

Eva Carina Serra Gonçalves

**Pesquisa de *Staphylococcus aureus* (resistente/sensível à meticilina) em superfícies  
do equipamento de medicina dentária**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2019



Eva Carina Serra Gonçalves

**Pesquisa de *Staphylococcus aureus* (resistente/sensível à meticilina) em superfícies  
do equipamento de medicina dentária**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2019

Eva Carina Serra Gonçalves

**Pesquisa de *Staphylococcus aureus* (resistente/sensível à meticilina) em superfícies  
do equipamento de medicina dentária**

“Tese apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos  
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária, sob a orientação da  
Prof.<sup>a</sup> Doutora Cristina Pina e co-orientação da Prof.<sup>a</sup> Doutora Inês Lopes Cardoso.”

---

Eva Gonçalves

## RESUMO

**Introdução e Objetivos:** *Staphylococcus aureus* é considerada uma das bactérias Gram-positivo mais frequentemente isolada na comunidade e no ambiente hospitalar, estando associada a diversas infecções. As estirpes multirresistentes a antibióticos (*Staphylococcus aureus* resistente à metilina – MRSA) representam mundialmente uma das maiores causas de infecções nosocomiais, representando elevadas taxas de mortalidade. Analisaram-se diferentes superfícies do equipamento de medicina dentária para avaliar a presença de *Staphylococcus aureus* sensível à metilina (MSSA) e/ou MRSA.

**Materiais e Métodos:** 354 Amostras foram recolhidas com zaragoas *Copon Liquid Amies Elution eSwab*, de seis superfícies do equipamento de medicina dentária em seis áreas de atendimento antes e após consulta a pacientes e cultivadas em meio seletivo *chromID® MRSA/chromID S. aureus*. Estirpes MRSA/MSSA foram confirmadas por PCR.

**Resultados:** A percentagem de contaminados foi de: MRSA – 17,5%, sendo que 5,9% correspondem a amostras recolhidas antes do atendimento e 11,6% após; MSSA – 39,3%, com 14,1% amostras recolhidas antes do atendimento e 25,2% após. As amostras não contaminadas correspondem a 55,6% da amostra total. A prevalência de MRSA/MSSA foi significativamente maior após atendimento de pacientes. Clínica de Pacientes Especiais representa a área de atendimento mais contaminada (MRSA – 41,7%; MSSA – 58,3%) e a cuspeira (MRSA – 27,1%; MSSA – 59,3%) a superfície mais contaminada.

**Conclusões:** As clínicas dentárias são reservatórios de transmissão de MRSA/MSSA, contribuindo para potenciais infecções nosocomiais, sendo os pacientes uma possível porta de entrada destas bactérias. Contudo, os protocolos de desinfecção aplicados nestas clínicas são suficientes para o controlo da infeção por estes microrganismos.

**Palavras-Chave:** Nosocomial infections; *mecA* gene; Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA; MRSA; Dental clinics

## ABSTRACT

**Introduction and Objectives:** *Staphylococcus aureus* is one of the most commonly found Gram-positive bacteria in the community and in the hospital environment, being associated with several infections. The multidrug-resistant strains (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA) represent worldwide one of the major causes of nosocomial infections, representing high mortality indexes. Several dental medicine equipment surfaces were analysed to evaluate the presence of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) and/or MRSA.

**Materials and Methods:** 354 Samples were collected with Copon Liquid Amies Elution eSwab swabs from six surfaces of dental medicine equipment in six treatment areas before and after patient consultation and cultured in selective medium chromID® MRSA / chromID S. aureus. MRSA/MSSA strains were confirmed by PCR.

**Results:** The percentage of contamination was: MRSA – 17.5%; where 5.9% correspond to samples collected before treatment and 11.6% after; MSSA – 39.3%, with 14.1% of samples collected before care and 25.2% after. Uncontaminated samples were 55,6% of the total number of samples. The prevalence of MRSA/MSSA was significantly higher after patient care. Special Patient clinic represented the most contaminated service area (MRSA – 41.7%, MSSA – 58.3%) and dental spittoon (MRSA – 27.1%; MSSA – 59.3%) the most contaminated surface.

**Conclusions:** Dental clinics are reservoirs for the transmission of MRSA/MSSA, contributing to potential nosocomial infections, and patients are a possible gateway for these bacteria. However, the disinfection protocols applied in these clinics are sufficient for the control of the infection by these microorganisms.

**Keywords:** Nosocomial infections; *mecA* gene; Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA; MRSA; Dental clinics

## **DEDICATÓRIA**

Dedico inteiramente esta tese de mestrado aos meus pais, que sempre acreditaram em mim, fazendo ver que tudo é possível. Por todo o investimento na minha formação e por todo o incentivo durante toda a minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Um agradecimento em especial às minhas orientadoras, Prof.<sup>a</sup> Doutora Cristina Pina e Prof.<sup>a</sup> Doutora Inês Lopes Cardoso, por toda a disponibilidade durante este projeto. Foram fundamentais e incansáveis para que tudo isto fosse possível. Saliento o apoio incondicional, o carinho e as palavras de incentivo em todas as reuniões e emails trocados e as sugestões pertinentes para que conseguisse fazer sempre mais e melhor. Um muitíssimo obrigada!

Agradeço à Prof.<sup>a</sup> Doutora Sandra Gavinha por toda a disponibilidade e autorizações necessárias, para a realização desta investigação nas clínicas dentárias da FCS, da UFP.

Agradeço à Prof.<sup>a</sup> Doutora Conceição Manso, por toda a ajuda na realização da análise estatística.

Agradeço aos professores e colegas envolvidos neste projecto, pela distribuição de tarefas na recolha e cultivo das amostras.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	XIII
I – INTRODUÇÃO	1
II – MATERIAIS E MÉTODOS	
2.1 Amostragem	4
2.2 Análise Estatística	6
III – RESULTADOS	
3.1 Análise quantitativa dos resultados obtidos de MRSA/MSSA	6
3.1.1 Análise dos resultados positivos obtidos antes e depois da consulta de medicina dentária	7
3.1.2 Análise quantitativa de colónias presentes	7
3.1.3 Identificação da estirpe MRSA por PCR	8
3.2 Análise dos resultados obtidos nas diferentes áreas de atendimento	8
3.3 Análise dos resultados obtidos por superfície do equipamento de medicina dentária	10
IV – DISCUSSÃO	12
V – CONCLUSÃO	14
VI – BIBLIOGRAFIA	16
VII – ANEXOS	21

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição da amostragem por área de atendimento.	21
Tabela 2. Contagem e percentagem de MRSA em equipamento antes e após atendimento.	21
Tabela 3. Contagem e percentagem de MSSA em equipamento antes e após atendimento.	21
Tabela 4. Análise da contagem e percentagem de colónias positivas MRSA/MSSA.	8
Tabela 5. Contagem e percentagem de amostras MRSA por área de atendimento.	9
Tabela 6. Contagem e percentagem de amostras MSSA por área de atendimento.	9
Tabela 7. Contagem e percentagem de amostras MRSA por superfícies do equipamento de medicina dentária.	10
Tabela 8. Contagem e percentagem de amostras MSSA por superfícies do equipamento de medicina dentária.	11

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolução da percentagem de MRSA entre 2014 e 2017 em Portugal.	21
Figura 2. Distribuição da amostragem por área de atendimento.	4
Figura 3. Imagem das 6 superfícies do equipamento de medicina dentária analisadas: A-luz; B-cuspideira; C-tabuleiro; D-encosto de cabeça; E-braço da cadeira; F-seringa de ar/água.	5
Figura 4. Meio seletivo cromogénico – chrMID®MRSA/chrMID S.aureus (A); Zaragatoas Copon Liquid Amies Elution eSwab Collection (B).	5
Figura 5. Resultados em percentagem da quantidade de amostras contaminadas para MRSA ou MSSA.	7
Figura 6. Placas exemplificativas dos resultados de colónias de cor verde (MRSA/MSSA) com: $\leq 5$ Colónias (A); entre 5 e 15 Colónias (B); $\geq 15$ Colónias (C).	8
Figura 7. Percentagem de colónias MSSA positivas (A) e MRSA positivas (B).	8
Figura 8. Visualização dos produtos de PCR ao gene mecA. M-marcador de peso molecular (DNA fago lambda cortado com Hind III); C-controlo (MRSA); A-amostra.	22
Figura 9. Percentagens de amostras positivas MRSA/MSSA por área de atendimento (baseado nos dados das tabelas 5 e 6).	10
Figura 10. Percentagens de amostras positivas MRSA/MSSA por superfície do equipamento de medicina dentária (baseado nos dados das tabelas 7 e 8).	11
Figura 11. Superfície A – Luz da box com o desenho da recolha da amostra.	23
Figura 12. Superfície B – Cuspideira com o desenho da recolha da amostra.	23
Figura 13. Superfície C – Tabuleiro com o desenho da recolha da amostra.	23
Figura 14. Superfície D – Encosto de cabeça com o desenho da recolha da amostra.	23

