

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA INTEGRADA**

TRICIA MURIELLY PEREIRA ANDRADE DE SOUZA

**CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PLACAS DE ARMAZENAMENTO DE
FÓSFORO INTRABUCAIS**

Recife – PE

2014

TRICIA MURIELLY PEREIRA ANDRADE DE SOUZA

**CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PLACAS DE ARMAZENAMENTO DE
FÓSFORO INTRABUCAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

Recife – PE

2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S729c Souza, Tricia Murielly Pereira Andrade de.
Contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabuciais / Tricia Murielly Pereira Andrade de Souza. – Recife: O Autor, 2014.
57 f.: il.; 30 cm.

Orientadora: Maria Luiza dos Anjos Pontual.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Pós-graduação em Odontologia, 2014.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Radiologia. 2. Contaminação de equipamentos. 3. Controle de infecções. 4. Microbiologia. I. Pontual, Maria Luiza dos Anjos (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2014-210)

TRICIA MURIELLY PEREIRA ANDRADE DE SOUZA

**CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PLACAS DE ARMAZENAMENTO DE
FÓSFORO INTRABUCAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada.

Aprovada em 25/08/2014

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Luiza dos Anjos Pontual
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Andrea dos Anjos Pontual
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Gondim Valença
Universidade Federal da Paraíba

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

COORDENADORA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

COLEGIADO

MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque Tavares Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof.Dr. Arnaldo de França Caldas Junior

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof.Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Profa.Dra. Flavia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Prof.Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Prof.Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual

Prof.Dr. Paulo Sávio Angeiras Goes

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Profa.Dra. Silvia Regina Jamelli

Prof.Dra. Simone Guimaraes Farias Gomes

Prof.Dr. Tibério César Uchoa Matheus

MEMBROS COLABORADORES

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

SECRETÁRIA

Oziclere Sena de Araújo

Dedico este trabalho ao único que é digno toda honra e toda a glória: Deus, por meio de Jesus Cristo, pois sem Ele eu nada teria feito.

Todas as dificuldades que encontrei serviram para que eu percebesse a destra de justiça de Deus me sustentando, fazendo com que a minha fé fosse fortalecida em detrimento dos meus medos, e para que eu reconhecesse Sua infinita misericórdia e poder.

Maior felicidade do que receber qualquer título é saber que tenho um Deus que me ama, que me perdoa e para quem não há impossível.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais **Creuziene Pereira** e **Francisco F. de Souza**, por nunca terem medido esforços para que eu estudasse, pelo apoio que sempre recebi em minhas escolhas e pelo amor que nos une. Em especial quero agradecer a minha mãe que por meio de sua fé me consolou e me deu força nos momentos mais difíceis.

A minha orientadora **Professora Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual**, por ter aceitado me orientar, mesmo estando em um período de mudanças por causa da gestação. Foram grandes os ensinamentos que me proporcionou, tanto na realização deste trabalho, quanto por meio da sua solidariedade e amor por seus alunos. Nunca vou esquecer o que fez por mim. Minha admiração e gratidão a você serão eternas!

Ao meu coorientador **Professor Dr. Ricardo Dias de Castro**, por tudo que me ensinou desde a iniciação científica até aqui, por deixar as portas sempre abertas para mim e pelas contribuições inestimáveis a este trabalho. Você é um exemplo para mim, por conseguir ser ao mesmo tempo professor, orientador e amigo.

À **Professora Dra. Ana Maria Gondim Valença**, por estar sempre à disposição quando precisei de sua orientação e ajuda, por todos os ensinamentos e pelo modelo de pesquisadora que é.

À **Professora Dra. Flávia Maria de Moraes Ramos Perez**, por ser essa pessoa tão sensível e preocupada com o outro, além de professora dedicada. Muito obrigada por todo o apoio.

Ao **Professor Dr. Danilo Elias**, que sempre foi muito solícito, sanando minhas dúvidas sobre as metodologias e compartilhando comigo um pouco do seu vasto saber em Microbiologia.

Ao meu amado namorado **Raphael Mayer**, pela compreensão, paciência, orações e ajuda incondicional em tudo que precisei. Não tenho dúvidas de que você é o companheiro que Deus me reservou.

Às amigas do mestrado, **Fernanda Moura, Camila Carvalho, Marília Lins e Maria da Conceição**, pela amizade sincera, cheia de cuidado e carinho. Vocês são presentes de Deus para mim!

A **Irlan de Almeida Freires**, por ser um amigo sempre presente e disposto a ajudar. Nos momentos mais difíceis encontrei seu apoio, nunca vou esquecer. Sua humildade é rara, e por isso a cada dia lhe admiro mais.

À **Louise Morais Dornelas**, por todo auxílio no laboratório, estando lá comigo mesmo em fins de semana ou feriados, e com a única motivação de me ajudar.

À **Lais Vasconcelos**, pela ajuda na coleta nas clínicas e nas etapas laboratoriais.

A minha futura sogra **Marília Mayer**, por todo acolhimento que sempre encontrei em sua casa, principalmente neste período do mestrado, e pelo carinho com que sempre me trata.

A minha cunhada **Mariana Mayer**, pela ajuda com o abstract.

Aos responsáveis pelas clínicas de Radiologia Odontológica, por terem permitido a realização desta pesquisa em seus estabelecimentos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPE, pela contribuição que prestaram para a minha formação.

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPE por contribuírem para o bom andamento das atividades.

Com vocês compartilho esta conquista e toda minha gratidão!

Ao único Deus, sábio, seja dada glória por Jesus Cristo para todo o sempre. Amém!

