou preparações alcoólicas ou sofrer uma remoção mais acentuada pela escovação com antissépticos degermantes no caso do preparo pré-operatório das mãos da equipe médica cirúrgica (BRASIL, 1989; LARSON, 1995; BRASIL, 2007, 2009).

A flora microbiana transitória da pele é constituída por quaisquer microrganismos adquiridos através do contato com pessoas e objetos, fontes ambientais ou que são artificialmente aplicados sobre a pele. Incapazes de colonizar, estes microrganismos, ao contrário dos residentes, estão frouxamente aderidos sobre a pele das mãos e são facilmente removidos pela higienização das mãos com água e sabão comum (LOWBURY & LILLY, 1964; AYLIFFE *et al.*, 1978; GOLDMAN & LARSON, 1992; LARSON, 1995).

Na prática hospitalar a flora transitória das mãos dos profissionais da saúde é comumente adquirida pelo contato direto com pacientes infectados ou colonizados ou a partir de equipamentos e superfícies contaminadas no ambiente próximo ao paciente (BRASIL,

2009; WHO, 2009; OTTER et al., 2011), existindo na literatura vários estudos comprovando que as mãos assim contaminadas transportam diferentes patógenos hospitalares, como por exemplo, *Escherichia coli* (SALZMAN et al., 1967), *Proteus* spp. (KNITTLE et al., 1975), *Klebsiella* spp. (SELDEN et al., 1971; CASEWELL & PHILLIPS, 1977), *Citrobacter diversus* (PARRY et al., 1980), *Acinetobacter* spp. (BUXTON et al., 1978; ALLEN & GREEN, 1987; GERNER-SMIDT, 1987; SAKATA et al., 1989), *Pseudomonas aeruginosa* (FOCA et al., 2000), *Staphylococcus aureus* (MORTIMER et al., 1962; BRUUN & SOLBERG, 1973; PEACOCK et al., 1980; COOKSON et al., 1989; CARDOSO et al., 1991); responsáveis por infecções hospitalares.

Após o clássico experimento de PRICE (1938) sobre a quantificação da flora bacteriana das mãos pela contagem das bactérias removidas pela escovação das mãos em bacias com água e sabão, foram descritas na literatura várias técnicas para o estudo da flora microbiana das mãos. Dentre estas, as mais comumente empregadas são baseadas nas seguintes metodologias: (i) lavagem das mãos, representada pelas técnicas das mãos enluvadas e do saco plástico, podendo também ser incluída nesta metodologia a técnica de fricção das pontas dos dedos em tubos contendo pérolas de vidro e líquido de amostragem; (ii) uso de “swab”; (iii) contato e deslizamento ou impressão dos dedos na superfície de placas contendo ágar nutriente (Larson et al., 1980; Kaltenthaler & Pinfeld, 1995).

A técnica das mãos enluvadas, baseada na técnica da lavagem das luvas descrita por REID et al. (1950), foi proposta por MICHAUD et al. (1972, 1976) ) como um modelo experimental para avaliar diferentes efeitos de agentes degermantes no preparo pré-operatório das mãos. Em resumo, a redução da flora bacteriana residente das mãos é quantificada após uma aplicação do produto a ser testado, nos tempos zero (efeito imediato) e após 3 horas (efeito residual); após várias aplicações do produto (efeito cumulativo) e após várias aplicações diárias do produto durante 5 dias (efeito persistente). O fundamento da técnica é a contagem de viáveis dos microrganismos recuperados no líquido de amostragem que é adicionado às mãos enluvadas de um grupo de voluntários. A contagem controle é realizada nas mãos enluvadas após a higiene das mãos com água e sabão para remover a flora transitória. As mãos dos voluntários são novamente enluvadas, sendo a direita amostrada, por exemplo, imediatamente (efeito imediato) e a esquerda após 3 horas (efeito residual). Os resultados das contagens são comparados ao controle (MICHAUD et al., 1972, 1976).

A técnica das mãos enluvadas tem sido utilizada em diferentes estudos. Por exemplo, NG et al. (2011) investigaram a contaminação bacteriana das mãos de profissionais da saúde

em um laboratório de microbiologia clínica de um hospital. Outro estudo comparou a eficácia do álcool e da clorexidina na antisepsia das mãos de médicos e enfermeiros durante a rotina de cuidados ao paciente (CHOW et al., 2012). Outros pesquisadores usaram a técnica das mãos enluvadas no estudo da contaminação das mãos de pacientes internados em um hospital geral (ISTENES et al., 2013). Nos Estados Unidos, os testes oficiais para avaliar a eficácia dos produtos comercializados para a higienização das mãos dos profissionais da saúde são baseados na técnica das mãos enluvadas (ASTM, 2000).

A técnica do saco plástico consiste de uma simplificação descrita por GASCHEN (1969) da clássica técnica das bacias de PRICE (1938) e pode ser utilizada em estudos qualitativos e quantitativos da flora microbiana das mãos. Uma modificação da técnica do saco plástico, descrita por LARSON et al., (1980), tem sido amplamente empregada em estudos da microbiota das mãos. Nesta técnica, são utilizados sacos plásticos, com capacidade para 950 mL, previamente esterilizados por óxido de etileno. No momento da amostragem são adicionados ao saco plástico 50 mL do líquido de amostragem estéril (tampão fosfato e Triton X-100). A seguir o voluntário introduz a mão no saco plástico e os dedos, particularmente ao redor das unhas, e a palma da mão, mas não o dorso, são friccionados através da parede do saco plástico pelo pesquisador durante 1 minuto.

A técnica do saco plástico, além do custo e da complexidade de execução, apresenta ainda a desvantagem da necessidade de diluição do líquido de amostragem, que pode afetar a sensibilidade do método (LARSON et al., 1980). Entretanto, esta técnica e suas modificações, tem sido empregadas em diferentes estudos relacionados a microbiota das mãos, como por exemplo: contaminação de luvas por patógenos hospitalares (DOEBBELING et al., 1988.; TENÓRIO et al., 2001), eficácia da higienização das mãos na prática hospitalar (SPRUNT et al., 1973; LARSON *et al.*, 1984, 1986, 2001, TRICK et al., 2003; EKSI et al., 2010) e contaminação das mãos dos profissionais da saúde durante a rotina dos cuidados aos pacientes hospitalizados (MAKI et al., 1978; PARRY et al., 1980; FOCA et al., 2000; LARSON et al., 2001; WATERS et al., 2004; MONISTROL et al., 2013).

A amostragem dos dedos em tubos ou placas contendo pérolas de vidro foi descrita por ROTTER et al. (1974), modificada por AYLIFFE et al. (1978) e proposta na década de 70 do século passado na Europa como um teste para avaliar a “lavagem higiênica” das mãos, isto é, o efeito imediato de antissépticos degermantes e preparações alcoólicas sobre microrganismos artificialmente aplicados sobre as mãos (AYLIFFE et al., 1978; LILLY & LOWBURY, 1978). Apesar de se tratar de uma técnica trabalhosa, que requer a diluição do

líquido de amostragem para a contagem das bactérias recuperadas, ela fornece resultados consistentes.

Em nosso meio, existem registros do emprego desta técnica em diversos estudos sobre a ação do sabão, antissépticos degermantes e preparações alcoólicas na remoção da flora microbiana transitória das mãos (CARDOSO et al., 1985; 1999; GUILHERMETTI et al., 2001; SOARES et al., 2002; HERNANDES et al., 2004; ZARPELLON et al., 2008). Outro estudo comparou a sobrevivência de *Staphylococcus aureus* e de bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* e *Pseudomonas aeruginosa*), provenientes de coleção de cultura e de isolados clínicos, artificialmente aplicados nas mãos de voluntários humanos (GONTIJO et al., 1985).

Uma modificação da técnica dos tubos com pérolas que consiste na amostragem das pontas dos dedos, por fricção durante 1 minuto, em 10 mL de caldo nutriente distribuído em placa de Petri 100x15 mm, sem usar pérolas, é utilizada nos testes oficiais da Comunidade Européia para avaliar a eficácia antimicrobiana de antissépticos degermantes ou de preparações alcoólicas disponíveis no comércio para a higienização das mãos (EN 1997; PrEN, 2011).

A amostragem das mãos utilizando “swab” umedecido é uma das técnicas mais simples para estudos qualitativos ou quantitativos da flora microbiana de pequenas áreas da superfície da pele (LARSON et al., 1980), existindo na literatura vários registros do uso desta técnica (MCBRIDE et al., 1975, 1977; ALY & MAIBACH, 1976; EVANS & STEVENS, 1976; SAALFELD et al., 2009; SUNKESULA et al., 2014). Após a fricção do sítio a ser amostrado o “swab” é diretamente semeado em ágar nutriente por técnica de esgotamento para o isolamento e contagem das colônias. Alternativamente, o “swab” pode ser transferido para um tubo contendo caldo nutriente, agitado em “mixer” para obter a suspensão bacteriana a ser usada no estudo. Com finalidade de padronizar esta técnica para a amostragem das mãos, alguns pesquisadores têm recomendado o seguinte procedimento: friccionar o “swab” no dorso de cada dedo por três vezes e na palma de cada mão por duas vezes, utilizando movimentos de rotação (SNYDER et al., 2008; MORGAN et al., 2010, 2012).

A técnica do deslizamento dos dedos na superfície de meio de cultivo solidificado com 4% de ágar, distribuído em placa de Petri, foi descrita por SMYLIE et al. (1959). Os autores compararam a eficácia do sabão e de um creme detergente à base de hexaclorofeno no preparo pré-operatório das mãos da equipe médica cirúrgica, avaliando a contaminação das mãos ao término do procedimento cirúrgico. Imediatamente após a cirurgia, o médico retirava uma

luva e sacudia a mão para remover o excesso de talco dos dedos. A amostragem das pontas dos dedos indicador, médio, anular e mínimo era realizada por leve pressão e deslizamento dos dedos na superfície do meio de cultivo, fazendo quatro semeaduras paralelas. Este procedimento era repetido com a outra mão. As placas eram incubadas na estufa a 37°C por 24 horas para o estudo e a contagem das colônias (SMYLIE et al., 1959).

A técnica de impressão dos dedos na superfície de ágar nutriente foi descrita por GALE et al (1962) em um estudo sobre a antisepsia cirúrgica das mãos. O meio de cultura usado nesta técnica é preparado a partir do caldo tripticaseína soja adicionado de 2% de ágar e suplementado com 5% de sangue humano (i.e., ágar-sangue) e distribuído em placa de Petri 100x15mm. A técnica consiste em imprimir a ponta dos cinco dedos de uma das mãos na superfície do ágar-sangue, exercendo uma pressão suficiente para que as unhas cortem o meio de cultura (controle da pressão). Este procedimento é repetido com a outra mão em uma nova placa contendo ágar-sangue. A contagem e o estudo das colônias em cada impressão dos dedos são realizados após 24 horas de incubação das placas na estufa a 37°C.

As técnicas do deslizamento ou de impressão dos dedos na superfície de ágar nutriente, devido a facilidade de execução, baixo custo, têm sido empregadas para investigar a contaminação das mãos dos profissionais da saúde durante o cuidado ao paciente (AYLIFFE et al., 1979; PITTET et al., 1999; GIROU et al., 2002; KAC et al., 2005; SILVA et al., 2012; ROCK et al., 2013; LONGTIN et al., 2014), como procedimento de triagem durante surtos de infecções hospitalares (Kominos et al., 1972), ou para investigar a eficácia de produtos para a higienização das mãos (SMYLIE et al., 1959; BERMAN & KNIGHT, 1969; AYLIFFE et al., 1975; OJAJARVI, 1980; PERRAUD et al., 2001; BOTTONE et al., 2004; ABAZA et al., 2010).

## **JUSTIFICATIVA**

Alguns estudos têm demonstrado que a eficácia dos agentes usados para a higiene das mãos depende da técnica empregada, do tipo de microrganismo e do grau de contaminação das mãos (TAYLOR, 1978; CARDOSO et al., 1999; GUILHERMETTI et al., 2001; SZILÁGYI et al., 2013). Por exemplo, nas mãos levemente contaminadas com *Acinetobacter baumannii* [i.e., contendo aproximadamente 1000 unidades formadoras de colônias (UFC) por ponta de dedo], o sabão líquido não medicamentoso, clorexidina, povidona-iodo e álcool etílico apresentaram a mesma eficácia na remoção do *A. baumannii* das mãos. Entretanto, nas mãos altamente contaminadas (i.e., contendo em torno de 1.000.000 de UFC por ponta de



dedo) as preparações alcoólicas e povidona-iodo foram superiores a clorexidina e o sabão líquido não medicamentoso (Cardoso et al., 1999). Estes dados sugerem que o conhecimento do grau de contaminação das mãos na prática hospitalar poderia auxiliar a escolha dos produtos mais adequados para a higienização das mãos dos profissionais da saúde.

As técnicas de amostragem direta das mãos, como por exemplo, contato e deslizamento (SMYLIE et al., 1959) ou apenas impressão (GALE et. al., 1962) dos dedos na superfície de ágar nutriente, por serem rápidas, não obstrutivas e de fácil execução, poderiam ser utilizadas para estimar o nível de contaminação das mãos dos profissionais da saúde. Entretanto, estas técnicas não estão padronizadas para estudos quantitativos da microbiota transitória das mãos.

A avaliação do grau de contaminação das mãos dos profissionais da saúde na prática hospitalar durante surtos de infecções ou mesmo em situações endêmicas é de extrema importância para que o serviço de controle de infecção possa enfatizar as medidas de prevenção e controle, cuja ação primária é a higienização das mãos.

Em nosso conhecimento este é o primeiro estudo realizado em laboratório com objetivo de investigar a microbiota transitória das mãos de voluntários humanos, utilizando uma adaptação da técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente, na tentativa de avaliar o grau de contaminação das mãos.

## **OBJETIVOS:**

**GERAL:** Padronizar a técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente para estudo da microbiota das mãos.

**ESPECÍFICOS:** (i) Avaliar o grau de contaminação das mãos por espécies microbianas, provenientes de coleção de cultura, representativas dos seguintes patógenos hospitalares: (i) Cocos Gram-positivos: *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*; (ii) Bacilos Gram-negativos fermentadores (enterobactérias): *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens*; (iii) Bacilos Gram-negativos não fermentadores: *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*; (iv) Leveduras: *Candida albicans*.

## REFERÊNCIAS

- ABAZA, A.F.; AMINE, A.E.; HAZZAH, W.A. Comparative study on efficacy of different alcohol hand rubs and routine hand wash in a health-care setting, **J Egypt Public Health Assoc**, Alexandria, v. 8, p.273-283, 2010.
- ALLEN, K.D.; GREEN, H.T. Hospital outbreaks of multi-resistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread? **J Hosp Infec**, London, v. 9, p.110-119, 1987.
- ALY, R.; MAIBACH, H.I. Effect of antimicrobial soap containing chlorhexidine on the microbial flora of skin. **Appl Environ Microbiol**, Washington, v. 31, p.931-935, 1976.
- ASTM INTERNATIONAL. **E 1174**: Standard test method for evaluation of the effectiveness of health care personnel or consumer hand wash formulations. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2000.
- AYLIFFE, G.A.J.; BABB J.R.; BRIDGES K.; LILLY H.A.; LOWBURY E.J.L.; VARNEY J.; WILKINS M.D. Comparison of two methods for assessing the removal of total organisms and pathogens from the skin. **J Hyg**, Cambridge, v. 75, p. 259-274, 1975.
- AYLIFFE, G.A.J.; BABB, J.R. & QUORAISHI, A.H.A test for hygienic hand disinfection. **J Clin Pathol**, London: BMJ Pub. Group, v. 31, p.923-928, 1978.
- AYLIFFE, G.A.G.; BABB, J.R.; TAYLOR, L.; WISE, R. A unit for source and protective isolation in a general hospital. **Brit Med J**, London, v. 2, p.461-465, 1979.
- BAERMAN, R.E.; KNIGHT, R.A. Evaluation of hand antisepsis. **Arch Environ Health**, Washington, v.18: 781-783, 1969;
- BOTTONE, E.J.; CHENG M.; HYMES S. Ineffectiveness of handwashing with lotion soap to remove nosocomial bacterial pathogens persisting on fingertips: a major link in their intrahospital spread. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 25, p.262-264, 2004.
- BOYCE, J. M.; PITTET, D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA. Hand Hygiene Task Force. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 23, p. 3-40, 2002. Supplement 12.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Lavar as mãos: informações para profissionais de saúde. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Centro de Documentação, p.15-32, 1989.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Guia técnico - Higienização das mãos em serviços de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 54 p.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Segurança do paciente - Higienização das mãos. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 109 p.
- BRUUN, J.N. SOLBERG, C.O. Hand carriage of Gram-negative bacilli and *Staphylococcus aureus*. **Brit Med J**, London, v.2, p.580-582, 1973.

BUXTON, A.E.; ANDERSON, R.L.; WERDEGAR, D; ATLAS, E. Nosocomial respiratory tract infection and colonization with *Acinetobacter calcoaceticus*. Epidemiologic characteristics. **Am J Med**, Arizona v. 65, p.507-512, 1978.

CARDOSO, C.L.; BEDENDO, J.; BRONHARO, M. C.; MORIBE, L.; GARCIA, L.B. Ocorrência de estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina em servidores hospitalares. **Rev Microbiol**, São Paulo, v. 22, p.242-246, 1991.

CARDOSO, C.L.; MARTINS, F.M.; DORIGO, D.; GONTIJO FILHO, P.P. Efeito imediato de sabão, álcool e produtos contendo anti-sépticos sobre a flora bacteriana transitória das mãos (*Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*). **Rev Bras Med**, São Paulo, v. 42, p.358-363, 1985.