Figura 15. Superfície E – Braço da cadeira com o desenho da recolha da amostra. 23

Figura 16. Superfície F – Seringa de ar/água com o desenho de recolha da amostra. 23

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA – *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina

VRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina

*S. aureus* – *Staphylococcus aureus*

SCCmec – Cassete cromossómico estafilocócico *mec*

PBP – Proteína de ligação à penicilina

ECDC – Centro Europeu de Prevenção e Controlo da Doença (do inglês *European Centre for Disease Prevention and Control*)

PCR – Reação em cadeia da polimerase

CHX – Clorexidina

% – Percentagem

n – Contagem/quantidade

## I – INTRODUÇÃO

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria de Gram-positivo, não móvel, de coagulase positiva, em forma de cocos, pertencendo ao filo Firmicutes (Lee *et al.*, 2018).

Esta bactéria é colonizadora da flora comensal em diversas partes do corpo humano (fossas nasais, garganta, intestinos e pele), mas é o epitélio nasal que se destaca como o local de maior colonização, cuja prevalência chega, em média, a 20-40% na população adulta (Smith *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2018).

Contudo, *S. aureus* está frequentemente associada a infecções da pele, pneumonias, feridas cirúrgicas, bacterémias, osteomielites e endocardites, sendo considerado um dos mais importantes patógenos do ser humano, tanto a nível da comunidade como em infecções nosocomiais. Esta patogenicidade está relacionada com um enorme número de fatores de virulência, que lhe permitem aderir às superfícies, invadir ou evitar o sistema imunitário e causar efeitos tóxicos no hospedeiro (Shorr, 2007; Bien *et al.*, 2011). Entre os mais importantes fatores de virulência, estão as adesinas e as exoproteínas, tais como as exotoxinas e enzimas (nucleases, proteases, lipases, hialuronidasas e colagenases) (Bien *et al.*, 2011; Merghni *et al.*, 2014; Blomqvist *et al.*, 2015).

Alguns clones de *S. aureus* evoluíram para *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) por adquirirem, via transferência genética horizontal, a cassete cromossômica estafilocócica *mec* (SCC*mec*), um elemento genético móvel que contém os genes *mecA* ou *mecC* e que conferem resistência à maioria dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, incluindo a meticilina (García-Garrote *et al.*, 2013; Skov *et al.*, 2013; McCarthy *et al.*, 2015; Milheiriço *et al.*, 2017; Cikman *et al.*, 2019). De facto, MRSA tem uma capacidade notável de adquirir resistência a qualquer antibiótico, não só aos  $\beta$ -lactâmicos, o que leva a implicações importantes para as atuais e futuras opções de tratamento de infecções por esse patógeno (Chambers e Deleo, 2010; Lee *et al.*, 2018).

MRSA foi descrito pela primeira vez em Inglaterra em 1961 (Jevons, 1961), logo depois da meticilina ter sido introduzida na prática clínica (Harkins *et al.*, 2017). Inicialmente, este antibiótico era amplamente utilizado, contudo, pela sua toxicidade, não é atualmente comercializado para uso em humanos e foi substituído por penicilinas similares mais estáveis como por exemplo a oxacilina. Contudo, o termo *S.aureus* resistente à meticilina continua a ser utilizado (Lee *et al.*, 2018).

*Staphylococcus aureus*, com especial foco na sua estirpe resistente à meticilina (MRSA), adquire resistência antibiótica, não só aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos como a penicilina e seus derivados, meticilina/oxacilina, carbapenêmicos e a cefalosporinas, mas também a outras classes como os macrólidos, as tetraciclinas, entre outros, o que a torna uma estirpe multirresistente. A sua resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos deve-se aos seguintes mecanismos:

- Produção ou hiperprodução de enzima penicilinase/ $\beta$ -lactamase que hidrolisa o anel  $\beta$ -lactâmico, destruindo as propriedades antibacterianas da penicilina e seus derivados. *Staphylococcus aureus* produz quatro tipos desta enzima (A, B, C e D) codificadas por diferentes genes, principalmente pelo gene *blaZ* (Zygmunt *et al.*, 1992; Olsen *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2014; Foster, 2017; Kesharwani e Mishra 2018).
- Por alteração das proteínas de ligação à penicilina (PBP), alteração esta que é causada por mutações principalmente no gene *mecA* presente na bactéria, levando à produção de uma versão laterada da proteína PBP2a. A presença de PBP2a na parede celular bacteriana provoca uma baixa afinidade de ligação aos  $\beta$ -lactâmicos (Chambers e Deleo, 2010; Fishovitz *et al.*, 2014; Harkins *et al.*, 2017; Aguayo-Reyes *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2018).

Estirpes de MRSA são agora endêmicas em muitas unidades de saúde por todo o mundo e, como consequência, tornou-se um foco importante para os esforços globais de controlo de infeção. Devido às limitadas opções de tratamento, estas estirpes tornam-se na maior causa de infeções nosocomiais a nível mundial com elevadas taxas de morbidade e mortalidade (Shorr, 2007; Pantosti e Venditti, 2009).

Desde 1960, a vancomicina tem sido a droga terapêutica de eleição para o tratamento de infeções nosocomiais por MRSA, contudo, desde o ano 2002 nos Estados Unidos, foram observados os primeiros casos de estirpes de *S. aureus* resistentes à vancomicina (VRSA) (Sakoulas e Moellering, 2008; Al-anazi, 2009). Alternativas terapêuticas como a aplicação de linezolid, daptomicina ou teicoplanina poderão ser usadas. Contudo, a escolha da terapêutica, a via de administração e a duração da antibioterapia, serão determinadas pela localização e severidade da infeção, e o seu tratamento deverá ser ajustado com base nos resultados dos testes de suscetibilidade aos antibióticos (Al-anazi, 2009; Chambers e Deleo, 2010; Lee *et al.*, 2018).

Segundo o relatório anual do ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) e de acordo com o Relatório Anual do Programa Prioritário de Infeções e Resistências aos

Antimicrobianos (2018), apesar da percentagem de MRSA estar a diminuir em Portugal, com 47.4%, 46.8%, 43.6% e 39.2% nos anos 2014, 2015, 2016 e 2017 respetivamente, Portugal é considerado um dos países com percentagem de MRSA mais elevada da Europa (ECDC, 2017), como pode ser observado na figura 1 em anexo.

Apesar do risco de infeção nas clínicas dentárias ser menor do que a nível hospitalar (Petti e Polimeni 2011; Petti *et al.*, 2015), é ainda responsável por muitas patologias a nível oral e perioral como: queilite angular; úlceras orais; fracasso de tratamento com implantes; estomatite protética; abscessos faciais; xerostomia; osteomielite dos maxilares entre outros, para além das infeções generalizadas anteriormente abordadas, o que o torna num problema de saúde pública. (Smith *et al.*, 2003; Klevens *et al.*, 2008; McCormack *et al.*, 2015; Koukos *et al.*, 2015; Lakhundi e Zhanga, 2018;). Os fatores de risco associados a infeção por MRSA estão descritos na literatura e incluem idade avançada do hospedeiro; hospitalização prolongada; terapia antibiótica anterior; doença severa; procedimentos cirúrgicos, etc (Al-anazi, 2009; Irfan *et al.*, 2018;).

Os aerossóis contribuem como um dos meios para a contaminação das superfícies assim como o contacto direto, levando a um aumento da concentração destas estirpes durante a consulta de medicina dentária e conseqüentemente a uma maior probabilidade de infeção cruzada (Bernardo *et al.*, 2005; Hallier *et al.*, 2010; Kobza *et al.*, 2018). As superfícies das clínicas, bem como o uniforme de atendimento e as mãos do médico dentista podem ser reservatórios de MRSA. A fim de controlar e reduzir a infeção sugere-se medidas preventivas *standard* que incluem: desinfeção de mãos antes e depois do atendimento; uso de luvas, máscara, touca, óculos e farda de trabalho (Williams *et al.*, 2003; Faden, 2018); protetores de uso único para a luz, encosto de cabeça, tabuleiro dos instrumentos, aspirador e ainda desinfeção das superfícies com álcool 77%-81% (Petti *et al.*, 2011). A literatura aponta ainda para medidas como: bochechos com CHX 0.12% ou cloreto de cetilpiridínio 0.05% antes dos procedimentos dentários (Kobza *et al.*, 2018); aspiradores cirúrgicos que recolhem um grande volume de aerossóis (Kobza *et al.*, 2018) e sistemas de limpeza do ar (Hallier *et al.*, 2010).