Romanos 16:27

RESUMO

O objetivo neste estudo foi analisar contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais utilizadas em duas clínicas privadas de Radiologia Odontológica. A amostra foi composta por 50 placas de fósforo: 44 do grupo teste, sendo 14 da clínica A (sistema Digora Optime[®]), e 30 da clínica B (sistema ScanX[®]); e 6 do grupo controle, sendo 3 placas nunca utilizadas de cada sistema. Os protocolos de controle de infecção adotados pelas clínicas no uso das placas de fósforo não incluíam o uso de luvas nas etapas de processamento e embalagem das placas, mas apresentavam o uso de uma barreira plástica adicional para a realização de técnicas intrabucais. Para a coleta do material microbiano, *Swabs* umedecidos foram esfregados na superfície das placas, e transferidos para tubos contendo 2ml de solução salina (solução-mãe). Esses tubos foram agitados e seu conteúdo diluído seriadamente. As diluições foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton (MHA), as quais foram incubadas a 37°C/48 h para contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Adicionou-se 1,5 ml da solução-mãe a 1,5 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusion), e incubou-se a 37°C/48 h. Então, as soluções foram semeadas em MHA, Ágar Mitis Salivarius (MSA), Ágar Sabouraud Dextrose (SDA), e Ágar Sal Manitol (SMA). Incubou-se a 37°C/48 h, e observou-se o crescimento microbiano. Na clínica A, 50% das placas de fósforo apresentaram contaminação, e na clínica B 73,3%. Houve crescimento em SMA para 100% das placas contaminadas da clínica A, e 86,3% da clínica B, indicando presença de *Staphylococcus* sp. Em MSA, houve crescimento para uma das placas de fósforo da clínica A, sugestivo de *Streptococcus* sp. Não houve crescimento em SDA, demonstrando ausência de fungos. Verificou-se crescimento de UFC para 28,5% das placas contaminadas da clínica A (26.4 UFC/placa), e 27,2% da clínica B (de 26.4 a 80.0 UFC/placa). Não foi observada contaminação nas placas dos sistemas Scan X e Digora Optime, usadas como controle. Conclui-se que há risco de contaminação cruzada por placas de armazenamento de fósforo, pois a maioria das placas analisadas apresentou-se contaminada, principalmente por bactérias do gênero *Staphylococcus*. Quantitativamente, essa contaminação ocorreu em baixos níveis, sendo oriunda da manipulação das placas, já que o uso de uma segunda barreira plástica diminui o risco de contaminação das placas por microrganismos da cavidade bucal.

Palavras-chave: Radiologia. Contaminação de equipamentos. Controle de infecções. Microbiologia.

ABSTRACT

The aim in this study was to analyze microbial contamination in intraoral phosphor storage plates used in two private Dental Radiology clinics. The sample comprised 50 phosphor plates: 44 of the test group, 14 being from clinic A (Digora Optime[®] system), and 30 from clinic B (ScanX[®] system); and 6 in the control group, with 3 plates never used of the each system. The infection control protocols adopted by the clinics in the use of phosphor plates did not include the use of gloves in steps of processing and packaging of the plates, but had the use of an additional plastic barrier to the realization of intraoral techniques. For the collection of microbial materials, wet swabs were rubbed on the surface of the plates and transferred to tubes containing 2ml of saline (stock solution). These tubes were agitated and its content were serially diluted. Dilutions were inoculated in Petri dishes containing Mueller Hinton Agar (MHA), which were incubated at 37°C/48h to count the Colony Forming Units (CFU). Was added 1.5 ml of the stock solution to 1.5 ml of BHI (Brain Heart Infusion) and incubated at 37°C/48 h. Then, the solutions were plated on MHA, Mitis Salivarius Agar (MSA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), and Mannitol Salt Agar (SMA). Incubated at 37°C/48 h and was observed microbial growth. In the clinic A, 50% of phosphor plates showed contamination and in clinic B 73.3%. There was growth in SMA for 100% of the contaminated plates in clinic A, and 86.3% of clinic B, indicating the presence of *Staphylococcus* sp. In MSA, the was growth in one of the plates in clinic A, suggestive of *Streptococcus* sp. There was no growth on SDA, demonstrating the absence of fungi. There was an increase of CFU to 28.5% of the contaminated plates in the clinic A (26.4 CFU / plate) and 27.2% of clinic B (26.4 to 80.0 CFU / plate). There was no sign of contamination on the plates of Scan X and Digora Optime systems, used as control. We conclude that there is a risk of cross-contamination by storage phosphor plates, as most analyzed plates presented contaminated mainly by bacteria of the gender *Staphylococcus*. Quantitatively, this contamination occurred at low levels, being derived from the manipulation of the plates, as the use of a second plastic barrier reduces the risk of contamination of the plates by microorganisms in the oral cavity.

Keywords: Radiology. Equipment contamination. Control infections. Microbiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Controle de infecção na obtenção de radiografias digitais intrabucais	16
3 OBJETIVOS	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Delineamento geral do estudo	22
4.2 Questões éticas	22
4.3 Locais de realização da pesquisa	22
4.4 Protocolos de controle de infecção adotados pelas clínicas	22
4.5 Amostra	24
4.6 Grupo teste	24
4.7 Grupo controle	25
4.8 Coleta do material microbiano	25
4.9 Análise de UFC por placa de fósforo	25
4.10 Seleção de microrganismos	26
4.11 Controle negativo	27
4.12 Análise dos dados	28
5 Contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais	29
5.1 Introdução	29
5.2 Materiais e Métodos	31
5.3 Resultados	34
5.4 Discussão	36
5.5 Referências	39
5.6 Figuras	41
6 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43
APÊNDICES	46
ANEXOS	52

1 INTRODUÇÃO

Contaminação cruzada é definida como a passagem de microrganismos de uma pessoa ou objeto para outra pessoa. Na Odontologia, tanto pacientes, quanto profissionais, são expostos a muitos agentes infecciosos, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Treponema pallidum* e os vírus HIV, Hepatite B e C, Herpes simples 1 e 2, citomegalovírus e vírus de Epstein-Barr (BARTOLONI; CHARITON; FLINT, 2003).

Os procedimentos na realização de técnicas radiográficas não são invasivos como os de Cirurgia Oral, Periodontia e Implantodontia. No entanto, a contaminação cruzada pode ocorrer, uma vez que há o contato com a saliva, e algumas vezes com o sangue do paciente, durante a realização de exames radiográficos (PALENIK, 2004).