CARDOSO, C.L.; PEREIRA, H.H.; ZEQUIM, J.C.; GUILHERMETTI, M. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing *Acinetobacter baumannii* strain from contaminated hands. **Am J Infect Control**, St. Louis: Mosby, v. 27, p.327-331, 1999.

CASEWELL, M.; PHILLIPS, I. Hands as route of transmission for *Klebsiella* species. **Brit Med J**, London, v. 2, p.1315-1317, 1977.

CHOW, A.; ARAH, O.A.; CHAN, S.P.; POH, B.F.; KRISHNAN, P.; NG, W.K.; CHOUDHURY, S.; CHAN, J.; ANG, B. Alcohol handrubbing and chlorhexidine handwashing protocols for routine hospital practice: A randomized clinical trial of protocol efficacy and time effectiveness. **Am J Infect Control**, St. Louis: Mosby, v. 40, p.800-805, 2012.

COOKSON, B.; PETERS, B.; WEBSTER, M.; PHILLIPS, I.; RAHMAN, M.; NOBLE, W. Staff carriage of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 27, p.1471-1476, 1989.

CREAMER, E.; DORRIAN, S.; DOLAN, A.; SHERLOCK, O.; HUGHES, D.F.; THOMAS, T.; WALSH, J.; SHORE, A.; SULLIVAN, D.; KINNEVEY, P.; ROSSNEY, A.S.; CUNNEY, R.; COLEMAN, D.; HUMPHREYS, H. When are the hands of healthcare positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J Hosp Infect**, London: W.B. Saunders, v. 75, p.107-111, 2010.

DOEBBELING, B.N.; PFALLER, M.A.; HOUSTON, A.K.; WENZEL, R.P. Removal of nosocomial pathogens from the contaminated glove. **Ann Inter Med**, Philadelphia, v. 109, p.394-398, 1988.

EKSY, F.; MEHLI, M.; AKGUN, S.; BAYRAM, A.; BALCY, I.; AYDIN, N. Evaluation of two different hand hygiene procedures during routine patient care. **J Int Med Res**, Northampton, v. 38, n. 6, p.2084-2092, 2010.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **European standard EN 1500**. Chemical Disinfectants and Antiseptics. Hygienic Handrub. Test Method and Requirements. Brussels: European Committee for standardization, 1997.

EVANS, C.A.; STEVENS, R.J. Differential quantitation of surface and subsurface bacteria of normal skin by the combined use of the cotton swab and the scrub methods. **J. Clin. Microbiol**, Washington, v. 3, p.576-581, 1976.

FOCA, M.; JAKOB, K. WHITTIER, S.; DELLA-LATTA, P.; FACTOR, S. RUBENSTEIN, D. SAIMAN, L. Endemic *Pseudomonas aeruginosa* infection in a neonatal intensive care. **N Engl J Med**, Boston, v. 343, n. 10, p. 695-700, 2000.

GALE, D.; BRODERICK, E.G.; LAMB, B.J.; TOPPER R. Re-evaluation of scrub technic for preoperative disinfection of the surgeon's hands. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 1, n.155, p.107-118, 1962.

GERNER-SMIDT, P. Endemic occurrence of *Acinetobacter calcoaceticus* biovar *anitratus* in an intensive care unit. **J Hosp Infec**, London: W.B Saunders, v. 10, p.265-272, 1987.

GIROU, E.; LOYEAU, S.; LEGRAND, P.; OPPEIN, F. BRUN-BUISSON, C. Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomized clinical trial. **Brit Med J**, London, v. 325, p.362-366, 2002.

GOLDMANN, D.; LARSON, E. Hand-washing and nosocomial infections. **N Engl J Med**, Boston, v. 327, p.120-122, 1992.

GONTIJO, FILHO P.P.; STUMPF, M., CARDOSO C.L. Survival of Gram-negative and Gram-positive bacteria artificially applied on the hands. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 21, p.652-653, 1985.

GUILHERMETTI, M.; HERNANDES, S.E.D., GARCIA, L.B.; CARDOSO, C.L. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated hands. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 22, n. 2, p. 105-108, 2001.

HERNANDES, S.E.D.; MELLO, A.C.; SANT'ANA, J.J.; SOARES, V.S.; CASSIOLATO, V.; GARCIA, L.B.; CARDOSO, C.L. The effectiveness of alcohol gel and other hand-cleansing agents against important nosocomial pathogens. **Braz J Microbiol**, São Paulo, v. 35, p.33-39, 2004.

ISTENES, N.; BINGHAM, J.; HAZELETT, S.; FLEMING, E.; KIRK, J. Patients' potential role in the transmission of health care-associated infections: Prevalence of contamination with bacterial pathogens and patient attitudes toward hand hygiene. **Am J Infect Control**, St Louis: Mosby, v. 41, p.793-798, 2013.

KAC, G.; PODGLAJEN, I.; GUENERET, M.; VAUPRÉ, S.; BISSERY, A.; MEYER, G. Microbiological evaluation of two hand hygiene procedures achieved by healthcare workers during routine patient care: a randomized study. **J Hosp Infec**, London: W.B Saunders, v. 60, p.32-39, 2005.

KALTENTHALER, E.C.; PINFOLD, J.V. Microbiological methods for assessing handwashing practice in hygiene behavior studies. **J Trop Med Hyg**, Oxford, v. 98, p.101-106, 1995.

KNITTLE, M.A.; EITZMAN, D.V.; BAER, H. Role of hand contamination of personnel in the epidemiology of gram-negative nosocomial infections. **J Pediatr**, Porto Alegre, v. 86, p.433-437, 1975.

KOMINOS, S.D.; COPELAND, C.E.; GROSIK, B. Mode of transmission of *P. aeruginosa* in a burn unit and an intensive care unit in a general hospital. **Appl Microbiol**, Washington, v. 23, p. 309-312, 1972.

LARSON, E.L.; STROM, M.K.; EVANS, C.A. Analysis of three variables in sampling solutions used to assay bacteria of hands: type of solution, use of antiseptic neutralizers, and solution temperature. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 12, p. 355-360, 1980.

LARSON, E.L. APIC guidelines for handwashing and hand antisepsis in health care settings. **Am. J Infect Control**, Saint Louis, v. 23, p.251-269, 1995.

LARSON, E.L. Effects of handwashing agent, handwashing frequency, and clinical area on hand flora. **Am J Infect Control**, Saint Louis v. 11, p.76-82, 1984.

LARSON, E.L.; EKE, P.I.; LAUGHON, B.E. Efficacy of alcohol-based hand rinses under frequent-use conditions. **Antimicrob Agents Chemother**, Bethesda, v. 30, n.4, p. 542-544, 1986.

LARSON, E.L. Persistent carriage of gram-negative bacteria on hands. **Am J Infect Control**, St Louis: Mosby, v. 9, p.112-119, 1981.

LARSON, E.L. Handwashing and skin physiologic and bacteriologic aspects. **Infect Control**. Thorofare, v. 6, p.14-23, 1985.

LARSON, E.L.; AIELLO, A.E.; BASTYR, JED.; LYLE, C.; STAHL, J.; CRONQUIST, A.; LAI, L.; DELLA-LATTA, P. Assessment of two hand hygiene regimens for intensive care unit personnel. **Crit Care Med**, Baltimore, v. 29, n. 5, p.944-951, 2001.

LAUSTEN, S.; LUND, E.; BIBBY, B.M.; KRISTESEN, B.; THULSTRUP, A.M.; MOLLER, J.K. Effect of correctly using alcohol-based hand rub in a clinical setting. **Infection Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 29, n. 10, p.954-956, 2008.

LILLY, H. A. & LOWBURY, E. J. L. Transient skin flora. Their removal by cleansing or disinfection in relation to their mode of deposition. **J Clin Pathol**, London, v.31, p.919-922, 1978.

LONGTIN, Y.; SCHNEIDER, A.; TSCHOPP, C.; RENZI, G.; GAYET-ANGERON, A.; SCHRENZEL, J.; PITTET, D. Contamination of stethoscopes and physicians' hands after a physical examination. **Mayo Clin Proc**, Rochester, v. 89, n.3, p.291-299, 2014.

LOWBURY, E.J.L.; LILLY, H.A.; BULL, J. P. Disinfection of hands: removal of transient organisms. **Brit Med J**, London, v. 2: 230-233, 1964.

LUCET, J.C.; RIGAUD, M.P.; MENTRE, F.; KASSIS, N.; DEBLANGY, C.; ANDREMONT, A.; BOUVET, E. Hand contamination before and after different hand

hygiene techniques: a randomized clinical trial. **J Hosp Infect**, London: W.B. Saunders, v. 50, p. 276-280, 2002.

MAKI, D.G. Control of colonization and transmission of pathogenic bacteria in the hospital. **Ann. Intern Med**, Philadelphia, v. 89, (Part 2), p.777-780, 1978.

MCBRIDE, M.E.; DUNCAN, W.C.; KNOX, J. M. Physiological and environmental control of gram negative bacteria on skin. **Br J Dermatol**, London v. 93, p.191-199, 1975.

MCBRIDE, M.E.; DUNCAN, W.C.; KNOX, J.M. The environment and the microbial ecology of human skin. **Appl Environ Microbiol**, Washington, v. 33, n.3, p. 603-608, 1977.

MICHAUD, R.N.; MCGRATH, M.B.; GOSS, W.A. Improved experimental model for measuring skin degerming activity on the human hand. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, v. 2, p.8-15, 1972.

MICHAUD, R.N.; MCGRATH, M.B.; GOSS, W.A. Application of a gloved-hand model for multiparameter measurements of skin-degerming activity. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 3, n. 4, p. 406-413, 1976.

MORGAN, J. D.; LIANG, S.Y.; SMITH, C.L.; JOHNSON, K.; HARRIS, A.D.; FURUNO, J.P.; THOM, K.A.; SNYDER, G.M.; DAY, H.R.; PERENCEVICH, E.N. Frequent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination of gloves, gowns, and hands of healthcare workers. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 31, n. 7, p.716-721, 2010.

MORGAN, J.D.; ROGAWSKI, E.; THOM, A.K.; JOHNSON, J.K.; PERENCEVICH, E.N.; SHARDELL, M.; LEEKHA, S.; HARRIS, A.D. Transfer of multidrug-resistant bacteria to healthcare workers' glove and gowns after patient contact increases with environmental contamination. **Crit Care Med**, New York, v. 40, p.1045-1051, 2012.

MORTIMER, E.A.; LIPSITZ, P.J.; WOLINSKY, E.; GONZAGA, A.J.; RAMMELKAMP JR, C.H. Transmission of staphylococci between newborns. Importance of the hands personnel. **Am J Dis Child**, Chicago, v. 104, p.289-295, 1962.

NG, L.S.Y.; THE, W.T.; NG, S.K.; ENG, L.C.; TAN, T.Y. Bacterial contamination of hands and the environment in a microbiology laboratory. **J Hosp Infect**, London: W.B, Saunders, v. 78, p. 231-233, 2011.

OJAJARVI, J. Effectiveness of hand washing and disinfection methods in removing transient bacteria after patient nursing. **J Hyg**, Cambridge, v. 85, p.193-203, 1980.

OTTER, J.A.; YEZLI, S.; FRENCH, G.L. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 32, n.7, p. 687-699, 2011.

PrEN 1499. Chemical Disinfectants and Antiseptics—Hygienic Handwash – Test Method and Requirements (phase 2, step 2). CEN, Brussels, 2011.

PARRY, M.F., HUTCHINSON, J.H.; BROWN, N.A.; WU, C.H.; ESTRELLER, L. Gram-negative sepsis in neonates: A nursery outbreak due to hand carriage of *Citrobacter diversus*. **Pediatrics**, Evanston, v. 65, p.1105-1109, 1980.

PEACOCK JR., J.E.; MARSIK, F.C. & WENZEL, R.P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: introduction and spread within a hospital. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v. 93, p. 526-532, 1980.

PERRAUD, M.; AMAZIAN, K.; GIRARD, R.; GUERRAZ, F.T. The use of hand hygiene products could reduce colonization on the hands. **J Hosp Infect**, London: W.B, Saunders, v. 47, n.4, p.336-337, 2001.

PESSOA-SILVA, C.L.; DHARAN, S.; HUGONNET, S.; TOUVENEAU, S. ; PFISTER, R.; PITTET, D. Dynamics of bacterial hand contamination during routine neonatal care **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 25, n. 3, p.192-197, 2004.

PITTET, D.P.; DHARAN, S.; TOUVENEAU, S.; SAUVAN, V.; PERNEGER, T.V. Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 159, p.821-826, 1999.

PRICE, P.B. The bacteriology of normal skin: new quantitative test applied to a study of the bacteria flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. **J Infect Dis**, Chicago, v. 63, p.301-318, 1938.

PRICE, L.S.M.; ARHEART, K.L.; MILLS, J.P.; CLEARY, T.; DEPESCALE, D.; JIMENEZ, A.; AQUINO, Y.F.; CORO, G. BIRNBACH, D.J.; LUBARSKY, D.A. Associations between bacterial contamination of health care workers' hands and contamination of white coats and scrubs. **Am J Inf Control**, St Louis: Mosby, v. 3, 2012.

REID, D.E.; WALTER, C.W.; BUCK, A.S. Surgical scrubbing with Phisoderm G-11 as applied to a maternity hospital. **Surg Gynecol Obstet**, New York, v. 91, p.537-544.

ROCK, C.; HARRIS, A.D.; REICH, N.G.; JOHNSON, J.K.; THOM, K.A.; Is hand hygiene before putting on nonsterile gloves in the intensive care unit a waste of health care worker time? – a randomized controlled trial. **Am J Inf Control**, St Louis: Mosby, v. 41, p.994-996, 2013.

ROTTER, M.; MITTERMAYER, H.; KUNDI, M. Investigations on the model of the artificially contaminated hand. Proposal of a test method. **Zbl Bakt Hyg IAbt Orig B**, v. 159, p. 560-581, 1974.

SAALFELD, S.M.S.; VIANA, G.F.; SIQUEIRA, V.L.D.; CARDOSO, C.L, GARCIA, L.B; TOGNIM, M.C.B. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Brazilian intensive-care unit. **J Hosp Infect**, London: W.B, Saunders, v. 72, n. 4, p.365-368, 2009.

SAKATA, H.; FUJITA, K.; MARUYAMA, S.; KAKEHASHI, H.; MORI, Y. & YOSHIOKA, H. *Acinetobacter calcoaceticus* biovar *anitratum* septicaemia in a neonatal intensive care unit: epidemiology and control. **J Hosp Infect**, London: W.B, Saunders, v. 14, p.15-22, 1989.

SALZMAN, T.C.; CLARK, J.J.; KLEMM, L. Hand contamination of personnel as a mechanism of cross-infection in nosocomial infections with antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella-Aerobacter*. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, v.7, p. 97-100, 1967.

SELDEN, R.; LEE, S.; WANG, W.L.L.; BENNETT, J. V.; EICKOFF, T. C. Nosocomial klebsiella infections: intestinal colonization as a reservoir. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v.74, p.657-664, 1971.

SILVA, S.R.B.; ROSA, N.M.; WINGETER, M.A.; PINTO, N.B.; TOGNIM, M.C.B.; GARCIA, L.B.; CARDOSO, C.L. Hand contamination during hospital patient care. **Int J Infect Dis**, Hamilton, v.16, n.8, p.641-642, 2012.

SMYLIE, H.G.; WEBSTER, C.U.; BRUCE, M.L. "PhisoHex" and safer surgery. **Brit Med J**, London, v. 2 p.606-609, 1959.

SNYDER, G.M.; THOM, K.A.; FURUNO, J.P.; PERENCEVICH, E.N.; ROGHMANN.M.C.; STRAUSS, S.M.; NETZER, G. HARRIS, A.D. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci on the gowns and gloves of healthcare workers. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 29, n. 7, p.584-589, 2008.

SOARES, V.S.; HERNANDES, S.E.D.; OGASSAWARA, R.L.N.; KWABARA, H.N, GARCIA, L.B.; CARDOSO, C.L. Remoção de *Serratia marcescens* (*Enterobacteriaceae*) das mãos contaminadas. **Acta Scientiarum**, Maringá v.23, n.3, p.719-725, 2002.

SPRUNT, K.; REDMAN, W.; LEIDY, G. Antibacterial effectiveness of routine hand washing. **Pediatrics**, Evanston, v. 52, p.264-271, 1973.

STIEFEL, U.; CADNUM, J.L.; ECKSTEIN, B.C.; GUERRERO, D.M.; TIMA, M.A.; DONSKEY, J. Contamination of hands with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after contact with environmental surfaces and after contact with the skin of colonized patients. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 32, n.2, p.185-187, 2011.

SUNKESULA, V., KUNDRAPU, S.; MACINGA, D.R.; DONSKEY, C.J. Efficacy of alcohol gel for removal of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hands of colonized patients. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 36, n. 2, p.229-231, 2014.

SZILÁGYI, L.; HAIDEGGER, T.; LEHOTSKY, A.; NAGY, M.; CSONKA, E-A.; XIUYING, S.; OOI, K.L.; FISHER, D.A large-scale assessment of hand hygiene quality and the effectiveness of the "WHO 6-steps". **BMC Infect Dis**, London v. 13, p.249, 2013.

TAYLOR, L.J. An evaluation of handwashing techniques-1. **Nurs Times**, London: Macmillian Journals, v. 12, p.54-55, 1978.

TENORIO, A.; BADRI, S.M.; SAHGAL, B. N.; HOTA, B.; MATUSHEK, M.; HAYDEN, M.K.; TRENHOLME, G.M.; WEINSTEIN, R.A. Effectiveness of gloves in the prevention of hand carriage of vancomycin-resistant *Enterococcus* species by health care workers after patient care. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 32, p. 826-835, 2001.