Este estudo teve por objetivo a análise da presença das estirpes *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e sensível à meticilina (MSSA) em diversas superfícies do equipamento de medicina dentária. Através da recolha de amostras, cultivo das mesmas, confirmação por PCR e posterior análise de resultados, será possível ter melhor perceção e maior controlo na limpeza e desinfeção das clínicas.

Com este intuito, foi elaborada uma pesquisa da literatura existente através das bases de dados online: Pubmed; B-on; Science Direct; Research Gate; Scielo; Frontiers in Microbiology; Scientific Reports; Cochrane e NCBI utilizando as palavras-chave: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA, Methicillin-sensible *Staphylococcus aureus*, MSSA, nosocomial infection, dental clinics, *mecA* gene e cross infection. Os critérios selecionados para a pesquisa foram: artigos/publicações em inglês, espanhol ou português, publicados entre 2011 e 2019. Artigos anteriores a 2011 foram também selecionados sempre que considerados pertinentes para o tema. Como critérios de inclusão foram escolhidos: estudos *in vitro* e em humanos.

## II – MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Amostragem

Durante 5 semanas foram recolhidas 354 amostras com zaragoas *Copon Liquid Amies Elution eSwab Collection and Preservation System* de várias superfícies do equipamento de medicina dentária da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa. Foram recolhidas 12 amostras por semana, em diferentes horários e áreas de atendimento por dia, em 6 superfícies do equipamento pré-definidos. Foi feita a colheita antes e depois da consulta, seguindo um protocolo previamente definido. As áreas de atendimento selecionadas foram: Clínica Integrada com 144 amostras (40,6% da amostra total); Prostodontia com 66 amostras (18,6% da amostra final); Periodontia com 54 amostras (15,3% da amostra total); Cirurgia com 54 amostras (15,3% da amostra total); Odontopediatria com 24 amostras (6,8% da amostra total) e Pacientes Especiais com 12 amostras (3,4% da amostra total) (ver figura 2 e tabela 1 em anexo). As superfícies analisadas encontram-se identificadas na figura 3.

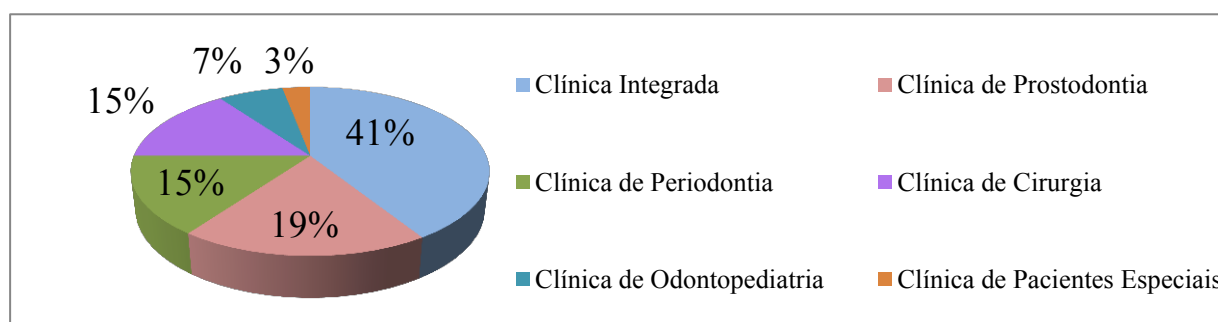


Figura 2. Distribuição da amostragem por área de atendimento.

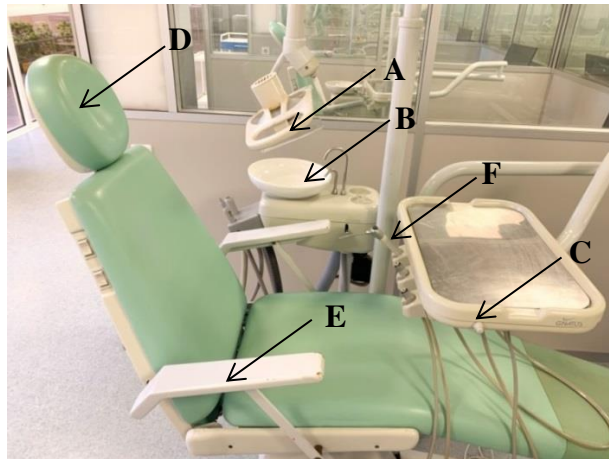


Figura 3. Imagem das 6 superfícies do equipamento de medicina dentária analisadas: A-luz; B-cuspideira; C-tabuleiro; D-encosto de cabeça; E-braço da cadeira; F-seringa de ar/água.

Após recolha, as amostras foram cultivadas em biplacas de meio seletivo cromogénico – chromID®MRSA/chromID *S. aureus* – seguindo as instruções do fabricante (Biomérieux), sendo identificadas com o código da zaragatoa correspondente, como ilustrado na figura 4.

Trata-se de um método de deteção rápido, sendo considerado positivo o crescimento de qualquer colónia verde, indicativo de MRSA ou MSSA conforme o lado da placa em que a colónia cresceu (Zurita *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2011). As placas foram incubadas a 37°C durante 48h. Após esse tempo foram analisados os resultados e feitas as contagens das colónias presentes.

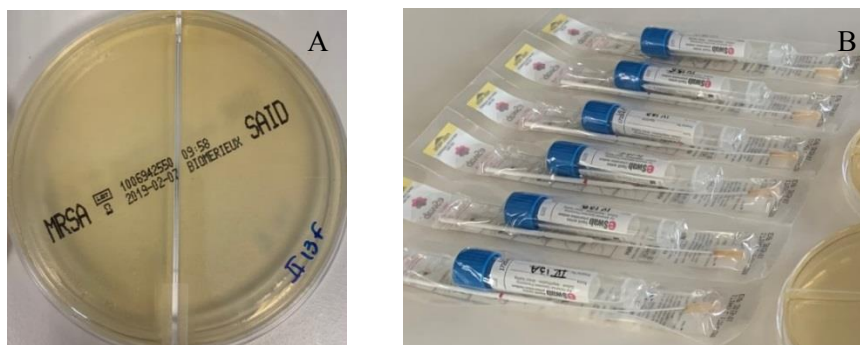


Figura 4. Meio seletivo cromogénico – chromID®MRSA/chromID *S. aureus* (A); Zaragatoas Copon Liquid Amies Elution eSwab Collection (B).

Posteriormente, a presença destas estirpes foi confirmada por PCR, por deteção do gene *mecA*, considerado o *gold standard* pela literatura (Datta *et al.*, 2011; Stegger *et al.*, 2011; Coban, 2012; Pereira *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2017). Estirpes que foram negativas para a presença do gene *mecA*, foram pesquisadas para a presença do gene *nuc*, que permite a identificação de MSSA (Chen *et al.*, 2017).

Para a identificação do gene *mecA*, o DNA (5 µL) foi amplificado numa mistura reacional que continha 10 µL de 5x tampão PCR, 3 µL de MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 2 µL de mistura de dNTP 10 mM, 5 µL de cada primer 10 µM e 0,25 µL de Taq polimerase num volume total de 50 µL (Koukos *et al.*, 2015). Os primers usados para a identificação do gene *mecA* foram 5'-GGGATCATAGCGTCATTATTC-3' e 5'-AACGATTGTGACACGATAGCC-3' (Koukos *et al.*, 2015). O PCR foi elaborado de acordo com Koukos *et al.* (2015): 10 minutos a 94°C; 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 1 minuto a 55°C e 1 minuto a 72°C; extensão final por 10 minutos a 72°C. Para a identificação do gene *nuc*, o DNA (5 µL) foi amplificado numa mistura reacional que continha 10 µL de 5x tampão PCR, 4 µL de MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 2 µL de mistura de dNTP 10 mM, 6 µL de cada primer 10 µM e 0,25 µL de Taq polimerase num volume total de 50 µL (Koukos *et al.*, 2015). Os primers usados para a identificação do gene *nuc* foram 5'-TCAGCAAATGCATCACAACAG-3' e 5'-CGTAAATGCACTTGCTTCAGG-3' (Koukos *et al.*, 2015). O PCR foi elaborado de acordo com Koukos *et al.* (2015): 10 minutos a 94°C; 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 1 minuto a 58°C e 1 minuto a 72°C; extensão final por 10 minutos a 72°C. Os produtos de PCR foram analisados por electroforese em gel de agarose a 1%.