Na radiografia intrabucal digital os sistemas digitais são classificados em sistemas de aquisição direta, representados pelos sensores de estado sólido; e sistemas de aquisição semidireta, que compreendem as placas de armazenamento de fósforo. Na aquisição direta a imagem pode ser visualizada no monitor do computador logo após a exposição do sensor aos Raios X. Já na aquisição semidireta, é necessário que os receptores sejam escaneados para visualização da imagem (HAITER NETO; MELO, 2009; VAN DER STELT, 2005).

Muitos benefícios são apresentados pela radiografia intrabucal digital. Dentre eles a redução da dose de radiação ionizante, e a possibilidade de aquisição rápida da imagem radiográfica. Essa rapidez na aquisição da imagem deve-se principalmente à eliminação do processamento químico-úmido, o que resulta no atendimento de um maior número de pacientes (VAN DER STELT, 2000; GEIST; KATZ, 2002).

Contudo, esse método de obtenção da imagem criou novos desafios de controle de infecção. Pois, em contraste com os filmes radiográficos, os receptores digitais (ambos os sensores de estado sólido e placas de armazenamento de fósforo) são reutilizados muitas vezes, e apesar disso, não podem ser esterilizados pelos métodos comumente disponíveis em consultórios odontológicos e clínicas de Radiologia Odontológica (WENZEL; FRANDSEN; HINTZE, 1999; PARKS;

WILLIAMSON, 2002; KALATHINGAL et al., 2010b; MACDONALD; WATERFIELD, 2011).

Para as placas de armazenamento de fósforo tem sido sugerido o uso de lenços umedecidos com soluções desinfetantes. No entanto, eles causam danos às placas, com conseqüente formação de artefatos na imagem radiográfica, o que inviabiliza o seu uso (WENZEL et al., 2013). Assim, a forma indicada e viável para a prevenção da transferência de microrganismos nas placas de fósforo é o uso de envelopes de barreira (invólucro de plástico selável) fornecidos pelos próprios fabricantes das placas (MACDONALD; WATERFIELD, 2011).

Entretanto, esses invólucros podem não impedir a contaminação das placas de fósforo por microrganismos provenientes da cavidade oral do paciente ou da manipulação (WENZEL; FRANSEN; HINTZE, 1999; NEGRON et al., 2005; KALATHINGAL et al., 2009; KALATHINGAL et al., 2010b; MACDONALD; WATERFIELD, 2011). Essa contaminação pode acontecer caso haja perfurações da barreira de plástico, ou contato entre a barreira e a saliva durante a remoção para o processamento, ou ainda se houver contato com luvas contaminadas. Assim, a contaminação cruzada é um problema substancial na radiografia digital (MACDONALD; WATERFIELD, 2011).

Diante do exposto, no presente estudo objetivou-se analisar se existe contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Tradicionalmente, imagens radiográficas intrabucais são obtidas de modo convencional, utilizando filmes radiográficos e o processamento químico-úmido. Contudo, apesar da resistência inicial devido ao alto custo de aquisição dos equipamentos, a radiografia digital tende a substituir a radiografia convencional tanto nas clínicas especializadas em Radiologia Odontológica, quanto nos consultórios odontológicos. Essa mudança torna-se inevitável com base nas vantagens proporcionadas por esses sistemas (HAITER NETO; MELO, 2009).

Os sistemas digitais se dividem em sistemas que fazem uso de um receptor de imagens sólido (sensor), também chamados de sistemas de aquisição direta, e os sistemas que utilizam placas de armazenamento de fósforo como receptores de imagem, conhecidos como sistemas semidiretos (VAN DER STELT, 2005).

Em lugar do filme radiográfico, o método de aquisição direta da imagem digital utiliza sensores de estado sólido, tais como: CCD (*Charge Coupled Device*) - Dispositivo de Carga Acoplada; e CMOS-APS (*Complementary Metal Oxide Semiconductor - Active Pixel*) - Semicondutores de Óxido de Metal Complementar - Pixel Ativado (HAITER NETO; MELO, 2009; KALATHINGAL et al., 2009; PARKS; WILLIAMSON, 2002; VAN DER STELT, 2005).

A principal característica dos sistemas de sensores sólidos é o aparecimento da imagem no monitor segundos após a exposição dos sensores aos raios X, o que representa uma vantagem em relação aos demais sistemas digitais e ao filme radiográfico convencional (SANDERINK; MILES, 2000; VAN DER STELT, 2000). Porém, os sensores sólidos são rígidos e mais espessos que o filme radiográfico, o que pode acarretar em desconforto para o paciente. Além disso, sua face ativa é geralmente menor do que o filme radiográfico convencional, e frequentemente esses sensores são conectados ao computador por um cabo, o que também dificulta a colocação do sensor na boca do paciente (TSUCHIDA et al., 2005).

No entanto, já existem no mercado sistemas de sensores sólidos sem fio, que transmitem os dados da imagem para o computador por ondas de radiofrequência. Todavia, alguns desses sensores têm uma espessura maior do que os sistemas com cabos, por possuírem uma bateria acoplada, o que conseqüentemente aumenta o incômodo do paciente (HAITER NETO; MELO, 2009; VAN DER STELT, 2005).

Na aquisição semidireta da imagem digital, o filme convencional é substituído por placas de armazenamento de fósforo, que são também chamadas de placas de fósforo fotoestimuladas (PSP - *Photostimulable phosphor plates* - *Phosphor storage plates*). Essas, ao serem expostas aos raios X, absorvem e armazenam a energia destes, formando uma imagem latente altamente sensível à luz, sendo necessário o escaneamento da placa para a visualização da imagem no monitor do computador. Após a leitura, geralmente o próprio *scanner* apaga/dessensibiliza as placas de fósforo eliminando resíduos de imagem, para que elas possam ser reutilizadas (HAITER NETO; MELO, 2009; KALATHINGAL et al., 2009).