TRICK, W.E.; VERNON, M.O.; HAYES, R.A.; NATHAN, C.; RICE, T.W.; PETERSON, B.J.; SEGRETI, J.; WELBEL, S.F.; SOLOMON, S.L.; WEINSTEIN, R.A. Impact of ring wearing on hand contamination and comparison of hand hygiene agents in a hospital. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 36, p.1383-1390, 2003.

WATERS, V.; LARSON, E.; WU, F.; GABRIEL, P.S.; HASS, J.; CIMIOTTI, J. DELLA-LATTA, P. SAIMAN, L. Molecular epidemiology of Gram-negative bacilli from infected neonates and health care workers' hands in a neonatal intensive care units. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 38, p. 1682-1687, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge: clean care is safe care. Geneva: WHO, 2009.

ZARPELLON, M.N.; SOARES, V.S.; ALBRECHT, N.R.; BERGAMASCO, D.R.; GARCIA, L.B.; CARDOSO, C.L. Comparison of 3 alcohol gels and 70% ethyl alcohol for hand hygiene. **Infect Control Hosp Epidemiol**, Chicago, v. 29, p.960-962, 2008.

## **CAPÍTULO II**

### **PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE DESLIZAMENTO DOS DEDOS EM ÁGAR NUTRIENTE PARA ESTUDO DA MICROBIOTA DAS MÃOS**

**PÁGINA TÍTULO**

**Título.** Padronização da técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente para estudo da microbiota das mãos

**Autores.** Wellinton Muniz do Nascimento<sup>a</sup>, Gabriel Tezolim<sup>a</sup>, Ellen Sayuri Miazima<sup>a</sup>, Carolina Veronêz Garbúggio<sup>a</sup>, Nahida Ajala de Carvalho<sup>a</sup>, Maria Cristina Bronharo Tognim<sup>a</sup> PhD, Celso Luiz Cardoso<sup>a</sup> PhD.

**Afiliação.** Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo 5790, Campus Universitário, CEP 87020-900, Máringá, Paraná, Brasil.

**Autor correspondente.** Prof. Celso Luiz Cardoso, Laboratório de Microbiologia, Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo 5790, Campus Universitário. 87020-900 Maringá, Paraná, Brazil.

Fone: +55 44 3011-4953. Fax: +55 44 3011-5941

E-mail: clcardoso@uem.br

## RESUMO

**Introdução.** A técnica de deslizamento dos dedos em ágar nutriente é comumente usada em estudos qualitativos para investigar a contaminação das mãos na prática hospitalar. Entretanto, ela não está padronizada para estudos quantitativos da microbiota transitória das mãos.

**Objetivo.** Propor uma adaptação da técnica de deslizamento na tentativa de padronizá-la para avaliar o grau de contaminação das mãos.

**Métodos.** Como microrganismos testes foram usados as seguintes espécies microbianas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, provenientes de coleção de cultura. A contaminação das pontas dos dedos de voluntários humanos foi realizada aplicando-se 20µL do cultivo em caldo de 24 horas do microrganismo teste e das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  no experimento 1 (comparação das técnicas) e das diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$  no experimento 2 (correlação das técnicas). Os microrganismos testes foram recuperados das mãos utilizando-se as técnicas do deslizamento (método proposto) e dos tubos com pérolas (método de referência).

**Resultados.** No experimento 1, a técnica de deslizamento mostrou, em média, crescimento confluyente para doses contaminantes de 10 milhões de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo) (alta contaminação), semiconfluyente para 130.000 UFC/dedo (média contaminação) e de colônias contáveis para 6.000 UFC/dedo (baixa contaminação). No experimento 2 houve correlação entre as técnicas, encontrando-se uma média±DP do coeficiente de correlação de Spearman de  $0,81±0,16$  para os microrganismos testados.

**Conclusões.** Os resultados sugerem que o método proposto pode ser utilizado para estimar o grau de contaminação das mãos pela microbiota transitória.

**Palavras-chave:** contaminação, higiene das mãos, microbiota transitória, ponta de dedos.

## INTRODUÇÃO

A contaminação das mãos dos profissionais da saúde constitui uma das principais formas de transmissão das infecções relacionadas à assistência à saúde. Entre as medidas consideradas de alta eficácia para a prevenção e controle destas infecções, a higienização das mãos ocupa lugar de destaque e pode ser alcançada na prática através do uso de sabões, antissépticos associados a detergentes (e.g., clorexidina, povidona-iodo) e preparações alcoólicas (Boyce & Pittet, 2002; Brasil, 2009; WHO, 2009).

Alguns estudos têm demonstrado que a eficácia dos agentes usados para a higiene das mãos depende da técnica empregada, do tipo de microrganismo e do grau de contaminação das mãos (Taylor, 1978; Cardoso et al., 1999; Guilhermetti et al., 2001; Szilágyi et al., 2013). Por exemplo, nas mãos levemente contaminadas com *Acinetobacter baumannii* [i.e., contendo aproximadamente 1000 unidades formadoras de colônias (UFC) por ponta de dedo], o sabão líquido não medicamentoso, clorexidina, povidona-iodo e álcool etílico apresentaram a mesma eficácia na remoção do *A. baumannii* das mãos. Entretanto, nas mãos altamente contaminadas (i.e., contendo em torno de 1.000.000 de UFC por ponta de dedo) as preparações alcoólicas e povidona-iodo foram superiores a clorexidina e o sabão líquido não medicamentoso (Cardoso et al., 1999). Estes dados sugerem que o conhecimento do grau de contaminação das mãos na prática hospitalar poderia auxiliar a escolha dos produtos mais adequados para a higienização das mãos dos profissionais da saúde.

Técnicas de amostragem direta das mãos, como por exemplo, contato e deslizamento (Smylie et al., 1959) ou apenas impressão (Gale et al., 1962) dos dedos na superfície de ágar nutriente, devido sua facilidade de execução, têm sido empregadas para investigar a contaminação das mãos dos profissionais da saúde durante o cuidado ao paciente ou como procedimento de triagem durante surtos de infecções hospitalares (Pittet *et al.*, 1999; Perraud et al., 2001; Silva et al. 2012). Entretanto, estas técnicas não estão padronizadas para estudos quantitativos ou semiquantitativos da microbiota transitória das mãos, de forma a possibilitar sua utilização para avaliar o grau de contaminação das mãos.

O objetivo do presente estudo é propor uma adaptação da técnica de contacto e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente e tentar padronizar esta técnica para estimar o grau de contaminação das mãos pela microbiota transitória.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### EXPERIMENTO I – COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS.

Nesta primeira etapa do estudo foi realizada a comparação entre a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto) e a técnica dos tubos com pérolas (método de referência) para avaliar o grau de contaminação das mãos de voluntários humanos.

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (COPEP/UEM) conforme Parecer No. 1.061.565 (Plataforma Brasil – CAAE: 39572514.2.0000.0104).

**Microrganismos testes.** No presente estudo foram utilizados como microrganismos testes oito espécies microbianas, provenientes de coleções de cultura (“American Type Culture Collection” – ATCC – Manassas, VA, USA e “German Collection of Microorganisms and Cell Cultures” – DSM – Braunschweig, Germany), representativas dos seguintes patógenos hospitalares: (i) cocos Gram-positivos, *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299; (ii) bacilos Gram-negativos fermentadores, *Escherichia coli* DSM 11250, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Serratia marcescens* ATCC 14756; (iii) Bacilos Gram-negativos não fermentadores, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; (iv) leveduras, *Candida albicans* ATCC 90028.

**Inóculos.** Os inóculos dos microrganismos testes, utilizados para a contaminação artificial das mãos dos voluntários, foram constituídos, no caso das bactérias, de culturas de 24 horas em caldo tripticaseína soja (BD-Difco, Sparks, MD, USA) e de caldo Sabouraud (BD-Difco) para a levedura, contendo  $10^8$  a  $10^9$  unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL). As contagens de viáveis dos inóculos foram feitas pela técnica da contagem na gota modificada (Miles *et al.*, 1938; Guilhermetti *et al.*, 2001). Descrição resumida da técnica: para cada contagem, três gotas de 0,02 mL das diluições decimais seriadas  $10^{-4}$  a  $10^{-7}$  do inóculo foram depositadas na superfície de placas de Petri 90 x 15 mm contendo 15 mL de ágar tripticaseína soja (BD-Difco) sem antibiótico no ensaio com *E. coli* (DSM-11250), adicionado de 4ug/mL de vancomicina (ABL – Antibióticos do Brasil, Cosmópolis, SP, Brasil) no experimento com *E. faecalis* ATCC 51299, adicionado de 4ug/mL de oxacilina sódica ((Novafarma, Anápolis,

GO, Brasil) nos testes realizados com *S. aureus* ATCC 33591, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *S. marcescens* ATCC 14756, *A. baumannii* ATCC 196060 e *P. aeruginosa* ATCC 27853; ou 15 mL de ágar Sabouraud (BD-Difco) contendo 50 µg/mL de cloranfenicol (Alamar Tecnológica Ltda., Diadema, SP, Brasil) no experimento com *C. albicans* ATCC 90028. Em paralelo, como controle, foram realizadas as contagens de viáveis dos microrganismos testes nos meios de cultura sem antibióticos. Após a secagem do inóculo, as placas foram incubadas em aerobiose na estufa a 37°C, durante 24-48 horas, efetuando-se a contagem nas gotas das diluições que apresentaram entre 4 a 40 colônias (i.e., naquelas diluições onde as colônias não apresentavam diminuição acentuada do seu tamanho devido ao crescimento semiconfluentes das colônias).

A média das contagens de viáveis dos inóculos dos microrganismos testes nos meios com e sem antibióticos foram comparadas empregando-se o Teste *t* de *Student*, considerando-se significativo um valor de  $P < 0,05$ .

**Voluntários.** Foram convidados para participar deste estudo um grupo de 10 indivíduos adultos, sadios, de ambos os sexos, constituído por estudantes e professores da Universidade Estadual de Maringá, sendo observado com rigor o estado íntegro e sadio das suas mãos durante a realização de todos os experimentos. Os voluntários que participaram do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme demonstrado no Anexo 1 (página 68).

**Contaminação artificial das mãos.** Para a aplicação do microrganismo teste as mãos de cada voluntário foram inicialmente higienizadas durante 20-30 segundos com água corrente e 3 mL de sabão líquido não medicamentoso (Handtech perolizado erva doce, Adhetec Química Indústria e Comércio Ltda., Sumaré, SP, Brasil) e enxugadas com toalhas de papel esterilizadas. Volume de 0,02 mL do inóculo puro (i.e., diluição  $10^0$ ) foi depositado na ponta do dedo polegar da mão esquerda, sendo então o dedo friccionado ponta a ponta, com o auxílio do polegar correspondente da mão direita durante 40 segundos e deixados secar ao ar por outros 80 segundos. A seguir, o polegar da mão dominante foi amostrado pela técnica de pressão e deslizamento (método proposto) e o polegar da mão não dominante foi amostrado pela técnica dos tubos com pérolas (método de referência). Procedimento idêntico foi, simultaneamente, aplicado aos dedos indicador, médio, anular e mínimo. O experimento foi repetido, de forma idêntica, para cada uma das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  do inóculo do microrganismo teste (Ayliffe *et al.*, 1978; Lilly & Lowbury, 1978).

**Método Proposto – Técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente.** Imediatamente após a secagem da contaminação artificial das mãos com o microrganismo teste, as pontas dos dedos foram amostradas por pressão e deslizamento na superfície de ágar tripticaseína soja (BD-Difco) contendo uma concentração final de 3% de ágar-ágar (BD-Difco), usando-se uma placa 90 x 15 mm para cada mão. Descrição da técnica proposta: com auxílio de caneta para retroprojeter, o fundo da placa foi marcado com um risco paralelo ao diâmetro da placa, situado a uma distância de aproximadamente 2,5 cm do bordo da placa. Esta área, marcada com um “x”, foi usada para amostrar o dedo polegar. Perpendicularmente a esta área, logo abaixo do risco, foi amostrado o dedo indicador (abaixo do “x”) e ao lado, individualmente, na sequência, os dedos médio, anular e mínimo. A amostragem foi realizada aplicando-se uma leve pressão da ponta dos dedos durante 3 segundos na superfície do meio de cultura adequado, seguido do deslizamento por mais 1 a 2 segundos. A contagem dos microrganismos viáveis recuperados foi feita diretamente pelo número de colônias desenvolvidas nas placas após incubação na estufa a 37°C por 24-48 horas. Com exceção da amostra de *E. coli* DSM 11259, os meios de cultura usados na recuperação dos microrganismos testes foram adicionados de antibióticos, conforme descrito anteriormente nas contagens de viáveis dos inóculos.

**Método de Referência – Técnica dos tubos com pérolas.** A técnica da fricção dos dedos em tubos contendo pérolas de vidro e 5 mL de líquido de amostragem, descrita por Lilly & Lowbury (1978), foi usada como método de referência para quantificar a microbiota transitória das mãos. Nesta técnica, a amostragem das pontas dos dedos, previamente contaminados com o microrganismo teste, foi realizada pela fricção durante 3 minutos contra 10 g de pérolas de vidro (3-5 mm de diâmetro) contidas no interior de tubos de ensaio de fundo chato (30 x 70 mm para os dedos polegar, indicador, médio, anular e 30 x 65 mm para o dedo mínimo) contendo 5 mL de água triptonada a 0,1% estéril. A contagem de viáveis do microrganismo teste recuperado das diluições  $10^0$  a  $10^{-2}$  foi feita pela técnica da contagem na gota modificada (Miles *et al.*, 1938; Guilhermetti *etal.*, 2001) e da diluição  $10^{-3}$  foi realizada pela técnica da gota modificada e em paralelo, para aumentar a sensibilidade da contagem, pela técnica da semeadura em superfície, inoculando-se 1,0 mL em duas placas do meio de cultivo (0,5 mL por placa). A contagem das diluições  $10^{-4}$  a  $10^{-6}$  foram efetuadas pela técnica de semeadura em superfície. Os meios de cultura usados na recuperação dos microrganismos testes, com exceção da amostra de *E. coli* DSM 11259, foram adicionados de antibióticos, conforme descrito anteriormente nas contagens de viáveis dos inóculos.



## EXPERIMENTO II – CORRELAÇÃO DAS TÉCNICAS.

Nesta segunda etapa do estudo foi realizada a correlação entre a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método propostos) e a técnica dos tubos com pérolas (método de referência) para avaliar o grau de contaminação das mãos de voluntários humanos.

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (COPEP/UEM) conforme Parecer No. 1.061.565 (Plataforma Brasil – CAAE: 39572514.2.0000.0104).

**Planejamento experimental.** A metodologia utilizada no experimento 2 foi similar aquela descrita anteriormente no experimento 1. Entretanto, com base no experimento 1 e na tentativa de se obter placas semeadas pelo deslizamento dos dedos com crescimento de colônias isoladas para possibilitar as contagens, a contaminação artificial das mãos dos voluntários no experimento 2 foi realizada apenas com as diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$  do inóculo. Sempre que possível, o número de colônias obtidas na placa semeada pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos (i.e., as diluições do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente ou semiconfluyente de colônias) foi comparado com a contagem de viáveis, realizada em paralelo, pela técnica dos tubos com pérolas, utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman ( $\rho$ ).

## RESULTADOS

### EXPERIMENTO 1

Conforme mostrado na Tabela 1, não houve diferença entre as contagens de viáveis dos inóculos dos microrganismos testes cultivados nos meios com e sem antibióticos ( $P > 0,05$ ). A contagem de viáveis variou de  $1,4 \times 10^8$  UFC/mL (*Candida albicans* ATCC 90028) a  $3,3 \times 10^9$  UFC/mL (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). A amostra de *Escherichia coli* DSM 11250 não foi incluída na Tabela 1 porque ela apresentou sensibilidade parcial ao antibiótico adicionado ao meio de cultivo usado na recuperação dos bacilos Gram-negativos testados.

Considerando-se a hipótese de que a contaminação da ponta do dedo da mão esquerda com 20 µL do inóculo inicial do microrganismo teste fosse distribuída igualmente para a ponta do dedo correspondente da mão direita, durante a fricção ponta a ponta por 40 segundos, podemos supor que, na prática, a contaminação da ponta de cada dedo foi de 10 µL. Assim, a média ( $\pm$ DP) da dose estimada para a contaminação das mãos dos voluntários no experimento 1, expressa pelo  $\log_{10}$  das unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo), para cada microrganismo teste foi de:  $7,41 \pm 0,08$  (*S. aureus* ATCC 33951);  $7,17 \pm 0,15$  (*E. faecalis* ATCC 51299);  $7,33 \pm 0,03$  (*E. coli* DSM 11250);  $7,45 \pm 0,05$  (*K. pneumoniae* ATCC 700603);  $7,43 \pm 0,03$  (*S. marcescens* ATCC 14756);  $6,58 \pm 0,04$  (*A. baumannii* ATCC 19606);  $7,52 \pm 0,06$  (*P. aeruginosa* ATCC 27853) e  $6,24 \pm 0,04$  (*C. albicans* ATCC 90028).

A comparação das técnicas dos tubos com pérolas e da pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente na recuperação dos microrganismos testes aplicados nas pontas dos dedos em diferentes doses contaminantes do inóculo inicial puro ( $10^0$ ) e suas diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  é mostrada na Tabela 2 e nas Figuras 1 a 8. Os resultados obtidos com a técnica dos tubos com pérolas mostraram que a recuperação das células viáveis dos microrganismos testes variou de acordo com a espécie microbiana e a dose contaminante utilizada. A aplicação de 10 µL do inóculo puro resultou nas seguintes taxas de recuperação dos microrganismos testes: 72% (*C. albicans* ATCC 90028); 66% (*K. pneumoniae* ATCC 700603); 63% (*S. aureus* ATCC 33951); 52% (*P. aeruginosa* ATCC 27853); 45% (*E. coli* DSM 11250); 39% (*S. marcescens* ATCC 14756); 31% (*A. baumannii* ATCC 19606) e 15% (*E. faecalis* ATCC 51299).