## **2.2. Análise Estatística**

A análise estatística de resultados deste estudo foi elaborada com o programa IBM SPSS Statistics 25. Análises descritivas e inferenciais foram conduzidas para estudar a contagem (n) e percentagem (%) de amostras MRSA/MSSA positivo em relação a áreas de atendimento clínico; superfícies do equipamento, antes e depois do atendimento da consulta de medicina dentária. Para relacionar as variáveis nominais entre si, foram utilizados testes de qui-quadrado e considerado como grau de significância aplicado  $p < 0,05$ .

## **III – RESULTADOS**

### **3.1. Análise quantitativa dos resultados obtidos de MRSA/MSSA**

Das 354 amostras recolhidas (100%), 197 são amostras não contaminadas, isto é, negativas para MRSA/MSSA (55,6%) e 157 são amostras contaminadas das quais 62 são MRSA positivas correspondendo a 17,5% do total e 139 são MSSA positivas correspondendo a 39,3% do total (figura 5).

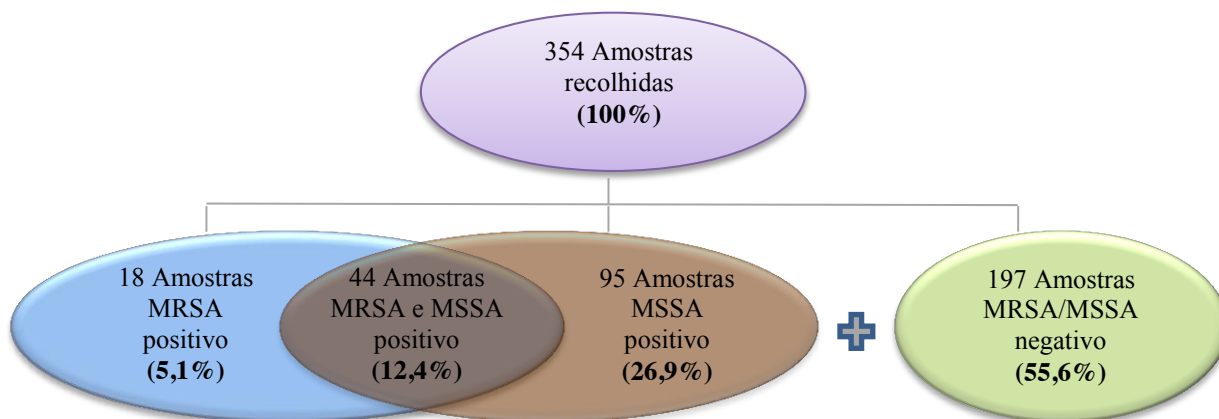


Figura 5. Resultados em percentagem da quantidade de amostras contaminadas para MRSA ou MSSA.

### 3.1.1. Análise dos resultados positivos obtidos antes e depois da consulta de medicina dentária

Com um grau de significância estatística de  $p = 0,003$ , as percentagens de amostras positivas de MRSA antes e depois do atendimento mostraram diferenças significativas ( $p < 0,01$ ). Relativamente às amostras MSSA positivas antes e depois do atendimento, também apresentam diferenças significativas ( $p < 0,01$ ), com um grau de significância estatística de  $p = 0,003$ . Das amostras contaminadas com MRSA, 5,9% (21 amostras) correspondem à recolha efetuada antes do atendimento do paciente e 11,6% (41 amostras) depois (ver tabela 2 em anexo). Das amostras contaminadas com MSSA, 14,1% (50 amostras) correspondem à recolha efetuada antes do atendimento do paciente e 25,2% (89 amostras) depois (ver tabela 3 em anexo).

### 3.1.2. Análise quantitativa de colónias presentes

Este estudo teve como objectivo principal a deteção de estirpes MRSA/MSSA em diferentes superfícies de equipamento dentário. Deste modo é importante analisar os resultados positivos numa perspectiva quantitativa da presença do número de colónias. Nessa análise, que pode ser observada na tabela 6, as amostras distribuem-se da seguinte forma:

#### MRSA positivo:

- $\leq 5$  colónias = 92%;
- Entre 5 e 15 colónias = 3%
- $\geq 15$  colónias = 5%

#### MSSA positivo:

- $\leq 5$  colónias = 88%
- Entre 5 e 15 colónias = 6%
- $\geq 15$  colónias = 6%

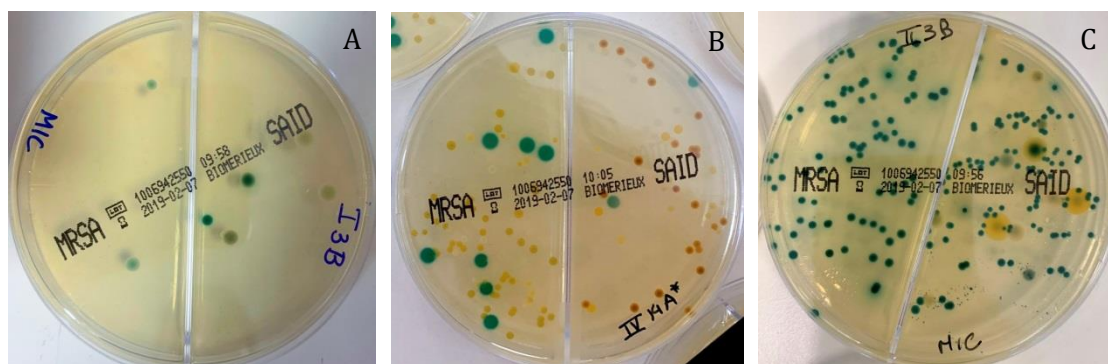


Figura 6. Placas exemplificativas dos resultados de colônias de cor verde (MRSA/MSSA) com:  $\leq 5$  colônias (A); Entre 5 e 15 colônias (B);  $\geq 15$  colônias (C).

Tabela 4. Análise da contagem e percentagem de colônias positivas MRSA/MSSA.

	MRSA		MSSA	
	n	%	n	%
$\leq 5$ colônias	57	92	123	88
Entre 5 e 15 colônias	2	3	8	6
$\geq 15$ colônias	3	5	8	6
Total	62	17,5	139	39,3

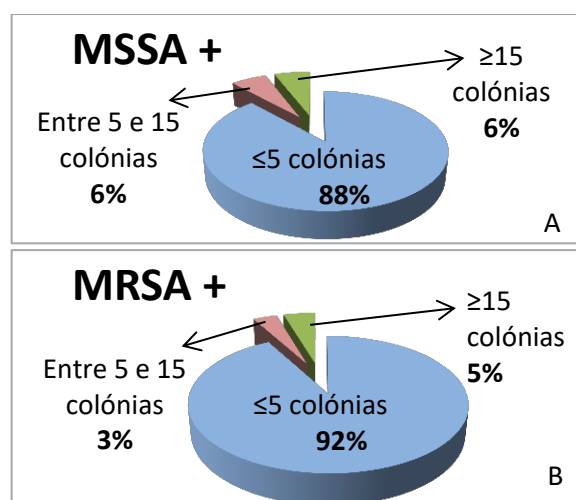


Figura 7. Percentagem de colônias MSSA positivas (A) e MRSA positivas (B).

Das amostras MRSA (17,5%) verificou-se que cerca de 92% correspondem a placas com  $\leq 5$  colônias e das amostras MSSA (39,3%) 88% são placas com  $\leq 5$  colônias, o que mostra um baixo nível de contaminação.

### 3.1.3. Identificação da estirpe MRSA por PCR

As amostras positivas para MRSA foram usadas para identificação do gene *mecA* por PCR. Os resultados demonstraram a identificação destas estirpes como MRSA pela presença do referido gene (figura 8 em anexo).

### 3.2. Análise dos resultados obtidos nas diferentes áreas de atendimento clínico

Relativamente a amostras MRSA positivas, por área de atendimento, observou-se: Clínica de Pacientes Especiais correspondeu à área de atendimento com maior percentagem de amostras

positivas (41,7%) para MRSA, sendo superior a Clínica de Periodontia (22,2%), a Clínica de Prostodontia (19,7%), a Clínica Integrada (17,4%), a Clínica de Cirurgia (9,3%) e a Clínica de Odontopediatria (8,3%) (tabela 5).