As placas de armazenamento de fósforo apresentam vantagem sobre os sensores de estado sólido, pois tem tamanho, forma e flexibilidade similares ao dos filmes radiográficos intrabucais (KALATHINGAL et al, 2010a). Além disso, têm menor custo que aqueles, pois podem ser utilizados numa clínica Odontológica ou serviço de Radiologia Odontológica e em diversos consultórios, tendo apenas um scanner/conversor analógico-digital em comum (MARTINS; HAITER NETO; WHAITES, 2003).

Salienta-se ainda que, os sistemas de placas de armazenamento de fósforo oferecem escala dinâmica mais ampla. Tal característica possibilita utilizar uma maior variedade de tempos de exposição para produzir imagens radiográficas de qualidade. Isso minimiza o risco de erros causados por sub ou superexposições, diminuindo o número de repetições. Dessa forma, se utilizadas corretamente, as placas de fósforo podem reduzir substancialmente a dose de radiação a qual o paciente é exposto (BERKHOUT et al., 2004).

Contudo, uma desvantagem dos sistemas que utilizam placas de fósforo é a facilidade com que estas podem ser danificadas. As placas são facilmente arranhadas, o que leva à visualização de artefatos na imagem radiográfica (BEDARD; DAVIS; ANGELOPOULOS, 2004; ROBERTS; MOL, 2004). Assim, é preciso manipular as placas com cuidado quando estas são inseridas e removidas dos seus invólucros plásticos de proteção, bem como quando são colocadas nos posicionadores radiográficos e nos *scanners* (KALATHINGAL et al, 2010a).

2.1 Controle de infecção na obtenção de radiografias digitais intrabucais

Na obtenção de radiografias, o potencial de contaminação dos equipamentos e superfícies do ambiente com sangue ou saliva é alto, caso uma técnica asséptica não seja praticada. Sensores de radiografia digital e outros instrumentos de alta tecnologia (por exemplo, câmera intraoral e lasers) entram em contato com membranas mucosas e são considerados dispositivos semicríticos. Dessa forma, devem ser limpos e, idealmente, esterilizados por calor ou desinfetados em alto nível entre os pacientes (CDC, 2003).

No entanto, os sensores de radiografia digital, apesar de serem reutilizáveis, não podem ser esterilizados. Logo, devem ser envolvidos por barreiras durante a realização de radiografias, de forma a não entrarem em contato com a saliva, evitando a contaminação cruzada (PARKS; WILLIAMSON, 2002). Porém, essas barreiras, geralmente fornecidas pelos fabricantes dos sensores, nem sempre protegem estes da contaminação (CDC, 2003). Dessa forma, o controle de infecção continua a ser um desafio para os profissionais que utilizam sensores digitais (PARKS; WILLIAMSON, 2002).

Wenzel, Frandsen e Hintze (1999) avaliaram a eficácia de um procedimento simples de controle de infecção cruzada para placas de armazenamento de fósforo do sistema Digora (Soredex/Orion Corp., Helsinki, Finlândia), e receptores CCD sistema *Radio Visio Graphy*[®] (RVG, Trophy Radiologie, Vincennes, França). As placas de fósforo foram inseridas em envelopes de barreira, e os sensores CCD foram revestidos com um tubo de borracha. Após a realização da técnica radiográfica em pacientes, ambos os invólucros foram desinfetados, e só então abertos. Os invólucros plásticos das placas de fósforo foram abertos com tesouras, e as placas foram removidas com auxílio de pinças. Amostras da superfície das placas, dos invólucros plásticos, dos sensores e do tubo de borracha, antes e após a exposição radiográfica, foram colhidas com *swabs* estéreis, os quais foram imediatamente transferidos para 2 ml de um meio de cultura líquido, semeados em ágar não seletivo, e incubados por 5 dias, para contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). O número de UFC encontrado nos sensores foi baixo, sendo que a maioria das bactérias eram cocos e bacilos Gram-positivos e catalase-positivos, presumivelmente bactérias da pele. Concluiu-se que este protocolo de controle de

infecção simples e fácil, efetivamente reduziu a contaminação dos sensores digitais avaliados.

Hokett et al. (2000) analisaram a incidência de perfurações em barreiras plásticas usadas em sensores de radiografia digital direta. Para tanto, quatrocentas barreiras plásticas foram divididas aleatoriamente em quatro grupos. Nesses grupos, testou-se o uso da barreira plástica com e sem a proteção de uma bainha de látex adicional, utilizando ou não o posicionador radiográfico. Realizou-se então a técnica radiográfica em voluntários, e as barreiras foram avaliadas quanto a vazamentos por meio de uma técnica de pressão da água. Quando apenas a barreira plástica foi utilizada, 47,5% delas tiveram perfurações. Já com o uso da bainha de látex sobre a barreira, somente 6% destas apresentaram-se perfuradas, sendo essa redução estatisticamente significativa. No entanto, o uso do posicionador não teve influência sobre a integridade das barreiras. Dessa forma, no estudo é chamada a atenção dos fabricantes de sensores digitais intrabucais para o desenvolvimento de barreiras mais eficientes em evitar contaminação cruzada.

Negron et al. (2005) testaram dois protocolos de controle de infecção para placas de fósforo do sistema DenOptix® (Dentsply/Gendex, Des Plaines, IL, EUA). As placas foram esterilizadas com óxido de etileno (gás), colocadas em invólucros plásticos de barreira, e levadas à boca simulando uma técnica radiográfica. Então, no grupo 1, os invólucros plásticos foram limpos com uma toalha de papel seca; e no grupo 2, foram limpos com uma toalha de papel seca e, posteriormente, desinfetados com orto-fenilfenol, para só então serem abertos. As placas foram então dispensadas em Caldo Trypticase Soja, o qual teve sua turbidez analisada. Nos tempos 0 e 24 h, essa solução foi semeada em Ágar Mitis Salivarius (*Mitis Salivarius Agar* - MSA) (meio seletivo para estreptococos orais) para contagem de UFC. No tempo 0 não foi detectada turbidez para nenhuma das placas, já após 48 h observou-se turbidez para 72% das placas do grupo 1 e 100% do grupo 2, não havendo diferença significativa entre os grupos. Em MSA, no tempo 0 h, houve crescimento de UFC para 22,2% das placas do grupo 1 e 5,5% do grupo 2. Porém, o número de UFC foi baixo. Após 24 h, houve crescimento para 61,1% das placas do grupo 1 e 100% do grupo 2, resultando na diferença estatística entre os grupos. Assim, os autores concluíram que, apesar de os protocolos de controle de infecção testados não terem impedido a contaminação das placas, a limpeza dos invólucros

plásticos apenas com toalha de papel seca foi mais efetiva do que com o desinfetante.