Conforme evidenciado na Tabela 2, a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente, quando comparada à técnica dos tubos com pérolas, mostrou crescimento de colônias confluentes para doses contaminantes de 10µl do inóculo puro que variaram de 1.800.000 UFC/dedo (*C. albicans* ATCC 90028) a 33 milhões de UFC/dedo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), sendo encontrada em média de 10 milhões de UFC/dedo para os microrganismos testados. O crescimento de colônias semiconfluentes foi relacionado a uma dose contaminante média de 130.000 UFC/dedo, com variações de 15.000 UFC/dedo (*E. faecalis* ATCC 51299) a 330.000 UFC/dedo (*P. aeruginosa* ATCC 27853). No caso do crescimento de colônias isoladas (i.e., que possibilitaram a contagem), a técnica de deslizamento detectou doses contaminantes que variaram de 15 UFC/dedo (*E. faecalis* ATCC 51299) a 27.000 UFC/dedo (*S. aureus* ATCC 33591) e uma dose média de 6.000 UFC/dedo (Tabela 2).

A técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente detectou níveis muito baixos de contaminação das mãos com os microrganismos testes (Tabela 2). Na dose contaminante do inóculo diluído a  $10^{-5}$  a técnica de deslizamento *versus* (*vs*) a técnica dos tubos com pérolas, mostrou crescimento de colônias que variou de 1 UFC/dedo *vs* 13 UFC/dedo (*C. albicans* ATCC 90028) até 14 UFC/dedo *vs* 170 UFC/dedo (*P. aeruginosa* ATCC 27853). Na dose contaminante do inóculo diluído a  $10^{-6}$  a variação das colônias foi de 1,2 UFC/dedo *vs* 19 UFC/dedo (*K. pneumoniae* ATCC 700603) até 5 UFC/dedo *vs* 20 UFC/dedo (*S. aureus* ATCC 33591). Nesta dose contaminante (i.e.,  $10^{-6}$ ) observou-se ainda que as amostras de *E. coli* DSM 11250 e *S. marcescens* ATCC 14759 não foram recuperados pela técnica dos tubos com pérolas, mas foram detectadas pela técnica de deslizamento, evidenciando-se, respectivamente, 2,3 e 1,4 UFC/dedo.

## EXPERIMENTO 2

Os resultados das contagens de viáveis selecionadas a partir das diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$  dos inóculos dos microrganismos testes que não apresentaram crescimento confluyente ou semiconfluyente de colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente são apresentados nas Tabelas 3 a 10. O número de testes e o total de contagens selecionadas para cada microrganismo teste foram de, respectivamente, cinco e 73 para *S. aureus* (Tabela 3); três e 50 para *E. faecalis* (Tabela 4); sete e 50 para *E. coli* (Tabela 5);

quatro e 47 para *K. pneumoniae* (Tabela 6); quatro e 56 para *S. marcescens* (Tabela 7); quatro e 76 para *A. baumannii* (Tabela 8); quatro e 57 para *P. aeruginosa* (Tabela 9); três e 63 para *C. albicans* (Tabela 10). Os testes foram realizados em dias diferentes e sempre que possível foram ensaiados de três a quatro indivíduos do grupo de 10 voluntários.

Conforme mostrado nas Tabelas 3 a 10, a densidade média ( $\pm$  DP) do inóculo inicial de cada microrganismo teste (i.e., o cultivo de 24 horas em caldo nutriente), expresso pelo  $\log_{10}$  de UFC/mL, foi de:  $9,14 \pm 0,38$  (*S. aureus*),  $8,79 \pm 0,15$  (*E. faecalis*);  $9,32 \pm 0,11$  (*E. coli*);  $9,16 \pm 0,05$  (*K. pneumoniae*);  $9,45 \pm 0,10$  (*S. marcescens*);  $8,36 \pm 0,16$  (*A. baumannii*);  $9,46 \pm 0,11$  (*P. aeruginosa*) e  $8,02 \pm 0,10$  (*C. albicans*).

No experimento 2, a média ( $\pm$ DP) da dose estimada para a contaminação das mãos dos voluntários, expressa pelo  $\log_{10}$  das unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo), para cada microrganismo teste foi de:  $7,14 \pm 0,38$  (*S. aureus*),  $6,79 \pm 0,15$  (*E. faecalis*);  $7,32 \pm 0,11$  (*E. coli*);  $7,16 \pm 0,05$  (*K. pneumoniae*);  $7,45 \pm 0,10$  (*S. marcescens*);  $6,36 \pm 0,16$  (*A. baumannii*);  $7,46 \pm 0,11$  (*P. aeruginosa*) e  $6,02 \pm 0,10$  (*C. albicans*).

A contaminação das pontas dos dedos dos voluntários com 10 $\mu$ L do inóculo inicial dos microrganismos testes variou de 1 milhão de UFC (*Candida albicans*) a 29 milhões (*Pseudomonas aeruginosa*). Em média, os dedos contaminados com o inóculo puro (em torno de 9 milhões de UFC) e diluído 1:10 (cerca de 900.000 UFC) resultaram, respectivamente, em crescimento confluyente e semiconfluyente na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (Figuras 1 a 8).

Houve correlação entre a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto) e a técnica dos tubos com pérolas (método de referência) para o estudo da microbiota transitória das mãos, sendo encontrados os seguintes coeficientes de correlação de Spearman ( $\rho$ ) para os microrganismos testados: *Staphylococcus aureus* = 0,90; *Enterococcus faecalis* = 0,93; *Escherichia coli* = 0,56; *Klebsiella pneumoniae* = 0,89; *Serratia marcescens* = 0,94; *Acinetobacter baumannii* = 0,95; *Pseudomonas aeruginosa* = 0,54 e *Candida albicans* = 0,74.

**Tabela 1.** Comparação das contagens de viáveis dos inóculos dos microrganismos testes cultivados nos meios com e sem antibióticos<sup>1</sup>: Teste *t* de *Student* da media do Log<sub>10</sub> das unidades formadoras de colônias das contagens de viáveis<sup>2</sup> dos microrganismos testes.

<b>Microrganismo teste</b>	<b>Meio sem antibiótico</b>	<b>Meio com antibiótico</b>	<b>Valor de <i>P</i></b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	9,3825±0,04	9,4125±0,08	0,6217
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	9,2075±0,10	9,1675±0,05	0,5705
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	9,4625±0,04	9,4500±0,05)	0,7842
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	9,3125±0,07	9,4325±0,03	0,4270
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	8,5875±0,02	8,5800±0,04	0,7919
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	9,5150±0,09	9,5150±0,06	1,0000
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	8,2475±0,05	8,2400±0,04	0,8453

1. Ágar tripticaseína soja adicionado de 4µg/mL de vancomicina para *E. faecalis* ATCC 51299; Ágar Sabouraud Glicose contendo 50 µg/mL de cloranfenicol para *C. albicans* e ágar tripticaseína soja com 4µg/mL de oxacilina sódica para os microrganismos testes restantes, com exceção de *E. coli* DSM 11250; 2. Média de quatro contagens realizadas em triplicata. Não significante para  $P > 0,05$ .

**Tabela 2.** Comparação das técnicas dos tubos com pérolas e do deslizamento na recuperação<sup>1</sup> dos microrganismos testes aplicados em diferentes doses contaminantes nas pontas dos dedos dos voluntários testados, expressos em unidades formadoras de colônias por dedo (UFC/dedo).

<b>Microrganismo teste</b>	<b>Dose contaminante<sup>2</sup> UFC/dedo</b>	<b>Tubos com pérolas<sup>3</sup> UFC/dedo</b>	<b>Deslizamento<sup>4</sup> UFC/dedo</b>
<b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591</b>	27.000.000	17.000.000	Confluente
	2.700.000	170.000	Confluente
	270.000	3.500	Semiconfluente
	27.000	1.500	140
	2.700	550	58
	270	100	14
	27	20	5
<b><i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299</b>	15.000.000	2.300.000	Confluente
	1.500.000	1.000.000	Confluente
	150.000	120.000	Confluente
	15.000	9.800	Semiconfluente
	1.500	900	107
	150	51	13
	15	14	2,3
<b><i>Escherichia coli</i> DSM 11250</b>	22.000.000	10.000.000	Confluente
	2.200.000	1.000.000	Confluente
	220.000	97.000	Confluente
	22.000	1.800	Semiconfluente
	2.200	590	107
	220	85	13
	22	– <sup>5</sup>	2,3
<b><i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603</b>	29.000.000	19.000.000	Confluente
	2.900.000	1.900.000	Confluente
	290.000	240.000	Confluente
	29.000	18.000	Semiconfluente
	2.900	1500	31
	290	140	5,4
	29	19	1,2
<b><i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756</b>	28.000.000	11.000.000	Confluente
	2.800.000	160.000	Confluente
	280.000	14.000	Semiconfluente
	28.000	2.300	Semiconfluente
	2.800	109	21
	280	38	6,8
	28	– <sup>5</sup>	1,4
<b><i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606</b>	3.900.000	1.200.000	Confluente
	390.000	84.000	Confluente
	39.000	12.000	Semiconfluente
	3.900	2.500	143
	390	190	35
	39	34	9,6
	3,9	– <sup>5</sup>	– <sup>5</sup>
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853</b>	33.000.000	17.000.000	Confluente
	3.300.000	1.600.000	Confluente
	330.000	91.000	Semiconfluente
	33.000	4.100	Semiconfluente
	3.300	990	52
	330	170	14
	33	16	3

... / Continuação Tabela 2

Microrganismo teste	Dose contaminante <sup>2</sup> UFC/dedo	Tubos com pérolas <sup>3</sup> UFC/dedo	Deslizamento <sup>4</sup> UFC/dedo
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	1.800.000	1.300.000	Confluente
	180.000	110.000	Confluente
	18.000	11.000	Semiconfluente
	1.800	1.400	79
	180	88	11
	18	13	1
	1,8	– <sup>5</sup>	–

1. Ágar tripticaseína soja adicionado de 4µg/mL de vancomicina para *Enterococcus faecalis* ATCC 51299; Ágar Sabouraud Glicose contendo 50 µg/mL de cloranfenicol para *Candida albicans* e ágar tripticaseína soja com 4µg/mL de oxacilina sódica para os microrganismos testes restantes com exceção de *Escherichia coli* DSM 11250.
2. Média das contagens de quatro determinações realizadas em triplicata. Aplicação de 10µL/dedo.
3. Média das contagens de 10 determinações realizadas em triplicata.
4. Técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente. Média de 10 deslizamentos. O crescimento de colônias juntas (confluente) ou muito próximas (semiconfluente) impossibilitou a contagem das colônias (UFC).
5. Não houve crescimento de colônias.

**Tabela 3.** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Staphylococcus aureus* ATCC 33951, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição doInóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
12/02/14	A	8,38	10 <sup>-3</sup>	InE	2,80	InD	1,78
				AnE	2,46	AnD	1,55
14/03/14	B	9,36	10 <sup>-3</sup>	PoE	3,90	PoD	2,87
				InE	3,63	InD	2,81
				MeE	3,70	MeD	2,91
				AnE	3,67	And	2,74
	B	9,36	10 <sup>-3</sup>	PoE	3,90	PoD	2,87
				InE	3,51	InD	2,50
				MeE	3,61	Med	2,93
				AnE	3,41	AnD	2,70
21/03/14	A	9,31	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,38	PoD	2,64
				InE	3,30	InD	2,47
				MeE	3,47	MeD	3,17
				AnE	3,42	AnD	3,00
	B	9,31	10 <sup>-3,5</sup>	PoE	3,63	PoD	2,61
				InE	3,64	InD	2,62
				MeE	3,62	MeD	2,77
				AnE	3,57	AnD	2,71
B	9,31	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,39	MiD	2,77	
			PoE	2,87	PoD	1,67	
			InE	2,71	InD	1,74	
			MeE	3,05	Med	1,93	
C	9,31	10 <sup>-4</sup>	AnE	2,90	AnD	1,69	
			MiE	2,83	MiD	1,65	
			PoE	2,14	PoD	1,30	
			InE	2,38	InD	1,59	
25/03/14	C	9,41	10 <sup>-4</sup>	MeE	2,35	MeD	1,67
				AnE	2,26	AnD	1,54
				MiE	2,09	MiD	1,57
				PoE	2,33	PoD	1,38
	C	9,41	10 <sup>-4</sup>	InE	1,97	InD	1,43
				MeE	1,69	MeD	1,70
				AnE	1,65	AnD	1,50
				MiE	1,74	MiD	1,62
B	9,41	10 <sup>-4</sup>	PoE	1,60	PoD	1,20	
			InE	1,97	InD	1,14	
			MeE	1,87	MeD	1,43	
			AnE	2,00	AnD	1,39	
B	9,41	10 <sup>-4</sup>	MiE	2,04	MiD	1,25	
			PoE	2,13	PoD	1,11	
			InE	2,19	InD	1,54	
			MeE	2,47	MeD	1,55	
B	9,41	10 <sup>-4</sup>	AnE	2,19	AnD	1,50	
			MiE	2,33	MiD	1,57	
			PoE	2,21	PoD	1,17	
			InE	2,34	InD	1,34	
B	9,41	10 <sup>-4</sup>	MeE	2,42	MeD	1,70	
			AnE	2,48	AnD	1,71	
			MiE	2,36	MiD	1,43	
			PoE	2,36	PoD	1,43	



... / Continuação Tabela 3.

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
27/03/14	B	9,24	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,74	PoD	2,85
				InE	3,47	InD	2,50
				MeE	3,53	MeD	2,45
				AnE	3,49	AnD	2,30
				MiE	3,58	MiD	2,54
	B	9,24	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,33	PoD	2,23
				InE	3,52	InD	2,44
				MeE	3,35	MeD	2,49
				AnE	3,17	AnD	2,99
				MiE	3,50	MiD	2,43
	C	9,24	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,61	PoD	2,39
				InE	3,63	InD	2,55
				MeE	3,58	MeD	2,57
				AnE	3,76	AnD	2,59
				MiE	3,49	MiD	2,66
	A	9,24	10 <sup>-5</sup>	PoE	3,04	PoD	2,27
				InE	2,95	InD	2,37
				MeE	2,80	MeD	2,17
				AnE	3,02	AnD	2,20
				MiE	3,09	MiD	2,04

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=71).

Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).

**Tabela 4.** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição doInóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar		
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem	
10/10/14	C	8,85	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,88	PoD	2,06	
				InE	2,77	InD	1,99	
				MeE	2,85	MeD	2,04	
				AnE	2,77	AnD	2,00	
				MiE	2,81	MiD	1,91	
	D	8,85	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,42	PoD	1,70	
				InE	2,60	InD	1,83	
				MeE	2,49	MeD	1,77	
				AnE	2,57	AnD	1,76	
				MiE	2,06	MiD	1,10	
	E	8,85	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,11	PoD	1,34	
				InE	2,04	InD	1,07	
				MeE	2,19	MeD	1,14	
				AnE	2,20	AnD	1,41	
				MiE	2,30	MiD	1,27	
	B	8,85	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,56	PoD	1,93	
				InE	2,74	InD	2,02	
				MeE	2,60	MeD	1,86	
				AnE	2,45	AnD	1,62	
				MiE	2,35	MiD	1,71	
22/10/14	C	8,96	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,78	PoD	1,99	
				InE	2,75	InD	1,91	
				MeE	2,68	MeD	1,91	
				AnE	2,91	AnD	2,20	
				MiE	2,83	MiD	2,07	
	E	8,96	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,68	PoD	2,06	
				InE	2,49	InD	1,63	
				MeE	2,61	MeD	1,80	
				AnE	2,50	AnD	1,77	
				MiE	2,56	MiD	1,73	
	B	8,96	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,08	PoD	2,32	
				MeE	2,54	MeE	2,04	
	D	8,96	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,35	PoD	1,54	
				InE	2,32	InD	1,38	
				MeE	1,90	MeD	0,06	
				AnE	2,51	AnD	1,66	
				MiE	2,00	MiD	0,04	
	25/10/14	E	8,58	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,17	PoD	1,11
					AnE	1,69	AnD	1,04
		B	8,58	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,09	PoD	1,04
C		8,58	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,73	PoD	2,00	
				InE	2,72	InD	1,93	
				MeE	2,79	MeD	2,05	
				AnE	2,69	AnD	1,98	
				MiE	2,67	MiD	1,91	
D		8,58	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,36	PoD	1,60	
				InE	2,27	InD	1,57	
				MeE	2,25	MeD	1,62	
				AnE	2,24	AnD	1,59	
				MiE	2,27	MiD	1,72	

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=50).

Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).