Tabela 5. Contagem e percentagem de amostras MRSA por área de atendimento.

Área de atendimento	MRSA			
	Negativo		Positivo	
	n	%	n	%
Clínica Integrada	119	82,6%	25	17,4%
Prostodontia	53	80,3%	13	19,7%
Periodontia	42	77,8%	12	22,2%
Cirurgia	49	90,7%	5	9,3%
Odontopediatria	22	91,7%	2	<b>8,3%</b>
Pacientes Especiais	7	58,3%	5	<b>41,7%</b>
Total de amostras	292	82,5%	62	17,5%

Relativamente a amostras MSSA positivas, por área de atendimento, observou-se: Clínica de Pacientes Especiais foi a área de atendimento com maior percentagem de amostras MSSA positivas (58,3%), sendo superior a Clínica de Prostodontia (45,5%); a Clínica Integrada (41,0%), a Clínica de Periodontia (40,7%); a Clínica de Cirurgia (29,6%) e a Clínica de Odontopediatria (20,8%) (tabela 6).

Tabela 6. Contagem e percentagem de amostras MSSA por área de atendimento.

Área de atendimento	MSSA			
	Negativo		Positivo	
	n	%	n	%
Clínica Integrada	85	59,0%	59	41,0%
Prostodontia	36	54,5%	30	45,5%
Periodontia	32	59,3%	22	40,7%
Cirurgia	38	70,4%	16	29,6%
Odontopediatria	19	79,2%	5	<b>20,8%</b>
Pacientes Especiais	5	41,7%	7	<b>58,3%</b>
Total de amostras	215	60,7%	139	39,3%

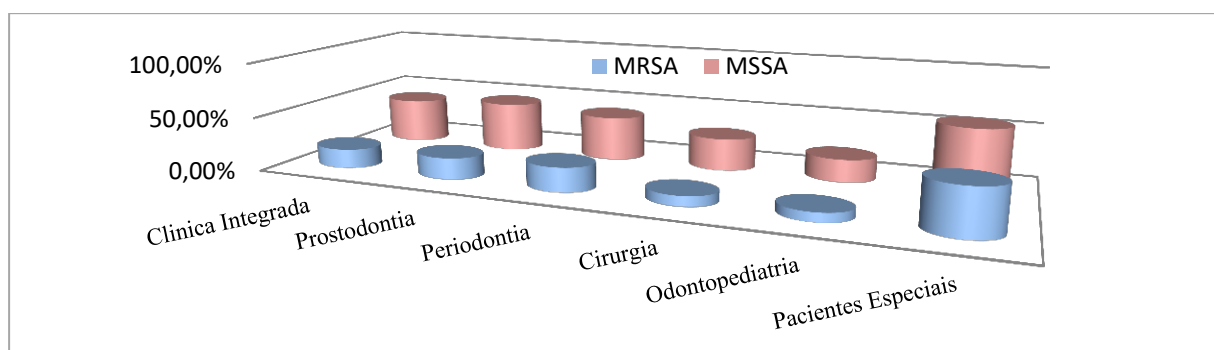


Figura 9. Percentagens de amostras positivas MRSA/MSSA por áreas de atendimento clínico (baseado nos dados das tabelas 5 e 6).

### 3.3. Análise dos resultados obtidos por superfície do equipamento de medicina dentária

As amostras de MRSA positivas recolhidas das superfícies do equipamento, distribuem-se com um grau de significância estatística de  $p = 0,017$ . A cuspideira corresponde à superfície com maior % de amostras MRSA positivas (27.1%), não sendo, no entanto, significativamente diferente do encosto de cabeça (25.4%) e do braço da cadeira (22.0%).

Observam-se diferenças estatisticamente significativas da cuspideira para a luz, para o tabuleiro e para a seringa de ar/água. Estes três últimos locais (luz, tabuleiro e seringa de ar/água), cada um com 10.2% de amostras positivas para MRSA, não apresentam diferenças significativas entre si. Não existem diferenças significativas entre o braço da cadeira e as restantes superfícies (tabela 7).

Tabela 7. Contagem e percentagem de amostras MRSA por superfície do equipamento de medicina dentária.

Superfície do equipamento	MRSA			
	Negativo		Positivo	
	n	%	n	%
Luz	53 <sub>a</sub>	89,8%	6 <sub>b</sub>	10,2%
Cuspideira	43 <sub>b</sub>	72,9%	16 <sub>a</sub>	<b>27,1%</b>
Tabuleiro	53 <sub>a</sub>	89,8%	6 <sub>b</sub>	10,2%
Encosto de cabeça	44 <sub>b</sub>	74,6%	15 <sub>a</sub>	25,4%
Braço da cadeira	46 <sub>a, b</sub>	78,0%	13 <sub>a, b</sub>	22,0%
Seringa de ar/água	53 <sub>a</sub>	89,8%	6 <sub>b</sub>	10,2%
Total de amostras	292	82,5%	62	17,5%

a, b: letras diferentes indicam diferenças significativas na contagem/% por superfície clínica. 'a' indica a % de maior valor; 'b' a % de menor valor.

Relativamente às amostras MSSA positivas, o grau de significância estatística foi de  $p = 0.001$ . A cuspideira, com 59.3%, representa a superfície do equipamento com maior percentagem de amostras com MSSA positivo, não apresentando diferenças significativas relativamente ao braço da cadeira (47.5%). No entanto, apresenta diferenças significativas em comparação com: a luz (33.9%); o tabuleiro (22.0%); o encosto de cabeça (39.0%) e a seringa de ar/água (33.9%).

Como superfície do equipamento com menor percentagem de amostras MSSA positivo temos o tabuleiro (22.0%), que difere significativamente do encosto de cabeça (39.0%), da cuspideira e do braço da cadeira, mas não difere da luz (33.9%) e da seringa de ar/água (33.9%) (tabela 8).

Tabela 8. Contagem e percentagem de amostras MSSA por superfícies do equipamento de medicina dentária.

Superfícies do equipamento	MSSA			
	Negativo		Positivo	
	n	%	n	%
Luz	39 <sub>a, b</sub>	66,1%	20 <sub>b, c</sub>	33,9%
Cuspideira	24 <sub>c</sub>	40,7%	35 <sub>a</sub>	<b>59,3%</b>
Tabuleiro	46 <sub>b</sub>	78,0%	13 <sub>c</sub>	<b>22,0%</b>
Encosto de cabeça	36 <sub>a</sub>	61,0%	23 <sub>b</sub>	39,0%
Braço da cadeira	31 <sub>a, c</sub>	52,5%	28 <sub>a, b</sub>	47,5%
Seringa de ar/água	39 <sub>a, b</sub>	66,1%	20 <sub>b, c</sub>	33,9%
Total de amostras	215	60,7%	139	39,3%

a, b e c diferentes significativamente. 'a' = o de maior valor; 'b' = o de maior valor seguinte e 'c' o de menor valor

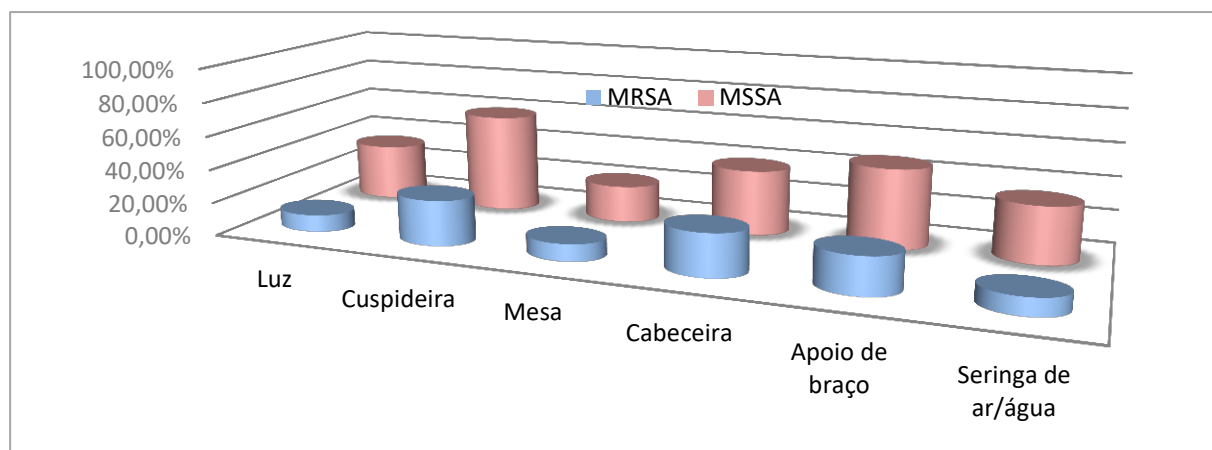


Figura 10. Percentagens de amostras positivas MRSA/MSSA por superfícies do equipamento de medicina dentária (baseado nos dados das tabelas 7 e 8).