Kalathingal et al. (2009) avaliaram contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo do sistema Digora[®] usadas em uma clínica-escola de Radiologia Odontológica. Nessa clínica, as placas de fósforo eram desinfetadas com etanol a 95% e postas em invólucros plásticos de barreira. Seguindo o protocolo de controle de infecção adotado, os alunos calçavam luvas, realizavam a técnica radiográfica, secavam os invólucros com toalhas de papel e os colocavam em um copo de papel, retiravam as luvas e calçavam outras, abriam o invólucro, e por fim escaneavam as placas. Para verificar a efetividade desse protocolo, os autores avaliaram 45 placas de armazenamento de fósforo, as quais foram pressionadas (ambos os lados) sobre ágar sangue. Após um período de incubação de 72 horas, observou-se crescimento microbiano relativo a 57,8% das placas de armazenamento de fósforo, sendo que o crescimento das colônias se concentrou nas áreas correspondentes à periferia das placas. Treze colônias foram submetidas à coloração de Gram e avaliadas microscopicamente. Dessas, 6 apresentaram bacilos gram-positivos e 7 apresentaram cocos gram-negativos. Assim, ao verificar que o protocolo seguido não era suficiente para evitar que as placas de fósforo fossem contaminadas, estabeleceu-se um protocolo de esterilização semanal das placas de fósforo com óxido de etileno. No entanto, os autores salientaram que esse não é um método acessível para a maioria das clínicas odontológicas.

Em um estudo subsequente, Kalathingal et al. (2010b) investigaram se essa esterilização semanal, combinada com um rígido protocolo de controle de infecção (o mesmo do estudo anterior), prevenia a contaminação das placas de armazenamento de fósforo. Para tanto, as placas foram analisadas em duas semanas de atividades clínicas consecutivas. Na primeira semana, 20 placas foram avaliadas, 10 ao final do primeiro dia de atendimento clínico após a esterilização das placas, e 10 ao final do segundo dia. Na semana seguinte, foram avaliadas 30 placas, 10 no primeiro, 10 no segundo e 10 no terceiro dia de atendimento após a esterilização. As placas foram pressionadas (ambos os lados) sobre ágar sangue. Após 72 horas, verificou-se que 28 placas (56%) exibiram crescimento de colônias bacterianas, mas não houve diferença significativa em relação à quantidade de placas teste contaminada entre os dias de atividade clínica ou entre as duas semanas de avaliação. Além disso, 17 colônias microbianas com aparências

distintas foram selecionadas e semeadas em Ágar Mitis Salivarius, e 13 mostraram crescimento nesse meio, sendo que 6 colônias eram de cocos gram-positivos, o que é compatível com estreptococos orais. Concluiu-se que a esterilização semanal não reduziu a contaminação, e sugeriu reforçar as técnicas de controle de infecção, bem como esterilizar as placas diariamente com óxido de etileno.

MacDonald e Waterfield (2011) avaliaram a efetividade de invólucros plásticos de barreira em impedir a contaminação de placas de armazenamento de fósforo sistema ScanX[®] (Air Techniques, Corona, CA, EUA). Para tanto, os autores testaram 52 placas que haviam sido retirados de uso, as quais foram desinfetadas com etanol 70%, em seguida colocadas nos invólucros, alocadas em posicionadores radiográficos e levadas à boca de indivíduos voluntários por 1 minuto. As placas foram então retiradas dos invólucros cuidadosamente, e depositadas em caldo tripticase soja durante 1 minuto. A seguir, 0,5 ml desse caldo foi semeado em placas de Petri contendo ágar tripticase soja, as quais foram incubadas a 35°C por 48 horas. Das 52 placas de armazenamento de fósforo, 9 apresentaram contaminação. Dessas, 3 apresentaram invólucros com falhas em sua integridade e 3, perceptivelmente, não foram removidas dos invólucros de maneira asséptica. Assim, os autores concluíram que essas são possíveis vias de contaminação das placas de fósforo, e recomendam que os invólucros de barreira sejam inspecionados visualmente antes de sua liberação para uso. Bem como que a remoção da placa do invólucro e sua colocação em outro aconteça em condições assépticas.

Em um estudo mais recente, Wenzel et al. (2013) analisaram a eficiência antimicrobiana e o impacto sobre a durabilidade de placas de fósforo, de dois tipos de lenços umedecidos com agentes desinfetantes. Para tanto, placas de armazenamento de fósforo dos sistemas Digora[®] e VistaScan[®] (Dürr Dental AG, Bietigheim-Bissingen, Germany) foram contaminadas com suspensões de *Streptococcus oralis* e *Candida albicans* nas concentrações de 10⁵ e 10⁹ microrganismos/ml. Em seguida, foram desinfetadas com lenços Idu-Scrub[®] (etanol 82%, clorexidina 0.5% e glicerol 2%) ou lenços para limpeza de placas VisaScan[®] (4 g de 2-propanol/lenço), e então pressionadas sobre ágar. Além disso, placas de cada sistema foram limpas sequencialmente (5-60 vezes) com ambos os tipos de lenços, então foram submetidas à técnica radiográfica e tiveram as imagens analisadas. Os lenços com etanol foram capazes de eliminar das placas os dois microrganismos em concentrações altas e baixas, enquanto o 2-propanol não

conseguiu eliminar todos os microrganismos em altas concentrações. No entanto, o etanol degradou as placas em uma extensão maior do que os 2-propanol, sendo as placas VistaScan[®] mais afetadas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar se existe contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar se há crescimento de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) relativo às placas de fósforo analisadas;
- Examinar se os microrganismos encontrados podem ser provenientes da cavidade bucal e/ou da manipulação das placas.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento geral do estudo

Neste estudo, de natureza quantitativa, utilizou-se uma abordagem indutiva com procedimento estatístico e técnica de documentação direta intensiva (LAKATOS; MARCONI, 2010).