**Tabela 5.** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Escherichia coli* DSM 11250, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição doInóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar			
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem		
24/05/13	A	9,30	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,47	PoD	2,38		
				InE	3,54	InD	2,60		
				MeE	3,30	MeD	2,72		
				AnE	3,38	AnD	1,91		
				MiE	3,63	MiD	1,91		
03/10/13	A	9,22	10 <sup>-3</sup>	PoE	4,17	PoD	2,87		
				InE	4,27	InD	2,47		
				AnE	4,25	AnD	2,85		
				MiE	3,81	MiD	2,41		
					10 <sup>-4</sup>	MiE	2,77	MiD	1,34
04/10/13	A	9,35	10 <sup>-4</sup>	AnE	2,23	AnD	1,63		
				InE	3,36	InD	1,72		
				MeE	2,92	MeD	2,27		
				AnE	3,07	AnD	2,32		
				MiE	3,69	Mid	2,36		
05/10/13	C	9,30	10 <sup>-4</sup>		10 <sup>-5</sup>	PoE	2,36	PoD	1,20
				PoE	2,23	PoD	1,62		
				InE	2,23	InD	1,61		
				MeE	2,14	MeD	1,86		
				AnE	2,85	AnD	1,77		
09/10/13	F	9,42	10 <sup>-4</sup>	MiE	2,78	MiD	1,41		
				PoE	3,46	PoD	2,30		
				InE	3,38	InD	2,59		
				MeE	3,34	MeD	2,61		
				AnE	3,36	AnD	2,57		
23/10/13	F	9,15	10 <sup>-4</sup>	MiE	3,34	MiD	2,54		
				PoE	3,27	PoD	2,47		
				InE	3,36	InD	2,51		
				MeE	3,27	MeD	2,53		
				MiE	3,47	MiD	2,50		
25/10/13	F	9,51	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,04	PoD	2,20		
				InE	2,65	InD	1,00		
				MeE	2,69	MeD	2,27		
				AnE	2,76	AnD	2,04		
				MiE	3,25	MiD	2,34		
25/10/13	B	9,51	10 <sup>-4</sup>	MeE	3,14	MeD	1,94		
				PoE	3,32	PoD	2,23		
				MeE	3,55	MeD	2,14		
				AnE	3,53	AnD	2,20		
				MiE	3,46	MiD	2,56		
25/10/13	A	9,51	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,56	PoD	1,00		
				InE	3,38	InD	1,67		
				MeE	3,39	MeD	1,74		
				AnE	3,43	AnD	1,83		
				MiE	3,17	MiD	2,07		
25/10/13	A	9,51	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,23	PoD	1,71		
				MeE	2,27	MeD	1,74		
				AnE	1,00	AnD	1,17		
				MiE	2,11	MiD	1,17		

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=50).

Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).

**Tabela 6.** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar		
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem	
04/04/14	B	9,14	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,51	PoD	2,79	
				InE	3,06	InD	2,04	
				MeE	3,34	MeD	2,47	
				AnE	3,14	AnD	2,04	
				MiE	3,38	MiD	2,26	
	B	9,14	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,67	PoD	2,43	
				InE	3,59	InD	2,01	
				MeE	3,39	MeD	2,33	
				AnE	3,27	AnD	2,57	
				MiE	3,09	MiD	2,33	
	C	9,14	10 <sup>-4</sup>	InE	2,19	InD	1,73	
				MeE	2,21	MeD	1,86	
				AnE	2,11	AnD	1,64	
				MiE	2,14	MiD	1,41	
				10/04/2014	C	9,15	10 <sup>-4</sup>	PoE
InE	1,65	InD	1,32					
MeE	1,90	MeD	1,47					
AnE	1,77	AnD	1,38					
MiE	1,17	MiD	1,07					
C	9,15	10 <sup>-4</sup>	MeE		1,00	MeD	1,14	
			MiE		1,17	MiD	1,25	
G	9,15	10 <sup>-4</sup>	PoE		3,24	PoD	1,53	
			InE		3,71	InD	1,97	
			MeE		3,84	MeD	1,91	
G	9,15	10 <sup>-5</sup>	PoE		2,25	PoD	0,95	
			InE		2,20	InD	1,04	
			MeE		2,60	MeD	1,51	
			AnE		3,05	AnD	1,51	
			MiE		1,95	MiD	1,14	
11/04/14	G	9,24	10 <sup>-4,5</sup>	InE	3,14	InD	1,92	
				MeE	3,54	MeD	2,49	
				AnE	3,27	AnD	2,39	
				MiE	3,46	MiD	2,47	
	B	9,24	10 <sup>-4</sup>	InE	3,03	InD	2,09	
				MeE	2,86	MeD	1,96	
	C	9,24	10 <sup>-3,5</sup>	MeE	2,27	MeD	1,36	
				AnE	2,48	AnD	1,54	
				MiE	1,81	MiD	1,17	
	02/05/14	B	9,10	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,92	PoD	1,81
					InE	2,69	InD	1,69
					MeE	2,91	MeD	1,86
					AnE	2,79	AnD	1,86
					MiE	2,74	MiD	1,49
		B	9,10	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,60	PoD	1,74
InE					2,00	InD	1,23	
MeE					2,43	MeD	1,39	
C		9,10	10 <sup>-4</sup>	InE	1,30	InD	0,77	

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=47).  
Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).

**Tabela 7.** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *S. marcescens* ATCC 14756, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	InóculoUF C/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
17/07/14	C	9,30	10 <sup>-3</sup>	PoE	1,60	PoD	0,90
				InE	1,65	InD	1,00
				MeE	1,81	MeD	1,14
				AnE	1,30	AnD	0,77
				MiE	1,17	MiD	0,77
	B	9,30	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,94	PoD	2,32
				InE	2,17	InD	1,46
				MeE	2,29	MeD	1,65
				AnE	2,06	AnD	1,39
				MiE	1,00	MiD	0,69
06/08/14	C	9,48	10 <sup>-2</sup>	PoE	2,90	PoD	2,25
				InE	2,62	InD	1,99
				MeE	2,41	MeD	1,74
				AnE	2,73	AnD	2,14
				MiE	2,46	MiD	1,92
	D	9,48	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,30	PoD	1,43
				InE	2,39	InD	1,74
				MeE	2,45	MeD	1,82
				AnE	2,71	AnD	1,62
				MiE	2,43	MiD	1,83
	B	9,48	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,18	PoD	1,90
				InE	2,68	InD	2,15
				MeE	2,85	MeD	2,07
				AnE	3,00	AnD	2,24
				MiE	3,04	MiD	1,74
14/08/14	C	9,46	10 <sup>-2</sup>	PoE	2,92	PoD	2,07
				InE	2,82	InD	1,83
				MeE	2,79	MeD	2,07
				AnE	2,93	AnD	2,20
				MiE	2,38	MiD	1,71
	G	9,46	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,19	PoD	1,07
				InE	2,97	InD	1,70
				MeE	3,10	MeD	1,81
				AnE	3,08	AnD	1,69
				MiE	3,00	MiD	1,76
	B	9,46	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,48	PoD	2,51
				InE	3,34	InD	2,06
				MeE	2,81	MeD	1,56
				AnE	3,31	AnD	2,39
				MiE	3,17	MiD	1,95
27/08/14	C	9,58	10 <sup>-2</sup>	PoE	2,77	PoD	1,94
				InE	2,06	InD	1,25
				MeE	2,36	MeD	1,54
				AnE	2,29	AnD	1,54
				MiE	2,88	MiD	1,95
	B	9,58	10 <sup>-4</sup>	InE	2,37	InD	1,39
				MeE	2,31	MeD	1,44
				AnE	1,90	AnD	0,95
				MiE	2,49	MiD	1,47

... /

... / Continuação Tabela 7

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
27/08/14	D	9,58	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,96	PoD	2,10
				InE	3,30	InD	1,92
				MeE	3,22	MeD	2,07
				AnE	3,34	AnD	2,06
				MiE	3,02	MiD	2,00
				E	9,58	10 <sup>-4</sup>	InE
				MiE	1,47	MiD	0,47

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=56).  
Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).

**Tabela 8** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar				
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem			
09/07/14	E	8,51	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,50	PoD	1,88			
				B	8,51	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,39	PoD	1,89
	B	8,51	10 <sup>-4</sup>	InE	2,14	InD	1,74			
				MeE	2,02	MeD	1,23			
				AnE	2,16	AnD	1,99			
				MiE	2,02	MiD	1,70			
				D	8,51	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,55	PoD	1,20
							InE	1,90	InD	1,81
	MeE	2,38	MeD				0,84			
	AnE	1,47	AnD				1,17			
	C	8,51	10 <sup>-3</sup>	MiE	2,53	MiD	1,11			
				PoE	2,33	PoD	1,73			
				InE	1,90	InD	1,41			
				MeE	1,87	MeD	1,39			
				AnE	1,90	AnD	1,46			
	B	8,51	10 <sup>-4</sup>	MiE	1,92	MiD	1,27			
				PoE	2,51	PoD	1,91			
				InE	2,47	InD	1,93			
				MeE	0,69	MeD	0,30			
				AnE	2,19	AnD	1,74			
10/07/14	D	8,47	10 <sup>-3</sup>	MiE	1,39	MiD	1,07			
				PoE	3,30	PoD	2,62			
				InE	2,88	InD	1,59			
				MeE	3,11	MeD	2,24			
				AnE	2,80	AnD	1,98			
	C	8,47	10 <sup>-3</sup>	MiE	2,99	MiD	2,16			
				PoE	2,26	PoD	1,67			
				InE	2,09	InD	1,20			
				MeE	1,00	MeD	0,77			
				AnE	1,17	AnD	0,95			
	G	8,47	10 <sup>-3</sup>	MiE	1,39	MiD	1,00			
				PoE	1,60	PoD	0,90			
				InE	1,81	InD	0,84			
				MeE	2,84	MeD	2,10			
				AnE	3,01	AnD	2,19			
	B	8,47	10 <sup>-4</sup>	MiE	2,84	MiD	2,05			
				PoE	3,08	PoD	2,34			
				InE	2,95	InD	1,95			
				MeE	2,43	MeD	1,82			
				AnE	2,66	AnD	2,06			
11/07/14	D	8,38	10 <sup>-3,5</sup>	MiE	2,20	MiD	1,67			
				PoE	2,27	PoD	1,36			
				InE	1,39	InD	0,95			
				MeE	1,60	MeD	0,77			
				AnE	1,54	AnD	0,84			
	G	8,38	10 <sup>-3,5</sup>	MiE	1,39	MiD	0,77			
				PoE	1,65	PoD	1,04			
				InE	1,39	InD	0,84			
				MeE	1,60	MeD	1,00			
				AnE	0,69	AnD	0,00			
				MiE	1,17	MiD	0,47			

... / Continuação Tabela 8

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição doinóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
11/07/14	C	8,38	10 <sup>-3</sup>	PoE	1,30	PoD	0,69
				InE	1,30	InD	0,77
				MeE	1,54	MeD	0,90
				AnE	1,60	AnD	0,95
				MiE	1,39	MiD	0,77
	B	8,38	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,31	PoD	1,79
				InE	2,19	InD	1,68
				MeE	2,25	MeD	1,69
				AnE	2,56	AnD	2,03
				MiE	2,39	MiD	1,77
16/07/14	C	8,09	10 <sup>-2</sup>	PoE	2,52	PoD	1,81
				InE	2,38	InD	1,79
				MeE	2,50	MeD	1,90
				AnE	2,21	AnD	1,74
				MiE	2,51	MiD	1,88
	D	8,09	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,57	PoD	1,73
				InE	2,04	InD	1,54
				MeE	1,81	MeD	1,38
				AnE	1,95	AnD	1,59
				MiE	1,97	MiD	1,36
	E	8,09	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,50	PoD	1,76
				InE	2,30	InD	1,34
				MeE	2,27	MeD	1,41
				AnE	1,77	AnD	1,00
				MiE	2,00	MiD	1,30

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=76).

Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).



**Tabela 9** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	Inóculo UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar					
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem				
29/05/14	C	9,62	10 <sup>-4</sup>	AnE	1,39	AnD	0,77				
				B	9,62	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,08	PoD	2,36	
	B	9,62	10 <sup>-4</sup>	InE	2,25	InD	1,14				
				MeE	3,12	MeD	1,63				
				AnE	3,34	AnD	1,39				
				MiE	2,95	MiD	1,56				
				PoE	2,88	PoD	1,41				
				InE	2,93	InD	1,61				
				MeE	3,08	MeD	1,96				
				AnE	3,24	AnD	1,32				
				MiE	2,97	MiD	1,54				
				03/06/14	E	9,56	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,01	PoD	1,97
								InE	2,65	InD	1,20
								MeE	2,07	MeD	1,49
AnE	3,00	AnD	2,00								
MiE	3,02	MiD	1,99								
B	9,56	10 <sup>-4</sup>	PoE		3,09	PoD	1,96				
			InE		2,41	InD	2,01				
			MeE		2,30	MeD	2,33				
			AnE		2,61	AnD	1,39				
			MiE		3,04	MiD	1,72				
C	9,56	10 <sup>-3</sup>	InE		2,31	InD	1,46				
			MeE		2,09	MeD	1,49				
			AnE		1,84	AnD	1,00				
05/06/14	A	9,41	10 <sup>-5</sup>		PoE	2,27	PoD	1,68			
					InE	2,16	InD	1,78			
					MeE	2,82	MeD	2,10			
					AnE	2,25	AnD	2,02			
					MiE	1,97	MiD	1,91			
	C	9,41	10 <sup>-3</sup>	MeE	2,02	MeD	1,94				
				AnE	1,69	AnD	0,90				
	B	9,41	10 <sup>-4</sup>	PoE	3,02	PoD	1,85				
				MeE	1,69	MeD	0,60				
				MiE	2,40	MiD	1,72				
	D	9,41	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,39	PoD	1,83				
				MeE	2,24	MeD	1,97				
	10/06/14	A	9,42	10 <sup>-5</sup>	AnE	1,90	AnD	2,04			
					MiE	1,54	MiD	1,63			
		B	9,42	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,29	PoD	2,42			
InE					2,42	InD	2,70				
E		9,42	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,37	PoD	1,47				
				AnE	2,45	AnD	1,73				
D		9,42	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,51	PoD	2,06				
				MeE	2,47	MeD	2,04				
				AnE	2,44	AnD	2,02				
				MiE	2,46	MiD	1,88				

... / Continuação Tabela 9

Data	Voluntário	InóculoUF C/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
13/06/14	B	9,29	10 <sup>-4</sup>	InE	3,01	InD	0,34
	A	9,29	10 <sup>-5</sup>	PoE	2,06	PoD	1,04
				InE	1,65	InD	0,84
				MeE	2,19	MeD	1,32
				AnE	1,77	AnD	0,90
				MiE	2,27	MiD	1,73
				E	9,29	10 <sup>-4</sup>	PoE
	E	9,29	10 <sup>-4</sup>	InE	1,74	InD	1,17
				MeE	1,60	MeD	0,95
				AnE	2,25	AnD	1,43
				MiE	1,30	MiD	0,47

1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento confluyente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=57).  
Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).

**Tabela 10.** Contagem de viáveis<sup>1</sup> do microrganismo teste *Candida albicans* ATCC 90028, recuperado das pontas dos dedos pelo emprego das técnicas dos tubos com pérolas e pressão e deslizamento em superfície de ágar nutriente, expresso pelo log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colônias por ponta de dedo (UFC/dedo).

Data	Voluntário	InóculoUF C/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
01/07/14	C	8,17	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,64	PoD	1,78
				InE	2,69	InD	1,83
				MeE	2,73	MeD	2,02
				AnE	2,41	AnD	1,73
				MiE	2,62	MiD	2,16
	B	8,17	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,39	PoD	1,89
				InE	2,14	InD	1,74
				MeE	2,02	MeD	1,23
				AnE	2,16	AnD	1,99
				MiE	2,02	MiD	1,70
	G	8,17	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,23	PoD	1,38
				InE	2,19	InD	1,50
				MeE	2,24	MeD	1,44
				AnE	2,35	AnD	1,89
				MiE	2,16	MiD	1,39
	D	8,17	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,21	PoD	1,38
				InE	2,06	InD	1,34
				MeE	2,24	MeD	1,14
				AnE	2,42	AnD	1,63
				MiE	2,30	MiD	1,30
02/07/14	B	7,95	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,29	PoD	1,63
				InE	2,21	InD	1,59
				MeE	2,16	MeD	1,43
				AnE	2,20	AnD	1,57
				MiE	2,09	MiD	1,43
	E	7,95	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,24	PoD	1,56
				InE	1,97	InD	0,60
				MeE	1,95	MeD	1,04
				AnE	2,02	AnD	1,23
				MiE	1,92	MiD	0,95
	A	7,95	10 <sup>-5</sup>	PoE	1,30	PoD	0,69
				InE	1,74	InD	1,11
				MeE	1,54	MeD	1,04
				AnE	1,47	AnD	1,00
				MiE	1,30	MiD	0,90
	C	7,95	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,53	PoD	1,77
				InE	2,16	InD	1,39
				MeE	2,34	MeD	1,50
				AnE	2,51	AnD	1,39
				MiE	2,77	MiD	1,80
C	7,95	10 <sup>-3</sup>	PoE	2,75	PoD	1,92	
			InE	2,44	InD	2,00	
			MeE	2,21	MeD	1,91	
			AnE	2,21	AnD	2,14	
			MiE	2,25	MiD	1,83	