#### IV – DISCUSSÃO

Do total de amostras recolhidas (354), a percentagem de amostras positivas para MRSA foi de 17,5% e para MSSA de 39,3%. As amostras negativas para MRSA/MSSA correspondem a 55,6%. (197 amostras). Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Faden (2018) em que foi observada uma percentagem de contaminação por MRSA de 11%. No entanto, esse estudo não analisou a presença de MSSA.

Verificou-se uma contaminação por MRSA de apenas 5,9% antes do atendimento de paciente e de 14,1% para MSSA. Recolhas realizadas após o atendimento do paciente, mostraram um aumento de contaminação por MRSA para 11,6% e por MSSA para 25,2%. Estes resultados permitiram confirmar, que de facto, existe um aumento significativo da presença de amostras contaminadas tanto por MSSA como por MRSA após o atendimento de pacientes, o que vai de encontro aos resultados de outros estudos publicados (Williams *et al.*, 2003; Petti *et al.*, 2012; Faden, 2018; Kobza *et al.*, 2018). Motta *et al.* (2007) analisaram seis superfícies de clínicas dentárias, também antes durante e após atendimento de paciente e detetaram um aumento da quantidade de MSSA durante o atendimento. No entanto, só 2% das amostras por eles recolhidas foram positivas para MRSA (Motta *et al.*, 2007).

Alguns estudos analisaram ainda a presença destas estirpes nas superfícies ao longo do tempo, verificando uma diminuição drástica: nos 15 min após exposição ao ambiente e sem limpeza estes estudos observaram um decréscimo de cerca de 90% da contaminação. No entanto, estas estirpes podiam ainda ser detetadas num período de 4 meses (Roberts *et al.*, 2011; Petti *et al.*, 2012). Do mesmo modo, o estudo de Motta *et al.* (2007) detetou uma quantidade menor de contaminação por estas estirpes após atendimento em relação a durante o atendimento.

Na análise quantitativa de colónias presentes nos meios de cultura, foram observadas maioritariamente placas com menos de 5 colónias correspondendo a 92% para MRSA e 88% de MSSA, o que demonstra um baixo nível de contaminação. Estes resultados estão de acordo com outros estudos que observam a maior parte de resultados para MRSA com menos de 10 colónias (Petti *et al.*, 2012) e menos de cinco colónias por meio de cultura (Decraene *et al.*, 2008). Estes estudos não fazem referência à estirpe MSSA.

A clínica de Pacientes Especiais correspondeu à área de atendimento com maior percentagem de amostras MRSA e MSSA positivas com 41,7% e 58,3% respectivamente e a clínica de

Odontopediatria correspondeu à área de atendimento com menor percentagem de amostras MRSA e MSSA positivas com 8,3% e 20,8% respectivamente. No entanto, a análise estatística não revelou diferenças significativas entre áreas de atendimento. Faden (2018) considerou o departamento de cirurgia oral o mais relevante em relação à pesquisa de MRSA enquanto Roberts *et al.* (2011) referiu a existência de amostras positivas MRSA numa unidade de cuidado dentário no Japão, numa unidade de emergência dentária no Brasil e numa unidade de cirurgia oral em Londres (Roberts *et al.*, 2011; Petti e Polimeni 2012; Faden, 2018). Khairalla *et al.* (2017) apontaram como áreas de atendimento com maior prevalência de MRSA os departamentos de Prostodontia (2,3%), de Periodontologia (1,9%), de Dentisteria (1,8%) e de Cirurgia Oral (0,98%), sendo o departamento de Endodontia o que apresenta menor contaminação (0,60%) (Khairalla *et al.*, 2017). No estudo de Motta *et al.* (2007) a especialidade de Odontopediatria revelou ser a área clínica com maior contaminação.

Em relação à superfície do equipamento analisada com maior contaminação, a cuspeira correspondeu ao local da clínica com maior percentagem de amostras MRSA e MSSA positivas com 27,1% e 59,3% respectivamente, no entanto não revelou diferenças significativas relativamente ao braço da cadeira (MRSA - 22,0%; MSSA - 47,5%) e ao encosto de cabeça (MRSA - 25,4%; MSSA - 39,0%). O tabuleiro, a luz e a seringa de ar/água apresentaram as menores percentagens de contaminação para as duas estirpes. A literatura varia conforme as superfícies analisadas: Faden (2018) apresenta resultados semelhantes, observando maior presença de amostras positivas nos registos médicos do paciente em papel, seguido do braço da cadeira, cuspeira e encosto de cabeça; a luz e o tabuleiro correspondem às duas das superfícies menos contaminadas (Faden, 2018). Por outro lado, Roberts *et al.* (2011) encontrou em 4 das 7 clínicas analisadas amostras de MRSA positivo na cadeira, no chão e na seringa de ar/água (Roberts *et al.*, 2011). Kurita *et al.* (2006) encontrou amostras positivas no braço da cadeira e na seringa de ar/água (Kurita *et al.*, 2006). Williams *et al.* (2003) apresentou como superfícies mais contaminadas o chão, o encosto de cabeça, a luz e ainda a farda de trabalho (Williams *et al.*, 2003). No estudo de Horiba *et al.* (1995) não foram encontradas amostras MRSA positivas, no entanto foi detetada MSSA na cadeira, em amostras retiradas do ar e no chão (Horiba *et al.*, 1995). Petti *et al.* (2015) encontrou amostras positivas no sistema de pressão de ar, na cadeira, na luz, na seringa de ar/água e em amostras do ar (Petti *et al.*, 2015). Negrini *et al.* (2009) apresenta como resultados MRSA positivos a mesa auxiliar e a sala de arrumações numa clínica de odontopediatria (Negrini *et al.*, 2009). No estudo de Khairalla *et al.* (2017), tendo em conta as superfícies analisadas, a cadeira de

dentista, os equipamentos rotatórios de trabalho e a cuspeira revelaram a maior prevalência para MSSA com 8%, 7,1% e 6,2% respectivamente. Para as amostras MRSA positivas, este estudo revelou que a cadeira de atendimento e a cuspeira foram as superfícies mais contaminadas, ambas com 8,82%. Por outro lado, a luz do equipamento (com cerca de 2,9%) representou a superfície menos contaminada (Khairalla *et al.*, 2017). Motta *et al.* (2007) revelou uma maior contaminação por MSSA nos botões da cadeira de atendimento, na luz da cadeira e na seringa de ar/água durante os procedimentos clínicos.

A principal limitação de metodologia deste estudo foi o número de recolhas que deveria ter sido semelhante nas diferentes áreas de atendimento.

## V – CONCLUSÃO

Apesar da percentagem de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina estar a diminuir em Portugal, ainda apresenta um valor alto (39,2% em 2017) sendo considerado um dos países com percentagem mais elevada da Europa.

Verificou-se que a percentagem de amostras contaminadas para MRSA foi de 17,5%, consideravelmente menor do que em relação ao MSSA em que 39,3% correspondem às amostras positivas. As amostras negativas para MRSA/MSSA correspondem a 55,6% da amostragem total.

Das 157 amostras contaminadas totais (44,4%), 18 são amostras apenas contaminadas por MRSA (5,1%), 95 são amostras apenas contaminadas por MSSA (26,9%) e 44 amostras são contaminadas simultaneamente por MRSA e MSSA (12,4%).

Dos 17,5% MRSA positivos, 5,9% correspondem a amostras recolhidas antes do atendimento clínico e 11,6% após atendimento. Dos 39,3% MSSA positivos, 14,1% correspondem às amostras recolhidas antes do atendimento clínico e 25,2% após atendimento.

É importante realçar que a análise quantitativa de colónias positivas de MSSA/MRSA revelou um baixo nível de contaminação, uma vez que se destacaram amostras com número de colónias igual ou inferior a 5.