4.2 Questões éticas

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, com CAAE de número 30768414.0.0000.5208 (Anexo A).

4.3 Locais de realização da pesquisa

A pesquisa foi realizada em duas clínicas privadas de Radiologia Odontológica da cidade de João Pessoa - PB, mediante cartas de anuência assinadas pelos responsáveis pelos estabelecimentos (Apêndices A e B).

As análises microbiológicas foram feitas no Laboratório de Microbiologia Oral do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal da Paraíba (Apêndice C).

4.4 Protocolos de controle de infecção adotados pelas clínicas

Os protocolos de controle de infecção empregados no uso das placas de armazenamento de fósforo foram relatados pelos responsáveis pelas clínicas mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice D), e registrados em um formulário de pesquisa (Apêndice E).

Na clínica A, que utiliza o sistema ScanX[®] (Figura 1), o técnico em Radiologia realiza o seguinte protocolo: 1) Calça as luvas; 2) Põe a placa – já protegida primeiramente pelo invólucro plástico de barreira fornecido pelo fabricante e, adicionalmente, por um saco plástico – no posicionador radiográfico esterilizado; 3) Realiza a técnica radiográfica; 4) Remove a placa do posicionador e retira o saco plástico, de modo a não tocar no invólucro; 5) Remove as luvas; 6) Leva a placa

para a sala de processamento; 7) Faz a antissepsia das mãos com etanol 70%; 8) Cadastra os dados do paciente no computador; 9) Retira a placa do invólucro de plástico e a insere no *scanner*; 10) Recoloca a placa no mesmo invólucro, e põe esse conjunto em um novo saco plástico (Figura 3).

Na clínica B, que faz uso do sistema Digora Optime® (Figura 2), o técnico realiza o protocolo a seguir: 1) Lava as mãos; 2) Calça as luvas; 3) Põe a placa – já protegida pelo envoltório de papel e pelo invólucro plástico de barreira, fornecidos pelo fabricante e, adicionalmente, por um saco plástico – no posicionador radiográfico esterilizado; 4) Realiza a técnica radiográfica; 5) Remove a placa do posicionador e retira o saco plástico, de modo a não tocar no invólucro; 6) Remove as luvas; 7) Leva a placa para a sala de processamento e a entrega para outro técnico; 8) Este cadastra os dados do paciente no computador; 9) Retira a placa do invólucro de plástico e, tocando no cartão de papel, insere a placa no *scanner*; 10) Recoloca a placa no mesmo cartão de papel, no mesmo invólucro de barreira, e por fim, põe esse conjunto em um novo saco plástico (Figura 3)..

Em caso suspeita de contaminação microbiana das placas de fósforo durante a realização do exame radiográfico ou ao removê-las dos invólucros plásticos, na clínica A as placas são desinfetadas com etanol a 70%, e na clínica B não há nenhum procedimento previsto para essa situação.



Figura 1 Placa de armazenamento de fósforo tamanho 2 do sistema ScanX® (AirTechniques), e invólucro plástico fornecido pelo fabricante das placas.



Figura 2 Placa de armazenamento de fósforo tamanho 2 do sistema Digora Optime® (Soredex), envoltório de papel e invólucro plástico fornecidos pelo fabricante das placas.



Figura 3 Placas de armazenamento de fósforo envoltas pelos invólucros e pela barreira plástica adicional adotada pelas clínicas de Radiologia Odontológica.

4.5 Amostra

A amostra foi composta por 50 placas de armazenamento de fósforo: 44 do grupo teste, e 6 do grupo controle.

4.6 Grupo teste

No grupo teste foram analisadas todas as placas de armazenamento de fósforo tamanho 2 que estavam em uso em ambas as clínicas, correspondendo a 44 placas, sendo 14 da clínica A e 30 da clínica B. Na clínica A é usado o sistema de placas de armazenamento de fósforo ScanX® (Air Techniques, Corona, CA, EUA) (Figura 1), enquanto a clínica B utiliza o sistema Digora Optime® (Soredex/Orion Corp., Helsinki, Finlândia) (Figura 2).

4.7 Grupo controle

Como controle, foram analisadas 6 placas de armazenamento de fósforo nunca utilizadas, sendo 3 placas de cada sistema testado. Essas placas se encontravam em embalagens lacradas pelos próprios fabricantes.

4.8 Coleta do material microbiano

A coleta do material microbiano foi realizada nas clínicas de Radiologia Odontológica, exclusivamente nas placas de armazenamento de fósforo, por único pesquisador, com o auxílio de luvas estéreis. A coleta foi feita durante o intervalo entre os turnos da manhã e da tarde. Nesse período as placas de fósforo não eram utilizadas, mas encontravam-se prontas para uso, estando protegidas por seus invólucros plásticos de barreira e, adicionalmente por um saco plástico, em ambas as clínicas.

Para tanto, um *swab* estéril foi umedecido em água destilada esterilizada, e esfregado na superfície inativa e na periferia da placa de fósforo. Em seguida, o *swab* foi transferido para um tubo de ensaio contendo 2 ml de solução salina (NaCl a 0,9%) esterilizada. Esses tubos foram então imediatamente levados ao Laboratório de Microbiologia Oral e processados em um tempo não superior a 20 minutos.

4.9 Análise de UFC por placa de fósforo

Os tubos de ensaio contendo os *swabs* foram levados a aparelho agitador de soluções AP 59 (Phoenix[®], Araraquara, SP, Brasil) por 1 minuto. Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas dessa solução-mãe em solução salina esterilizada, de 10^{-1} a 10^{-5} . Com essa finalidade, para cada amostra preparou-se 5 tubos de ensaio contendo 900 μ l de solução salina esterilizada. Então, 100 μ l da solução obtida após a agitação, foram diluídos no primeiro tubo (10^{-1}), dessa diluição 100 μ l foram diluídos no segundo tubo (10^{-2}), sendo então a diluição realizada de forma sucessiva até atingir uma diluição de 10^{-5} .