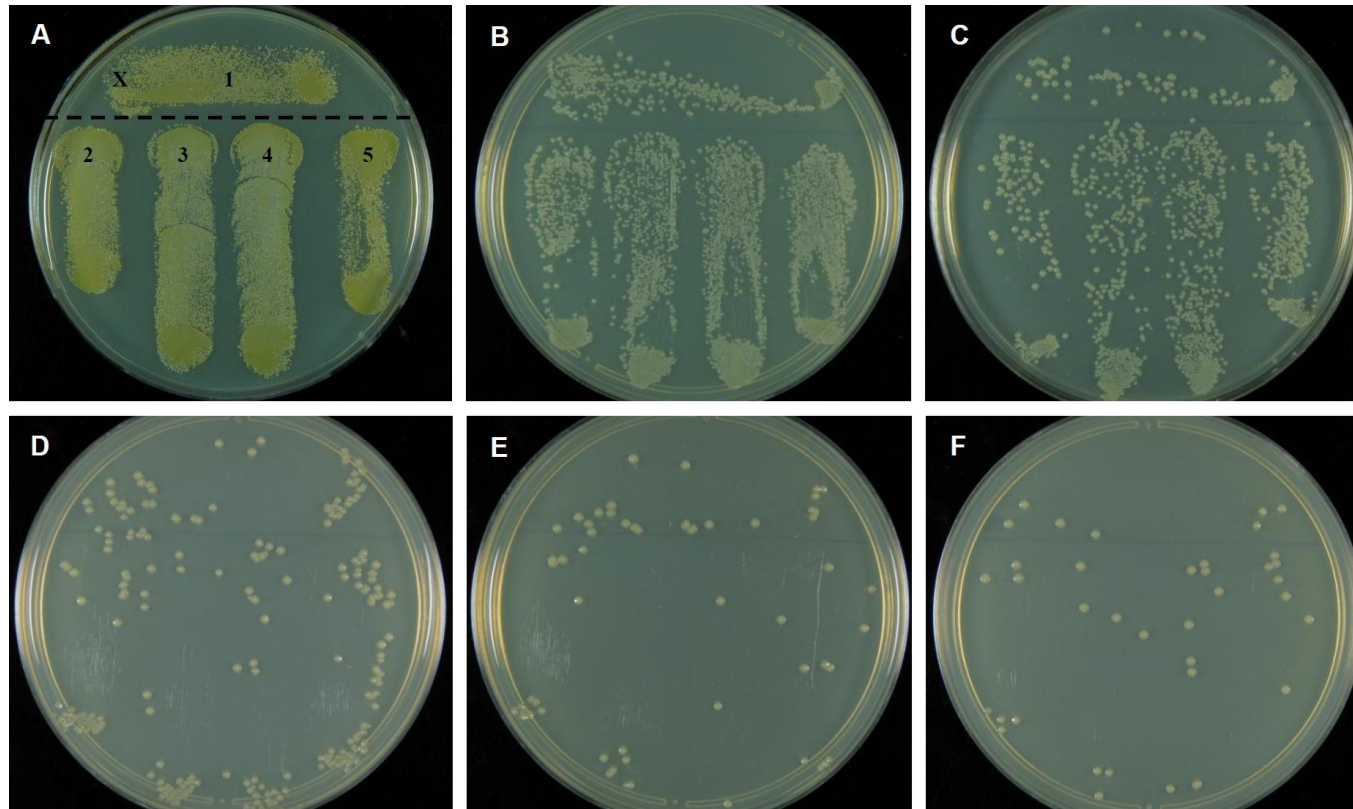
... /

... / Continuação Tabela 10

Data	Voluntário	InóculoUF C/mL (Log <sub>10</sub> )	Diluição do inóculo	Tubos com pérolas		Deslizamento em ágar	
				Dedo	Contagem	Dedo	Contagem
03/07/14	C	7,95	10 <sup>-3</sup>	InE	2,97	InD	1,81
				MeE	2,93	MeD	1,99
				AnE	2,97	AnD	2,09
				MiE	3,00	MiD	1,86
	G	7,95	10 <sup>-4</sup>	InE	1,95	InD	1,23
				MeE	1,90	MeD	1,65
				AnE	2,09	AnD	1,54
				MiE	2,00	MiD	1,43
	B	7,95	10 <sup>-4</sup>	PoE	2,13	PoD	1,38
				InE	1,97	InD	1,69
				MeE	2,16	MeD	1,47
				AnE	2,00	AnD	1,43
	D	7,95	10 <sup>-4</sup>	MiE	2,14	MiD	1,20
				PoE	2,63	PoD	1,25
				InE	1,84	InD	1,36
				MeE	1,90	MeD	1,69
				AnE	2,31	AnD	1,66
				MiE	1,92	MiD	1,46

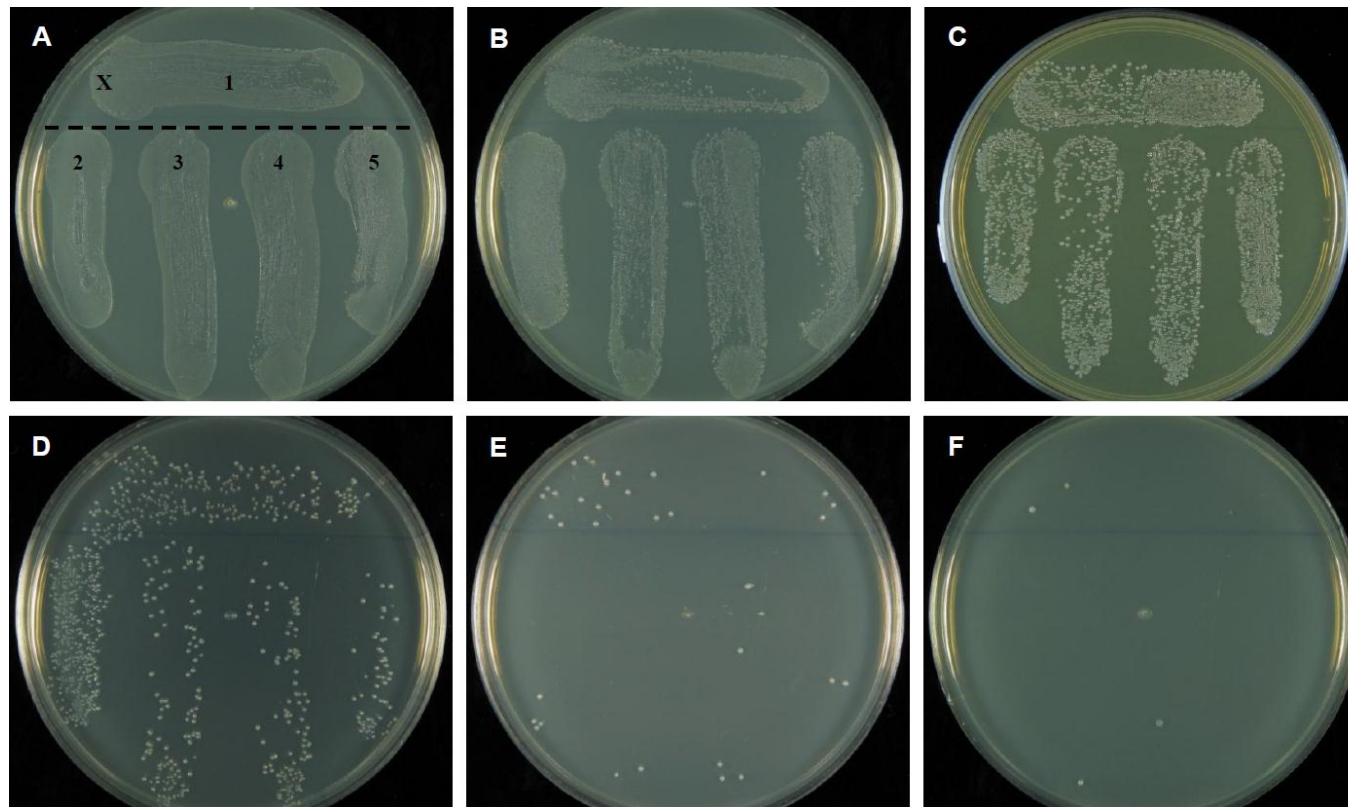
1. Realizadas a partir das diluições do inóculo do microrganismo teste que não apresentaram crescimento conflente das colônias na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (N=63).

Dedos: Po (polegar), Me (médio), An (anular), Mi (mínimo), E (esquerdo), D (direito).



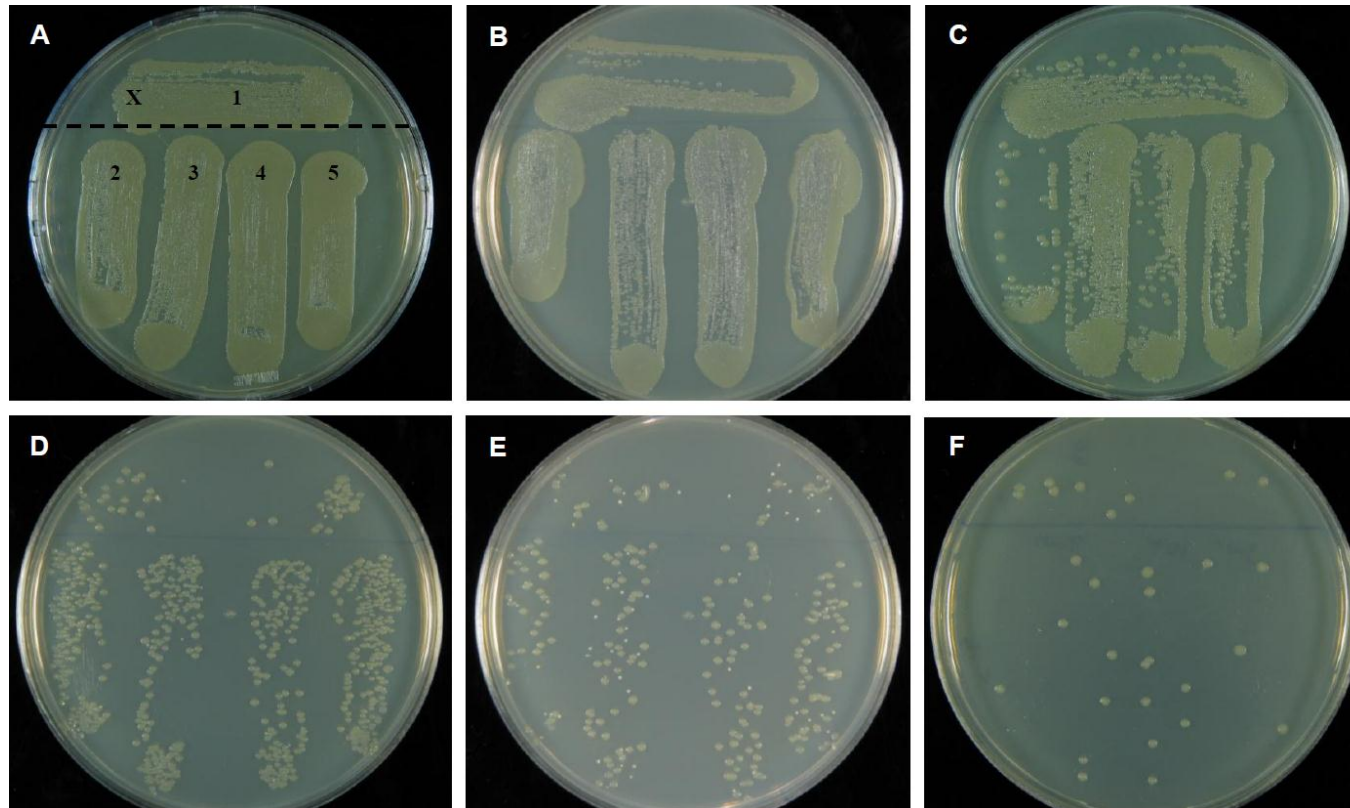
**Figura 1.** Microrganismo teste: *Staphylococcus aureus* ATCC 33591. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento conflente, dose contaminante de 27 milhões de UFC/dedo e recuperação de 17 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento conflente, dose contaminante de 270.000 UFC/dedo e recuperação de 3.500 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento semiconflente, dose contaminante de 27.000 UFC/dedo e recuperação de 1.500 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 48 UFC/dedo, dose contaminante de 2.700 UFC/dedo e recuperação de 550 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 11 UFC/dedo, dose contaminante de 270 UFC/dedo e recuperação de 100 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 7 UFC/dedo, dose contaminante de 27 UFC/dedo e recuperação de 20 UFC/dedo pelo método de referência.

**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.



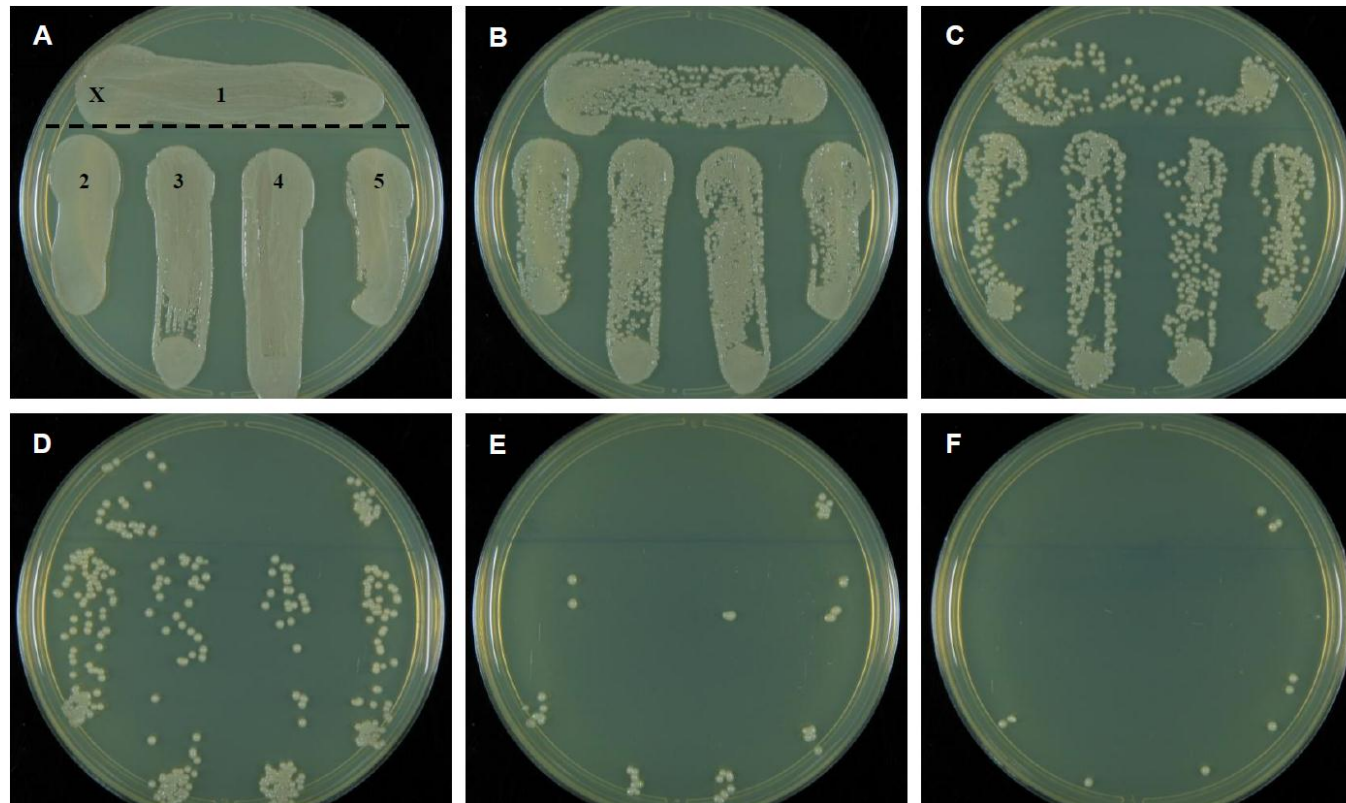
**Figura 2.** Microrganismo teste: *Enterococcus faecalis* ATCC 51299. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento conflente, dose contaminante de 15 milhões de UFC/dedo e recuperação de 2,3 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento conflente, dose contaminante de 150.000 UFC/dedo e recuperação de 120.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento conflente, dose contaminante de 15.000 UFC/dedo e recuperação de 9.800 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 140 UFC/dedo, dose contaminante de 1.500 UFC/dedo e recuperação de 900 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 11 UFC/dedo, dose contaminante de 150 UFC/dedo e recuperação de 51 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 0,8 UFC/dedo, dose contaminante de 15 UFC/dedo e recuperação de 14 UFC/dedo pelo método de referência.

**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.



**Figura 3.** Microrganismo teste: *Escherichia coli* DSM 11250. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento confluento, dose contaminante de 22 milhões de UFC/dedo e recuperação de 10 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento confluento, dose contaminante de 220.000 UFC/dedo e recuperação de 97.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento confluento, dose contaminante de 22.000 UFC/dedo e recuperação de 1.800 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 120 UFC/dedo, dose contaminante de 2.200 UFC/dedo e recuperação de 590 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 45 UFC/dedo, dose contaminante de 220 UFC/dedo e recuperação de 85 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 6 UFC/dedo, dose contaminante de 22 UFC/dedo, sem recuperação pelo método de referência. **Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.