A clínica de Pacientes Especiais revelou ser a área de atendimento com maior percentagem de contaminação tanto para MRSA (41,7%) como para MSSA (58,3%), podendo ser explicado pela maior debilidade da saúde dos pacientes e pela diversidade de tipos de tratamento efetuados nesta clínica. A clínica de Odontopediatria, por outro lado, revelou ser a área de atendimento com menor percentagem de contaminação tanto para MRSA (8,3%) como para MSSA (20,8%).

As três superfícies com maior percentagem de contaminação por MRSA/MSSA são a cuspideira, o encosto de cabeça e o braço da cadeira, que representam três superfícies com contacto direto com o paciente. Estes resultados podem indicar que os pacientes são uma possível porta de entrada para estas estirpes, contribuindo para a contaminação cruzada em clínica dentária.

A percentagem de amostras positivas MRSA/MSSA depois do atendimento de pacientes aumenta significativamente em relação à percentagem antes do atendimento. Estes resultados vêm dar suporte ao referido anteriormente.

Para além do contacto direto também a presença de aerossóis contribui para a contaminação, pelo que se recomenda a proteção individual e das superfícies bem como a sua desinfeção no final de cada consulta.

Este estudo permitiu verificar que as medidas de controlo de infeção praticadas nas clínicas são eficazes.

Como sugestão para estudos futuros:

- A análise de mais superfícies das clínicas dentárias como o rato/teclado do computador e aparelho de raio-X por exemplo bem como recolha dos aerossóis.
- A análise da proveniência das estirpes MRSA e MSSA, fazendo colheitas de amostras dos pacientes e profissionais de saúde, com recolhas do nariz e da pele dos mesmos.
- A pesquisa de MRSA nasais nos estudantes de medicina dentária, antes, durante e após um semestre de atendimento clínico a pacientes.
- A avaliação com antibiogramas/identificação de genes de resistência a antibióticos das amostras recolhidas, seria também importante para dar continuidade a este estudo, a fim de investigar a susceptibilidade antibiótica das estirpes analisadas, para auferir maior certeza na prescrição antibiótica futura.

## VI – BIBLIOGRAFIA

Aguayo-Reyes, A., *et al.* (2017). Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Revista Chilena de Infectologia*, 35(1), pp. 7-14.

Al-Anazi, A. R. (2009). Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Biomedical Research*, 20(1), pp.7-14.

Bernardo W.L., *et al.* (2005). *Staphylococcus aureus* ampicillin-resistant from the odontological clinic environment. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 47(1), pp.19-24.

Bien, J., Sokolova, O. e Bozko, P. (2011). Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. *Journal of Pathogens*, 601905.

Blomqvist, S., *et al.* (2015). Phenotype, genotype, and antibiotic susceptibility of Swedish and Thai oral isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), pp. 26250.

Chambers, H. F., e DeLeo, F. R. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nature reviews Microbiology*, 7(9), pp.629-641.

Chen, C., *et al.* (2017). Identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) using simultaneous detection of *mecA*, *nuc*, and *femB* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Current Microbiology*, 74(8), pp. 965-971.

Cikman, A., *et al.* (2019). Absence of the *mecC* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from various clinical samples: The first multi-centered study in Turkey. *Journal of Infection and Public Health*, in press.

Coban, A. Y. (2012). Rapid determination of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* clinical isolates by colorimetric methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(7), pp. 2191-2193.

Datta, P., *et al.* (2011). Evaluation of various methods for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and susceptibility patterns. *Journal of Medical Microbiology*, 60, pp. 1613-1616.

Decraene, V., *et al.* (2008). Air-borne microbial contamination of surfaces in a UK dental clinic. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 54(4), pp. 195-203.

DGS. (2018). Infecções e Resistências aos Antimicrobianos 2018 - Relatório Anual do Programa Prioritário. Disponível em < <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/infecoes-e-resistencia-aos-antimicrobianos-2018-relatorio-anual-do-programa-prioritario.aspx> > [Consultado em 05-05-2019].

ECDC. (2017). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017. European Centre For Disease Prevention And Control. Disponível em < <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2017> > [Consultado em 05-05-2019].

Faden, A. (2018). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) screening of hospital dental clinic surfaces. Saudi Journal of Biological Sciences, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.03.006>.

Fishovitz, J., *et al.* (2014). Critical review: penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 66(8), pp. 572-577.

Foster, T. J. (2017). Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects, FEMS Microbiology Reviews, 41(3), pp.430-449.

García-Garrote, F., *et al.* (2013). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying the mecC gene: emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 69(1), pp. 45-50.

Hallier, C., *et al.* (2010). A pilot study of bioaerosol reduction using an air cleaning system during dental procedures. British Dental Journal, 209(8), pp. E14.

Harkins, C. P., *et al.* (2017). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. Genome Biology, 18(1), pp. 130.

Horiba, N., *et al.* (1995). Isolation of Methicillin-Resistant Staphylococci in the Dental Operator. Journal of Endodontics, 21(1), pp. 21-25.

Irfan, S., *et al.* (2018). Methicillin resistant Staphylococcus aureus outbreak in a neonatal intensive care unit, Eastern Mediterranean Health Journal, <https://doi.org/10.26719/emhj.18.058>.

Jevons, M. P. (1961). "Celbenin"-resistant staphylococci. British Medical Journal. 1, pp. 124-125.

Kesharwani, A. K., e Mishra, J. (2018). Detection of  $\beta$ -lactamase and antibiotic susceptibility of clinical isolates of Staphylococcus aureus. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 17, pp 720-725.

- Khairalla, A. S., Wasfi, R., e Ashour, H. M. (2017). Carriage frequency, phenotypic, and genotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dental health-care personnel, patients, and environment. *Scientific Reports*, 7(1), pp. 7390.
- Klevens, R. M., Gorwitz, R. J., e Collins, A. S. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a primer for dentists. *The journal of the American Dental Association*, 139(10), pp. 1328-1337.
- Kobza, J., Pastuszka, J. S., e Brągoszewska, E. (2018). Do exposures to aerosols pose a risk to dental professionals? *Occupational Medicine*, 68, pp. 454-458.
- Koukos, G., *et al.* (2015). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity. *Archives of Oral Biology*, 60(9), pp. 1410-1415.
- Kurita, H., Kurashina, K., e Honda, T. (2006). Nosocomial transmission of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* via the surfaces of the dental operatory. *British Dental Journal*, 201(5), pp. 297-300.
- Lakhundi, S., e Zhanga, K. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4), e00020-18.
- Lee, A. S., *et al.* (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers* 4, pp. 18030.
- McCarthy, H., *et al.* (2015). Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, pp 1.
- McCormack, M. G., *et al.* (2015). *Staphylococcus aureus* and the oral cavity: an overlooked source of carriage and infection? *American Journal of Infection Control*, 43(1), pp.35-37.
- Merghni, A., *et al.* (2014). Adhesive properties and extracellular enzymatic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from oral cavity. *Microbial Pathogenesis*, 73, pp. 7-12.
- Milheiriço, C., Lencastre, H., e Tomasz, A. (2017). Full-genome sequencing identifies in the genetic background several determinants that modulate the resistance phenotype in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying the novel *mecC* Gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(3), pp. 1-9.
- Motta, R. H. L., *et al.* (2007). Isolation and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolates in a dental clinic environment. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 28(2), pp.185-190.
- Negrini, T.C., *et al.* (2009). *Staphylococcus aureus* contamination in a pediatric dental clinic. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 34(1), pp. 13-18.

- Olsen, J. E., Christensen, H., e Aarestrup, F. M. (2006). Diversity and evolution of blaZ from Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(3), pp. 450-460.
- Pantosti, A., e Venditti, M. (2009). What is MRSA? *European Respiratory Journal*, 34, pp. 1190-1196.
- Petti, S., e Polimeni, A. (2012). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection transmission in dental health care settings: Myths and facts. *American Journal of Infection Control*, 40(3), pp.287-288.
- Petti, S., e Polimeni, A. (2011). Risk of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus transmission in the dental healthcare setting: a narrative review. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 32(11), pp.1109-1115.
- Petti, S., *et al.* (2012). Long-term survival curve of methicillin-resistant Staphylococcus aureus on clinical contact surfaces in natural-like conditions. *American Journal of Infection Control*, 40(10), pp.1010-1012.
- Petti, S., *et al.* (2015). Low methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriage rate among Italian dental students. *American Journal of Infection Control*, 43(2), pp. 89-91.
- Pereira, L. A., *et al.* (2014). Real-time PCR assay for detection of blaZ genes in Staphylococcus aureus clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(4), pp. 1259-1261.
- Roberts, M. C., *et al.* (2011). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus from dental school clinic surfaces and students. *American Journal of Infection Control*, 39(8), pp. 628-632.
- Sakoulas, G., e Moellering, R. C. (2008). Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains. *Clinical Infectious Diseases*, 46(5), pp. 360-367.
- Shorr, A. F. (2007). Epidemiology of Staphylococcal Resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 45(3), pp.171-176.
- Skov, R., *et al.* (2013). Phenotypic detection of mecC-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacillin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(1), pp. 133-135.
- Smith, A. J., *et al.* (2003). Staphylococcus aureus in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *British Dental Journal*, 195(12), pp. 701-703.
- Smith, A. J., Jackson, M. S., e Bagg, J. (2001). The ecology of Staphylococcus species in the oral cavity. *Journal Medical of Microbiology*, 50(11), pp. 940-946.