Alíquotas da solução-mãe e das cinco diluições foram inoculadas em triplicata em placas contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) pela técnica da gota (MILES; MISRA, 1938). Para cada amostra foram utilizadas

duas placas de Petri divididas em três partes iguais. Em cada parte da placa foram inoculadas 3 alíquotas de 25 μl de cada diluição.

As placas de Petri foram então incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 h. Após esse tempo, realizou-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para as três gotas em uma das diluições. A média das três contagens foi multiplicada por 40 e elevada à potência correspondente à diluição, para então estimar o número de UFC/ml. Para estabelecer o número de UFC/placa de fósforo, o número de UFC/ml encontrado foi multiplicado por 2, já que o *swab* foi submerso em 2 ml de solução salina (Figura 3).

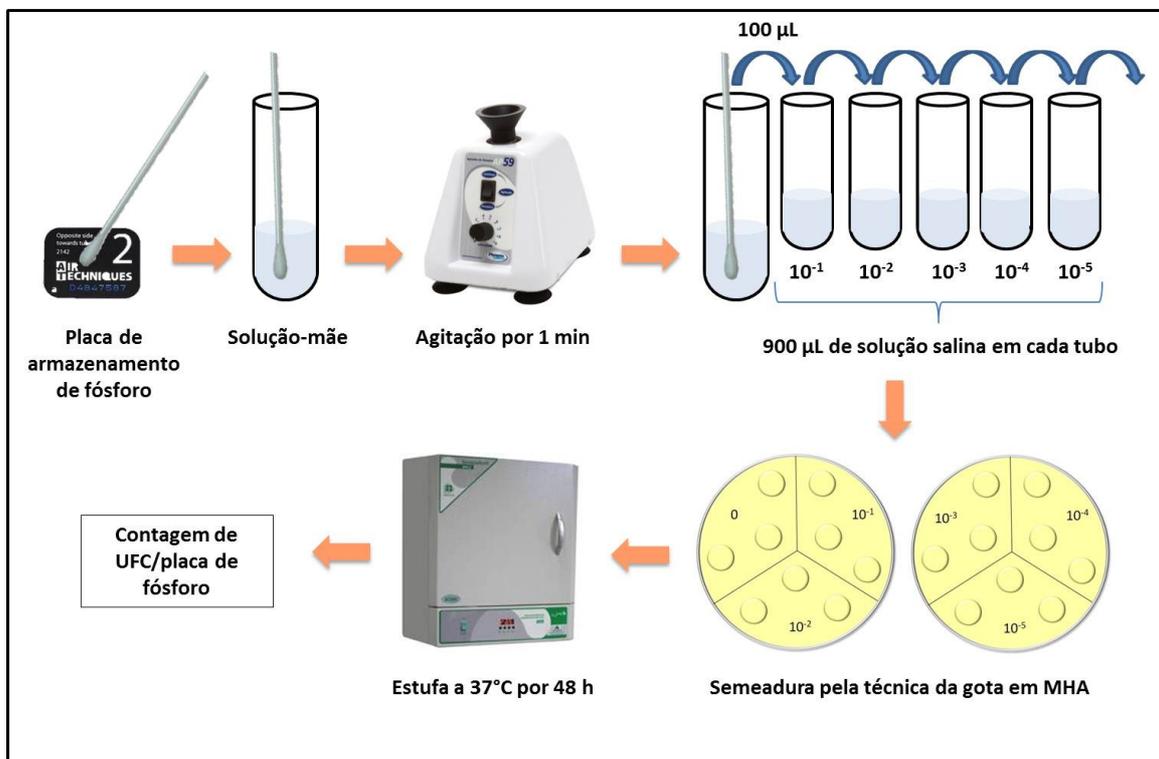


Figura 4 Representação da coleta de material microbiano das placas de fósforo, e da metodologia para análise de UFC/placa de fósforo.

4.10 Seleção de microrganismos

Em um tubo de ensaio contendo 1,5 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusion – HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) duplamente concentrado, adicionou-se 1,5 ml da solução-mãe. Esses tubos foram então levados à estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas. Após esse período, foi observado se houve turvação do meio, o que indica o crescimento microbiano, e, portanto, presença de contaminação nas placas de fósforo. Como parâmetro de comparação para verificar a turvação, utilizou-se uma

solução esterilizada composta por 1,5 ml de caldo BHI duplamente concentrado e 1,5 ml de solução salina.

Todas as soluções, turvas e límpidas, foram semeadas pelo método de esgotamento, com alça descartável estéril de 1 µl, em Ágar Mueller Hinton (MHA) (meio não seletivo) e em meios seletivos: Ágar Mitis Salivarius (MSA) (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) com adição de telurito de potássio a 1%; Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) (DIFCO[™], BD Diagnostics, New Jersey, EUA) com adição de cloranfenicol; e Ágar Sal Manitol (SMA) (DIFCO[™], BD Diagnostics, New Jersey, EUA).

As placas de Petri foram então incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas, sendo que as placas contendo MSA foram incubadas em microaerofilia. Após esse período foi observado se houve crescimento microbiano nos diferentes meios de cultura.

O Ágar *Mitis Salivarius* é recomendado para isolamento de culturas mistas de *Streptococcus* especialmente *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* e *Enterococcus faecalis*. Nesse meio há inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (HIMEDIA, 2014).

O Ágar Sabouraud Dextrose é utilizado para cultivo primário geral de fungos (leveduras, filamentosos e alguns dimórficos). Mas pode se tornar seletivo pela adição de antibióticos, como o cloranfenicol, que é um antibiótico de largo espectro e inibe uma grande variedade de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (PAIXÃO; SIDRIM; BRILHANTE, 2012).