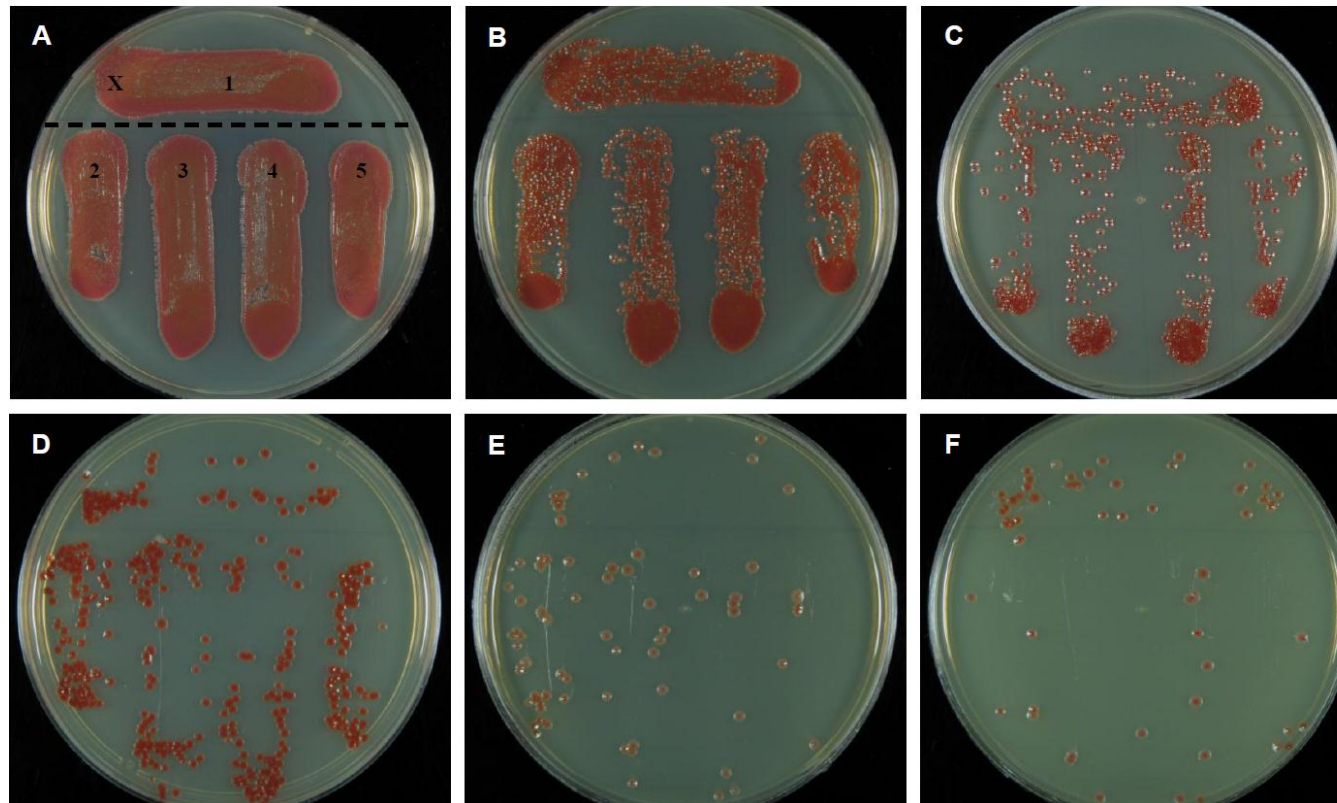




**Figura 4.** Microrganismo teste: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento confluinte, dose contaminante de 29 milhões de UFC/dedo e recuperação de 19 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento confluinte, dose contaminante de 290.000 UFC/dedo e recuperação de 240.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento semiconfluinte, dose contaminante de 29.000 UFC/dedo e recuperação de 18.000 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 70 UFC/dedo, dose contaminante de 2.900 UFC/dedo e recuperação de 1.500 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 8,6 UFC/dedo, dose contaminante de 290 UFC/dedo e recuperação de 140 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 2 UFC/dedo, dose contaminante de 29 UFC/dedo e recuperação de 19 UFC/dedo pelo método de referência.

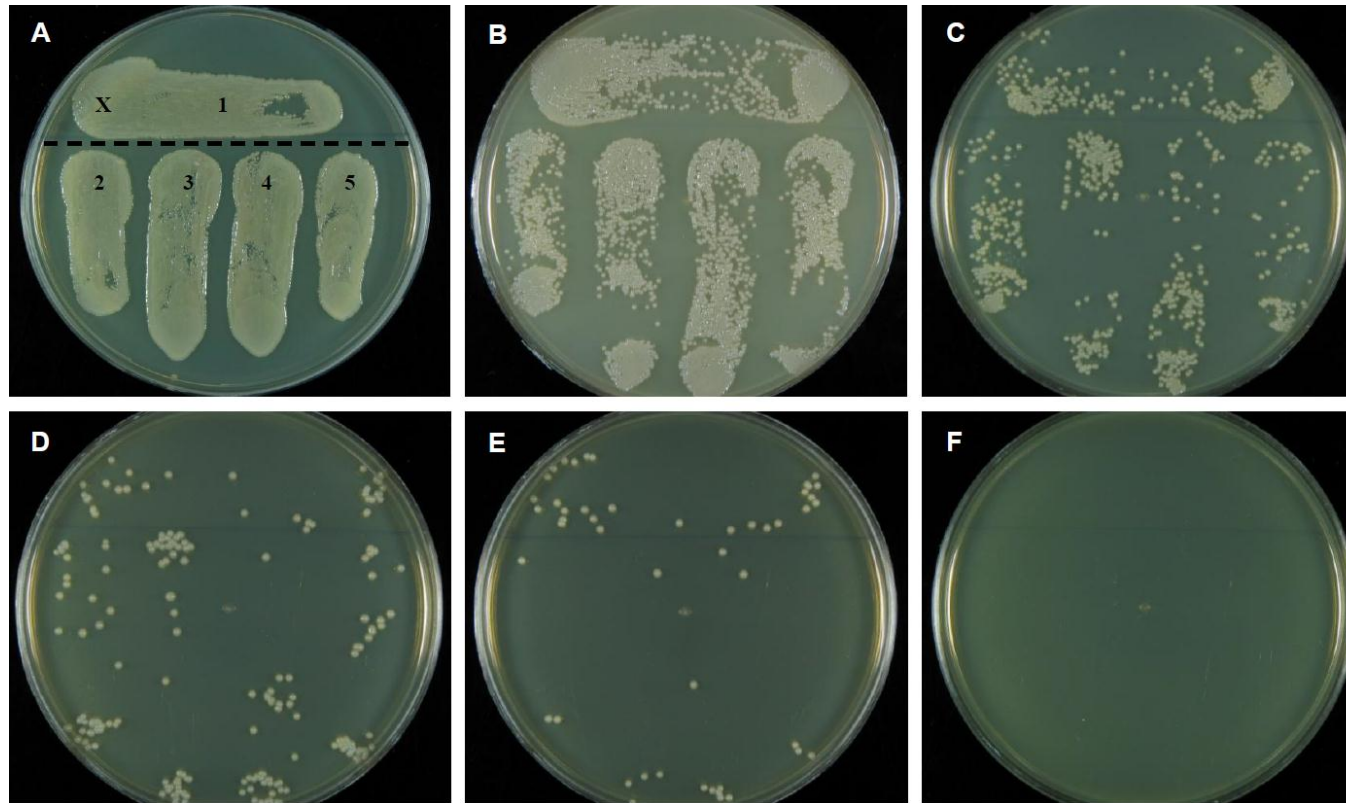
**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.





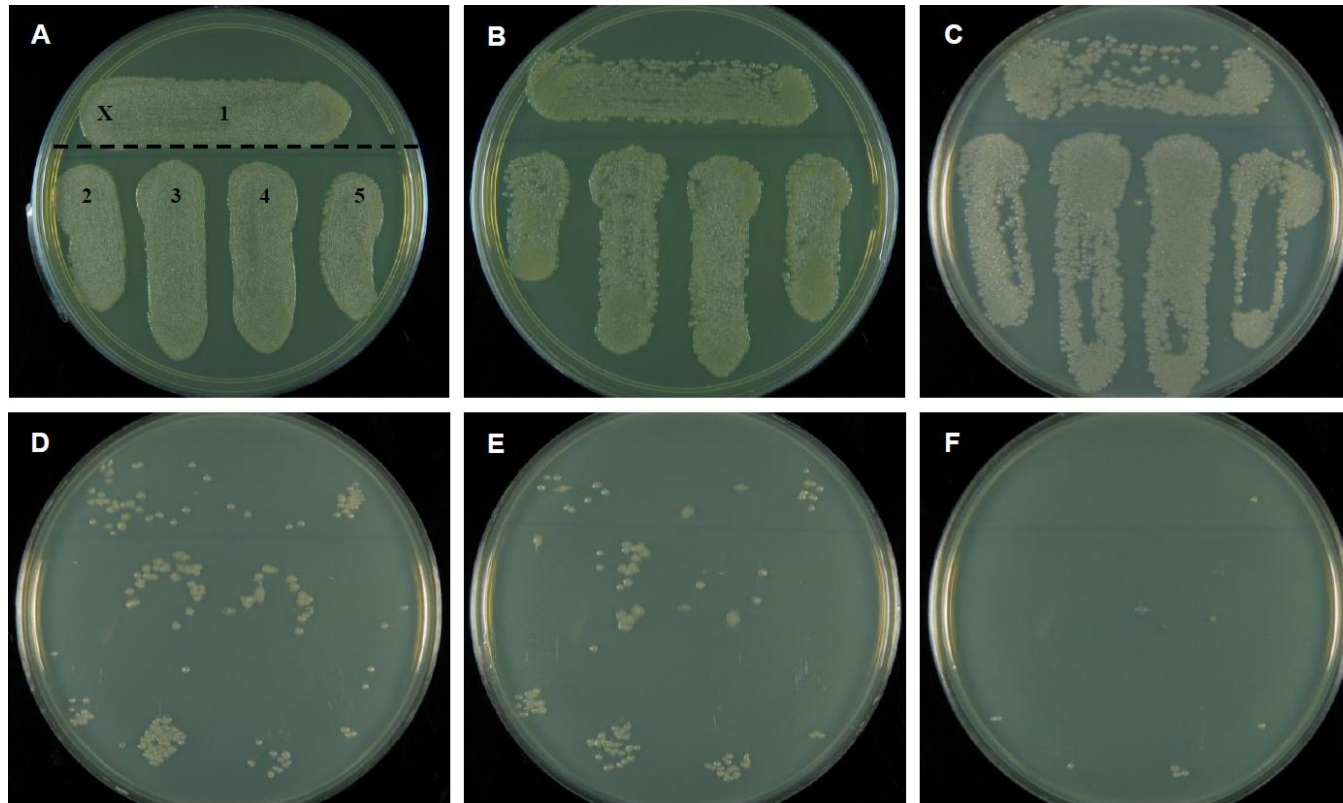
**Figura 5.** Microrganismo teste: *Serratia marcescens* ATCC 14756. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento conflente, dose contaminante de 28 milhões de UFC/dedo e recuperação de 11 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento conflente, dose contaminante de 280.000 UFC/dedo e recuperação de 14.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento semiconflente, dose contaminante de 28.000 UFC/dedo e recuperação de 2.300 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 87 UFC/dedo, dose contaminante de 2.800 UFC/dedo e recuperação de 109 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 15 UFC/dedo, dose contaminante de 280 UFC/dedo e recuperação de 38 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 12 UFC/dedo, dose contaminante de 280 UFC/dedo e recuperação de 38 UFC/dedo pelo método de referência.

**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.



**Figura 6.** Microrganismo teste: *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento confluinte, dose contaminante de 3,9 milhões de UFC/dedo e recuperação de 1,2 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento confluinte, dose contaminante de 390.000 UFC/dedo e recuperação de 84.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento semiconfluinte, dose contaminante de 39.000 UFC/dedo e recuperação de 12.000 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 33 UFC/dedo, dose contaminante de 390 UFC/dedo e recuperação de 190 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 10 UFC/dedo, dose contaminante de 39 UFC/dedo e recuperação de 34 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Sem crescimento, dose contaminante de 3,9 UFC/dedo e sem recuperação pelo método de referência.

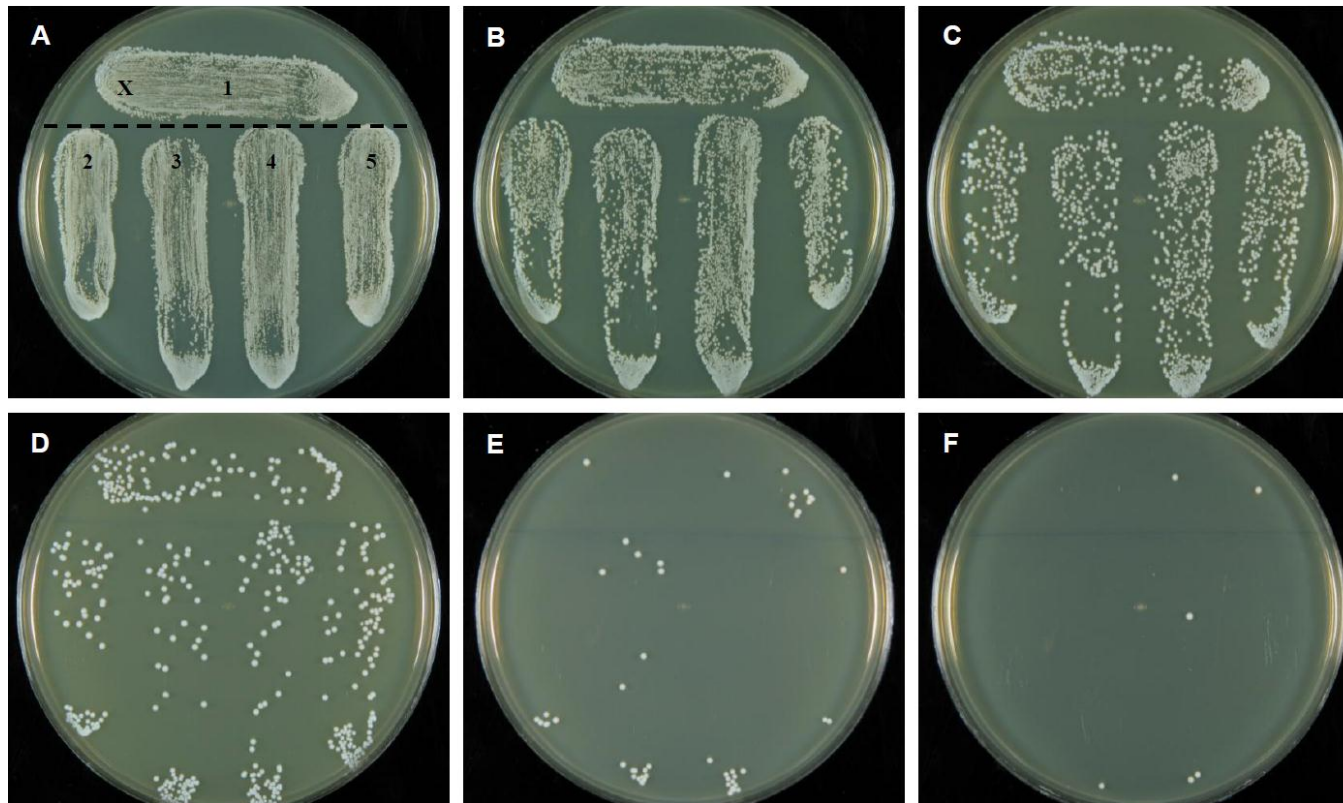
**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.



**Figura 7.** Microrganismo teste: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento confluyente, dose contaminante de 33 milhões de UFC/dedo e recuperação de 17 milhões de UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento confluyente, dose contaminante de 330.000 UFC/dedo e recuperação de 91.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento confluyente, dose contaminante de 33.000 UFC/dedo e recuperação de 4.100 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 37 UFC/dedo, dose contaminante de 3.300 UFC/dedo e recuperação de 990 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 22 UFC/dedo, dose contaminante de 330 UFC/dedo e recuperação de 170 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 1,8 UFC/dedo, dose contaminante de 33 UFC/dedo e recuperação de 16 UFC/dedo pelo método de referência.

**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.





**Figura 8.** Microrganismo teste: *Candida albicans* ATCC 90028. Recuperação pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto). **A**, Crescimento confluinte, dose contaminante de 1.800.000 UFC/dedo e recuperação de 1.300.000 UFC/dedo pelo método de referência (técnica dos tubos com pérolas); **B**, Crescimento confluinte, dose contaminante de 180.000 UFC/dedo e recuperação de 110.000 UFC/dedo pelo método de referência; **C**, Crescimento semiconfluinte, dose contaminante de 18.000 UFC/dedo e recuperação de 11.000 UFC/dedo pelo método de referência; **D**, Crescimento de 100 UFC/dedo, dose contaminante de 1.800 UFC/dedo e recuperação de 1.400 UFC/dedo pelo método de referência; **E**, Crescimento de 10 UFC/dedo, dose contaminante de 180 UFC/dedo e recuperação de 88 UFC/dedo pelo método de referência; **F**, Crescimento de 1,2 UFC/dedo, dose contaminante de 18 UFC/dedo e recuperação de 13 UFC/dedo pelo método de referência.

**Nota:** Mão Direita – Ponta de dedos: 1, polegar; 2, indicador; 3, médio; 4, anular; 5, mínimo. Descrição da técnica de amostragem no texto.

## DISCUSSÃO

Após o clássico experimento de Price (1938) sobre a quantificação da flora bacteriana das mãos pela contagem das bactérias removidas pela escovação das mãos em bacias com água e sabão, foram descritas na literatura várias técnicas para o estudo da microbiota das mãos. Dentre estas, as mais comumente empregadas são baseadas nas seguintes metodologias: (i) lavagem das mãos, representada pelas técnicas das mãos enluvadas e do saco plástico, podendo também ser incluída nesta metodologia a técnica de fricção das pontas dos dedos em tubos contendo pérolas de vidro e líquido de amostragem; (ii) uso de “swab”; (iii) contato e deslizamento ou impressão dos dedos na superfície de placas contendo ágar nutriente (Larson et al., 1980; Kaltenthaler & Pinfold, 1995).

A técnica da amostragem dos dedos em tubos contendo pérolas de vidro, usada no presente estudo como método de referência para a contagem dos microrganismos testes recuperados das pontas dos dedos contaminados dos voluntários ensaiados, foi descrita por Ayliffe et al. (1978) e proposta na década de 70 do século passado na Europa como um teste para avaliar a “lavagem higiênica” das mãos, isto é, o efeito imediato de antissépticos degermantes e preparações alcoólicas sobre microrganismos artificialmente aplicados sobre as mãos (Ayliffe et al., 1978; Lilly & Lowbury, 1978). Apesar de se tratar de uma técnica trabalhosa, que requer a necessidade de diluição do líquido de amostragem para a contagem dos microrganismos recuperados, ela fornece resultados consistentes. Em nosso laboratório esta técnica tem sido empregada em diversos estudos, nos quais investigamos a ação do sabão, antissépticos degermantes e preparações alcoólicas na remoção da flora microbiana transitória das mãos (Cardoso et al., 1985; 1999; Guilhermetti et al., 2001; Soares et al., 2002; Hernandez et al., 2004; Zarpellon et al., 2008).