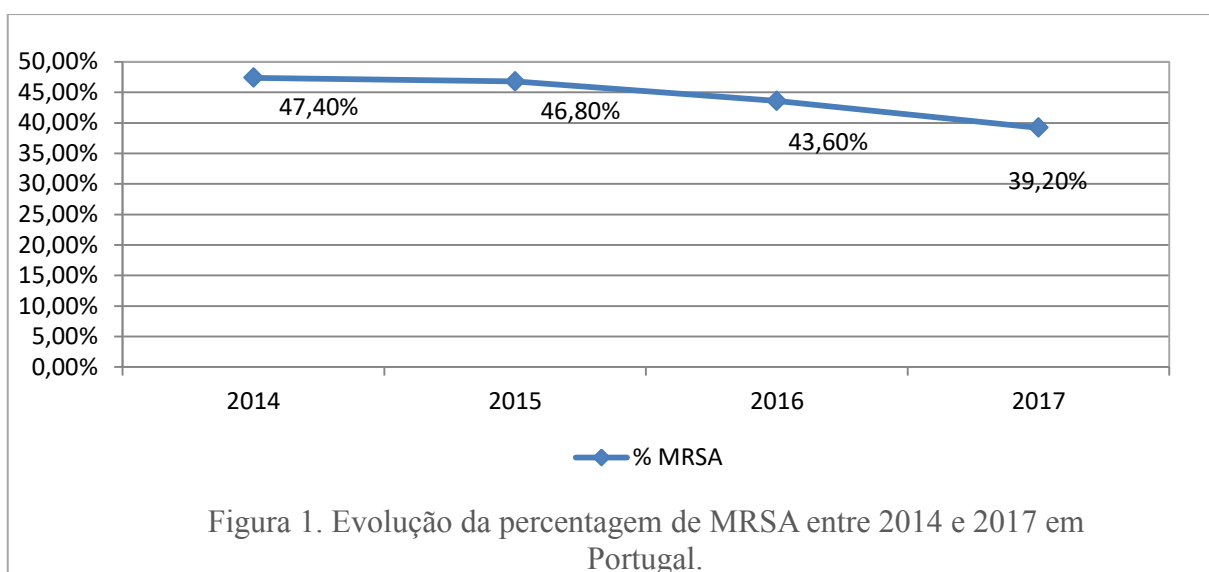
Stegger, M., *et al.* (2011). Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA* (LGA251). *Clinical Microbiology and Infection*, 18(4), pp. 395-400.

Williams, H. N., Singh, R., e Romberg, E. (2003). Surface contamination in the dental operator: A comparison over two decades. *The Journal of the American Dental Association*, 134(3), pp.325-330.

Zurita, J., Mejía, C., e Guzmán-Blanco, M. (2010). Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na América Latina. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 14(2), pp. 97-106.

Zygmunt, D. J., Stratton, C. W., e Kernodle, D. S. (1992). Characterization of four  $\beta$  -lactamases produced by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(2), pp.440-445.

## VII – ANEXOS



**Tabela 1. Distribuição da amostragem por área de atendimento.**

Áreas de atendimento	Contagem (n)	Percentagem (%)
Clínica Integrada	144	41%
Prostodontia	66	19%
Periodontia	54	15%
Cirurgia	54	15%
Odontopediatria	24	7%
Pacientes Especiais	12	3%
Total	354	100%

**Tabela 2. Contagem e percentagem de MRSA em equipamento antes e após atendimento.**

MRSA			
		n	%
Positivo	Antes do atendimento	21	5,9
	Depois do atendimento	41	11,6
Negativo	Antes do atendimento	159	44,9
	Depois do atendimento	133	37,6
Total		354	100%

**Tabela 3. Contagem e percentagem de MSSA em equipamento antes e após atendimento.**

MSSA			
		n	%
Positivo	Antes do atendimento	50	14,1
	Depois do atendimento	89	25,2
Negativo	Antes do atendimento	130	36,7
	Depois do atendimento	85	24
Total		354	100%

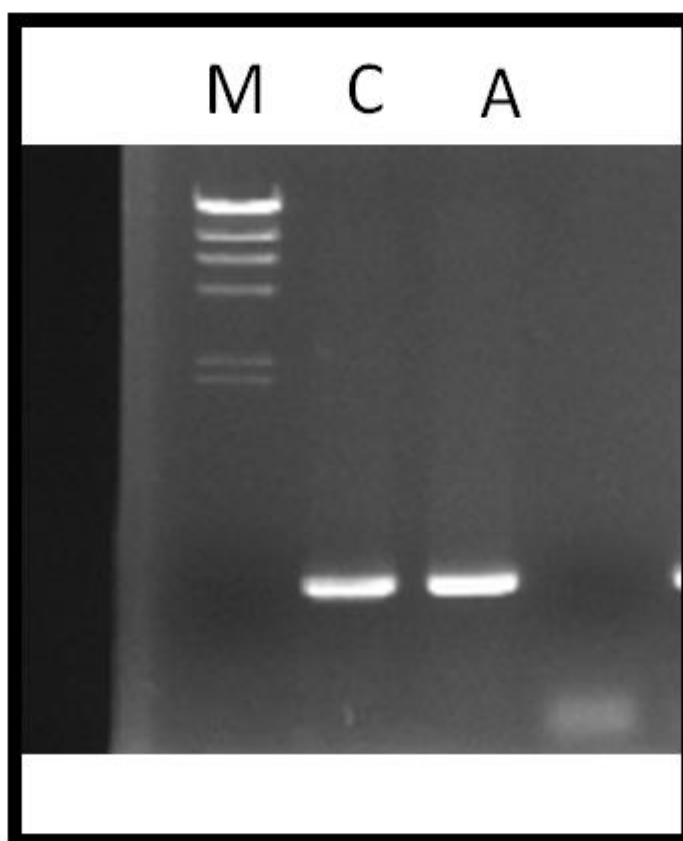


Figura 8. Visualização dos produtos de PCR ao gene *mecA*. M-marcador de peso molecular (DNA fago lambda cortado com Hind III); C-controlo (MRSA); A-amostra.



Figura 11. Superfície A-Luz da Box com o desenho da recolha da amostra.



Figura 12. Superfície B-Cuspideira com o desenho da recolha da amostra.



Figura 13. Superfície C-Tabuleiro com o desenho da recolha da amostra.



Figura 14. Superfície D-Encosto de cabeça com o desenho da recolha da amostra.



Figura 15. Superfície E-Braço da cadeira com o desenho da recolha da amostra.

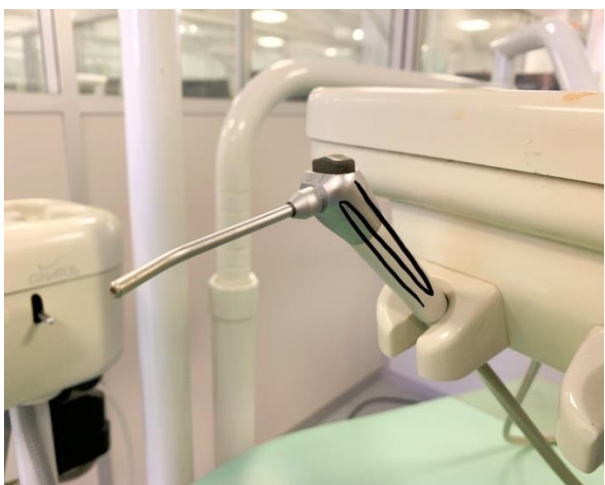


Figura 16. Superfície F-Seringa de ar/água com o desenho da recolha da amostra.