A técnica do deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente foi originalmente descrita por Smylie et al. (1959). Os autores compararam a eficácia do sabão e de um creme detergente à base de hexaclorofeno no preparo pré-operatório das mãos da equipe médica cirúrgica e avaliaram a contaminação das mãos ao término do procedimento cirúrgico. Imediatamente após a cirurgia, o médico retirava uma luva e sacudia a mão para remover o excesso de talco dos dedos. A amostragem das pontas dos dedos indicador, médio, anular e mínimo era realizada por leve pressão e deslizamento dos dedos na superfície do meio de cultivo, fazendo quatro semeaduras paralelas. Este procedimento era repetido com a outra mão. As placas eram incubadas na estufa a 37°C por 24 horas para o estudo e a contagem das

colônias (Smylie et al, 1959). É importante observar que na técnica originalmente proposta o dedo polegar não era amostrado.

No presente estudo, fizemos uma adaptação da técnica de deslizamento proposta por Smylie et al. (1959) para possibilitar a amostragem dos cinco dedos. Também padronizamos o tempo de contato da leve pressão da ponta do dedo (3 segundos) e o do deslizamento (1 a 2 segundos). Justificamos a escolha desta técnica em nosso estudo por sua simplicidade de execução, rapidez, além de não ser obstrutiva, podendo, portanto, ser usada para investigar a microbiota das mãos durante a rotina do profissional da saúde na prática hospitalar. Em nosso conhecimento este é o primeiro estudo realizado em laboratório com objetivo de investigar a microbiota transitória das mãos de voluntários humanos, utilizando uma adaptação da técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente, na tentativa de avaliar o grau de contaminação das mãos.

No experimento 1, com exceção da amostras de *E. coli* DSM 11250, não houve diferença entre as contagens de viáveis dos inóculos dos microrganismos testes cultivados nos meios com e sem antibióticos, validando, portanto, a adição de antibiótico no meio de cultivo para inibir a microbiota residente das mãos, facilitando desta forma as contagens das colônias dos microrganismos testes recuperados após a contaminação das mãos (Tabela 1). Nos ensaios com *E. coli* DSM 11250 o antibiótico interferiu parcialmente no crescimento do microrganismo teste, impedindo, portanto, sua utilização no meio de cultura. Neste caso, a diferenciação das colônias de *E. coli* DSM 11250 com as das bactérias da microbiota residente da pele (e.g., estafilococos, micrococos, corinebactérias) foi feita com base na morfologia colonial (i.e., aspecto, pigmentação e tamanho) e, quando necessário, pela confirmação das características morfotintórias das células de *E. coli* (i.e., bacilos Gram-negativos) pela coloração de Gram (Cardoso, 2000).

No experimento 1, o  $\log_{10}$  da dose média $\pm$ DP da contaminação das pontas dos dedos com o inóculo puro dos microrganismos testes foi de  $7,15\pm 0,44$  e a recuperação destes microrganismos pela técnica dos tubos com pérolas foi de  $6,79\pm 0,48$ ; registrando-se um fator de redução logarítmico de  $0,36\pm 0,04$ . Estes dados, expressos em porcentagem mostraram que a aplicação de uma dose contaminante de aproximadamente 14 milhões de UFC/dedo resultou na recuperação de 6.000.000 de UFC/dedo (43%) e na morte por dessecação de 8.000.000 UFC/dedo (57%). Estes resultados evidenciam que apesar do processo de secagem contribuir para a redução do número de microrganismos das mãos contaminadas, ele pode não garantir a total eliminação dos microrganismos transitórios das pontas dos dedos, demonstrando assim o

potencial de risco das mãos contaminadas. Doses contaminantes desta ordem foram evidenciadas no presente estudo pelo crescimento confluyente de colônias pela técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (Figuras 1 a 8).

Conforme evidenciado na Tabela 2, a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente, quando comparada à técnica dos tubos com pérolas (método de referência), mostrou crescimento de colônias confluyentes para doses contaminantes do inóculo puro que variaram de 1.800.000 UFC/dedo (*C. albicans* ATCC 90028) a 33 milhões de UFC/dedo (*P. aeruginosa* ATCC 27853), encontrando-se em média 10 milhões de UFC/dedo. O crescimento de colônias semiconfluyentes foi relacionado a uma dose contaminante média de 130.000 UFC/dedo, com variações de 15.000 UFC/dedo (*E. faecalis* ATCC 51299) a 330.000 UFC/dedo (*P. aeruginosa* ATCC 27853). No caso do crescimento de colônias isoladas, que puderam ser contadas, a técnica de deslizamento detectou doses contaminantes que variaram de 15 UFC/dedo (*E. faecalis* ATCC 51299) a 27.000 UFC/dedo (*S. aureus* ATCC 33591) e uma dose média de 6.000 UFC/dedo (Tabela 2).

Com base nestes dados é possível sugerir que o crescimento de colônias confluyentes na técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto) pode estar associado a um alto grau de contaminação das mãos (e.g., 10 milhões de UFC/dedo), o crescimento semiconfluyente a uma contaminação média (e.g., 130.000 UFC/dedo) e o crescimento de 2 a 140 colônias pode indicar um baixo grau de contaminação das mãos (e.g., 6.000 UFC/dedo).

Os resultados obtidos no experimento 2 demonstraram que houve correlação entre as técnicas de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (método proposto) e a técnica dos tubos com pérolas (método de referência). A média $\pm$ DP do coeficiente de correlação de Spearman ( $\rho$ ) encontrados para os oito microrganismos testes investigados foi de  $0,81\pm 0,16$ , indicando, portanto, a possibilidade do uso da técnica proposta para estimar o grau de contaminação das mãos.

De fato, nas mãos altamente contaminadas no experimento 2, a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente, quando comparada à técnica dos tubos com pérolas (método de referência), mostrou crescimento confluyente, para contagens dos microrganismos testes que variaram de 1 milhão de UFC/dedo para *C. albicans* ATCC 90028 a 29 milhões de UFC/dedo para *P. aeruginosa* ATCC 27853, crescimento semiconfluyente para contagens de 100.000 a 2,9 milhões de UFC/dedo. O crescimento de colônias contáveis

destes microrganismos (i.e., leve contaminação), foi observado para contagens que variaram de 90 a 2.600 UFC/dedo (Tabelas 9 e 10). Nas mãos levemente contaminadas foi possível determinar o número de colônias obtidas pela técnica de pressão e deslizamento, cuja média dos cinco dedos para cada microrganismo testado foi de:  $33,40 \pm 15,26$  (*Staphylococcus aureus*);  $108 \pm 24,89$  (*Enterococcus faecalis*);  $47,20 \pm 16,21$  (*Escherichia coli*);  $101,60 \pm 57,36$  (*Klebsiella pneumoniae*);  $109,20 \pm 15,06$  (*Serratia marcescens*);  $27,20 \pm 16,27$  (*Acinetobacter baumannii*);  $71,40 \pm 35,64$  (*Pseudomonas aeruginosa*) e  $34,80 \pm 6,58$  (*Candida albicans*) (Tabelas 3 a 10).

A dose média $\pm$ DP da contaminação das pontas dos dedos no experimento 2, expressa em  $\log_{10}$ , foi de  $6,96 \pm 0,49$  (i.e., em torno de 9 milhões de UFC). A recuperação dos microrganismos pelas técnicas dos tubos com pérolas e da pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente foram de, respectivamente,  $2,54 \pm 0,31$  e  $1,72 \pm 0,22$ ; implicando em fatores de redução logarítmico de  $4,42 \pm 0,18$  (99,9962%) e  $5,24 \pm 0,27$  (99,9994%) devido a morte por dessecação da população dos microrganismos testes aplicados nas mãos. A exemplo do experimento 1, apesar da secagem reduzir significativamente o número dos microrganismos testes aplicados nas mãos ela não foi capaz de eliminá-los totalmente.

O presente estudo apresenta várias limitações. A primeira, e talvez a mais importante, é que nas mãos altamente contaminadas amostradas pela técnica de pressão e deslizamento na superfície de ágar nutriente, o crescimento confluyente ou semiconfluyente das colônias impossibilita a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC). Entretanto, utilizando-se em paralelo uma técnica quantitativa padrão para comparação, foi possível demonstrar em nosso estudo que a técnica de deslizamento pode estimar o grau de contaminação das mãos, diferenciando facilmente as altas contaminações (i.e., acima de 1 milhão de UFC por ponta de dedo) das baixas contaminações (i.e., em torno de 1.000 UFC por ponta de dedo). Uma segunda limitação é que investigamos apenas a contaminação das pontas dos dedos e não da mão inteira, conforme recomendado em alguns estudos. Justificamos nosso procedimento porque as pontas dos dedos são os sítios mais comumente contaminados na prática hospitalar (Ayliffe et al., 1978). Por último, o uso de amostras de coleção de cultura como microrganismos testes pode não refletir o comportamento dos correspondentes isolados clínicos destes microrganismos. Infelizmente, por falta de tempo, não foi possível investigar estes isolados clínicos em nosso estudo. Embora seja um aspecto importante e que mereça uma investigação futura, acreditamos que a não inclusão dos isolados clínicos não deve ter alterado a tendência dos resultados encontrados no presente estudo.



Em conclusão, os resultados sugerem que a adaptação da técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente proposta no presente estudo pode ser utilizada para avaliar o grau de contaminação das mãos pela microbiota transitória.

## REFERÊNCIAS

- Boyce JM, Pittet D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23(Suppl 12):S3-40.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. *Segurança do paciente – Higienização das mãos*. Brasília: ANVISA; 2009.
- World Health Organization. *WHO guidelines on hand hygiene in health care. First global patient safety challenge: clean care is safe care*. Geneva: WHO; 2009.
- Taylor LJ. An evaluation of handwashing techniques-1. *Nursing Time* 1978; January 12,54-55.
- Cardoso CL, Pereira HH, Zequim JC, Guilhermetti M. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing *Acinetobacter baumannii* strain from contaminated hands. *Am J Infect Control* 1999;27:327-331.
- Guilhermetti M, Hernandez SED, Garcia LB, Cardoso C.L. Effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated hands. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22:105-108.
- Szilágyi L, Haidegger T, Lehotsky A, Nagy M, Csonka E-A, Xiuying S, Ooi KL, Fisher D. A large-scale assessment of hand hygiene quality and the effectiveness of the “WHO 6-steps”. *BMC Infectious Diseases* 2013;13:249.
- Smylie HG, Webster CU, Bruce ML. “PhisoHex” and safer surgery. *Brit Med J* 1959;2:606-609.
- Gale D, Broderick EG, Lamb BJ, Topper R. Re-evaluation of scrub technique for preoperative disinfection of the surgeon’s hands. *Ann Surg* 1962;155:107-118.
- Pittet DP, Dharan S, Touveneau S, Sauvan V, Perneger TV. Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Arch Intern Med* 1999;159:821-826.
- Perraud M, Amazian K, Girard R, Guerraz, FT. The use of hand hygiene products could reduce colonization on the hands. *J Hosp Infect* 2001;47:336-337.
- Silva SRB, Rosa NM, Wingeter MA, Pinto NB, Tognim MCB, Garcia LB, Cardoso CL. Hand contamination during hospital patient care. *Int J Infect Dis* 2012;16:e641-e642.
- Miles AA, Misra SS, Irwin JO. The estimation of the bactericidal power of the blood. *J Hyg* 1938;38:732-749.
- Ayliffe GAJ, Babb JR, Quoraishi AH. A test for hygienic hand disinfection. *J Clin Pathol* 1978;31:923-928.
- Lilly HA, Lowbury E.J.L. Transient skin flora. Their removal by cleansing or disinfection in relation to their mode of deposition. *J Clin Pathol* 1978;31:919-922.
- Price PB. The bacteriology of normal skin: new quantitative test applied to a study of the bacteria flora and the disinfectant action of mechanical cleansing. *J Infect Dis* 1938;63:301-318.
- Larson EL.; Strom MK, Evans CA. Analysis of three variables in sampling solutions used to assay bacteria of hands: type of solution, use of antiseptic neutralizers, and solution temperature. *J Clin Microbiol* 1980;12:355-360.

Kaltenthaler EC, Pinfold JV. Microbiological methods for assessing handwashing practice in hygiene behavior studies. *J Trop Med Hyg* 1995;98:101-106.

Cardoso CL, Martins FM, Dorigo D, Gontijo Filho PP. Efeito imediato de sabão, álcool e produtos contendo anti-sépticos sobre a flora bacteriana transitória das mãos (*Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*). *Rev Bras Med* 1985;42:358-363.

Soares VS, Hernandez SED, Ogassawara RLN, Kwabara, HN, Garcia LB, Cardoso CL. Remoção de *Serratia marcescens* (*Enterobacteriaceae*) das mãos contaminada. *Acta Scientiarum* 2002;23:719-725.

Hernandes SED, Mello AC, Sant'Ana JJ, Soares VS, Cassiolato V, Garcia LB, Cardoso CL. The effectiveness of alcohol gel and other hand-cleansing agents against important nosocomial pathogens. *Braz J Microbiol* 2004;35:33-39.

Zarpellon MN, Soares VS, Albrecht NR, Bergamasco DR, Garcia LB, Cardoso CL. Comparison of 3 alcohol gels and 70% ethyl alcohol for hand hygiene. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:960-962.

Cardoso CL. *Microbiologia. Aulas práticas para o curso de medicina*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá; 2000, Série Apontamentos:85.

## ANEXO 1 –TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa intitulada “Avaliação do grau de contaminação das mãos pela técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente”, que faz parte do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, que é coordenada pelo professor Celso Luiz Cardoso do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Estadual de Maringá. O objetivo da pesquisa é avaliar a técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente para o estudo do número de micróbios das mãos dos profissionais da saúde.

Para isto a sua participação é muito importante e ela se dará da seguinte forma: você terá as pontas dos dedos contaminadas com o microrganismo teste. Após a secagem, você fará a amostragem da mão direita pela técnica de deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente (técnica a ser avaliada) e da mão esquerda pela fricção das pontas dos dedos em tubos de ensaio contendo pérolas de vidro e um líquido de amostragem (técnica padrão). A seguir o líquido de amostragem será semeado em meio de cultura para recuperar o microrganismo teste da sua mão. Os resultados entre as duas técnicas serão então comparados utilizando-se um modelo matemático apropriado.

Estudo deste tipo, apesar da contaminação temporária das pontas dos dedos, pode apresentar um pequeno risco de contaminação para você, mas todos os cuidados de biossegurança serão tomados para evitá-lo. Assim, ao término do experimento, suas mãos serão higienizadas com água e sabão por 40 a 60 segundos, secadas com auxílio de papel toalha estéreis e depois friccionadas com preparação alcoólica por 20 a 30 segundos. Você ainda fará como controle final, uma nova amostragem das pontas dos dedos para comprovar a ausência do microrganismo teste. Assumimos a responsabilidade de dar assistência integral às complicações e danos decorrentes dos riscos previstos. Assim, no caso de você sofrer alguma contaminação com o microrganismo teste, você será avaliado clinicamente e tratado pela Dra. Márcia Arias Wingeter, médica infectologista, docente do Departamento de Medicina de nossa Instituição e participante do nosso grupo de pesquisa. Os eventuais custos decorrentes da compra de medicamentos (antibióticos) serão pagos com recursos próprios do coordenador da pesquisa. Garantimos indenização diante de eventuais danos causados por contaminação ou infecção com o microrganismo teste.

Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Informamos também que o microrganismo teste e as bactérias da sua pele serão utilizados para os fins estabelecidos na pesquisa e após serão descartadas de acordo com as normas de biossegurança do trabalho microbiológico.

Nós esperamos que a realização do presente estudo possa contribuir com a proposta de uma técnica simples e de fácil execução para estimar o grau de contaminação das mãos dos profissionais da saúde na prática hospitalar. Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar no endereço abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em participar voluntariamente da pesquisa coordenada pelo Professor Celso Luiz Cardoso.

Data: \_\_\_/\_\_\_/2014.

Assinatura ou impressão datiloscópica

Eu, Wellington Muniz do Nascimento, declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

Data: \_\_\_/\_\_\_/2014.

Assinatura do pesquisador

**Endereço do Coordenador da Pesquisa:** Prof. Celso Luiz Cardoso. Laboratório de Microbiologia (Sala 116, Bloco I-90), Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo 5790 – Campus Universitário. CEP 87020-900 Maringá, PR, Brasil. Telefone: (44) 3011-4953. E-mail: clcardoso@uem.br

**Endereço do COPEP/UEM:** Comitê Permanente de Ética em Pesquisa (COPEP) envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (UEM) – COPEP/UEM. Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo, 5790. Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM. CEP 87020-900. Maringá, PR, Brasil. Telefone: (44) 3261-4444. E-mail: copep@uem.br

Maringá, \_\_\_/\_\_\_/2014

\_\_\_\_\_  
Pós-Graduando:  
Wellington Muniz do Nascimento

\_\_\_\_\_  
Orientador:  
Prof. Dr. Celso Luiz Cardoso

## **CAPÍTULO III**

### **CONCLUSÕES**

Os resultados sugerem que a adaptação da técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente proposta no presente estudo pode ser utilizada para avaliar o grau de contaminação das mãos pela microbiota transitória.

## **PERSPECTIVAS FUTURAS**

Complementar a pesquisa utilizando como microrganismos testes os respectivos isolados clínicos empregados no presente estudo.

Utilizar a técnica de pressão e deslizamento dos dedos na superfície de ágar nutriente proposta no presente estudo para estimar o grau de contaminação das mãos dos profissionais da saúde durante o cuidado ao paciente em nosso hospital.

O conhecimento do grau de contaminação das mãos dos profissionais da saúde na prática hospitalar durante surtos de infecções ou mesmo em situações endêmicas é de extrema importância para que o serviço de controle de infecção possa enfatizar as medidas de prevenção e controle, cuja ação primária é a higienização das mãos.