Já o Ágar Sal Manitol é utilizado para o isolamento seletivo de estafilococos e para a detecção de *Staphylococcus aureus* provenientes de amostras clínicas. O cloreto de sódio a uma concentração de 7,5% resulta numa inibição parcial ou completa de outros organismos bacterianos que não os estafilococos. E a fermentação com manitol, conforme indicada por uma alteração no indicador vermelho de fenol, ajuda na diferenciação das espécies de estafilococos (BD DIAGNOSTICS, 2013).

4.11 Controle negativo

Para garantir a esterilidade dos *swabs*, dos meios de cultura, da água destilada, da solução salina e da vidraria utilizada, foi realizado, simultaneamente, o

controle negativo do estudo. Para tanto, seguiu-se toda a metodologia proposta, porém sem esfregar os *swabs* nas placas de armazenamento de fósforo.

4.12 Análise dos dados

Os dados obtidos foram analisados descritivamente, registrando-se em valores absolutos e percentuais, a presença ou ausência de contaminação das placas de armazenamento de fósforo e os tipos de microrganismos encontrados.

5 Contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais

Nas normas da revista Dentomaxillofacial Radiology

5.1 Introdução

Contaminação cruzada é definida como a passagem de microrganismos de uma pessoa ou objeto para outra pessoa. Na Odontologia, tanto pacientes, quanto profissionais, são expostos a muitos agentes infecciosos, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Treponema pallidum* e os vírus HIV, Hepatite B e C, Herpes simples 1 e 2, citomegalovírus e vírus de Epstein-Barr.¹

Os procedimentos na realização de técnicas radiográficas não são invasivos como os de Cirurgia Oral, Periodontia e Implantodontia. No entanto, a contaminação cruzada pode ocorrer, uma vez que há o contato com a saliva, e algumas vezes com o sangue do paciente, durante a realização de exames radiográficos.²

Na radiografia intrabucal digital os sistemas digitais são classificados em sistemas de aquisição direta, representados pelos sensores de estado sólido; e sistemas de aquisição semidireta, que compreendem as placas de armazenamento de fósforo. Na aquisição direta a imagem pode ser visualizada no monitor do computador logo após a exposição do sensor aos Raios X. Já na aquisição semidireta, é necessário que os receptores sejam escaneados para visualização da imagem.³

Muitos benefícios são apresentados pela radiografia intrabucal digital. Dentre eles a redução da dose de radiação ionizante, e a possibilidade de aquisição rápida da imagem radiográfica. Essa rapidez na aquisição da imagem deve-se principalmente à eliminação do processamento químico-úmido, o que resulta no atendimento de um maior número de pacientes.^{4,5}

Contudo, esse método de obtenção da imagem criou novos desafios de controle de infecção. Pois, em contraste com os filmes radiográficos, os receptores digitais (ambos os sensores de estado sólido e placas de armazenamento de fósforo) são reutilizados muitas vezes, e apesar disso, não podem ser esterilizados

pelos métodos comumente disponíveis em consultórios odontológicos e clínicas de Radiologia Odontológica.⁶⁻⁹

Para as placas de armazenamento de fósforo tem sido sugerido o uso de lenços umedecidos com soluções desinfetantes. No entanto, eles causam danos às placas, com conseqüente formação de artefatos na imagem radiográfica, o que inviabiliza o seu uso.¹⁰ Assim, a forma indicada e viável para a prevenção da transferência de microrganismos nas placas de fósforo é o uso de envelopes de barreira (invólucro de plástico selável) fornecidos pelos próprios fabricantes das placas.⁹

Entretanto, esses invólucros podem não impedir a contaminação das placas de fósforo por microrganismos provenientes da cavidade bucal do paciente ou da manipulação.^{6,8,9,11,12} Essa contaminação pode acontecer caso haja perfurações da barreira de plástico, ou contato entre a barreira e a saliva durante a remoção para o processamento, ou ainda se houver contato com luvas contaminadas. Assim, a contaminação cruzada é um problema substancial na radiografia digital.⁹

Diante do exposto, no presente estudo foi objetivo analisar se existe contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica, bem como examinar a origem dessa contaminação.

5.2 Materiais e métodos

O presente estudo obteve aprovação prévia do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos com CAAE de número 30768414.0.0000.5208.

Realizou-se esta pesquisa em duas clínicas privadas de Radiologia Odontológica, as quais adotam protocolos de controle de infecção distintos no uso de placas de armazenamento de fósforo. Na clínica A, que utiliza o sistema ScanX[®], o técnico em Radiologia realiza o seguinte protocolo: 1) Calça as luvas; 2) Põe a placa – já protegida primeiramente pelo invólucro plástico de barreira fornecido pelo fabricante e, adicionalmente, por um saco plástico – no posicionador radiográfico esterilizado; 3) Realiza a técnica radiográfica; 4) Remove a placa do posicionador e retira o saco plástico, de modo a não tocar no invólucro; 5) Remove as luvas; 6) Leva a placa para a sala de processamento; 7) Faz a antissepsia das mãos com etanol 70%; 8) Cadastra os dados do paciente no computador; 9) Retira a placa do invólucro de plástico e a insere no *scanner*; 10) Recoloca a placa no mesmo invólucro, e põe esse conjunto em um novo saco plástico.

Na clínica B, que faz uso do sistema Digora Optime[®], o técnico realiza o protocolo a seguir: 1) Lava as mãos; 2) Calça as luvas; 3) Põe a placa – já protegida pelo envoltório de papel e pelo invólucro plástico de barreira, fornecidos pelo fabricante e, adicionalmente, por um saco plástico – no posicionador radiográfico esterilizado; 4) Realiza a técnica radiográfica; 5) Remove a placa do posicionador e retira o saco plástico, de modo a não tocar no invólucro; 6) Remove as luvas; 7) Leva a placa para a sala de processamento e a entrega para outro técnico; 8) Este cadastra os dados do paciente no computador; 9) Retira a placa do invólucro de plástico e, tocando no cartão de papel, insere a placa no *scanner*; 10) Recoloca a placa no mesmo cartão de papel, no mesmo invólucro de barreira, e por fim, põe esse conjunto em um novo saco plástico.

Para as análises de contaminação microbiana, a amostra foi composta por 50 placas de armazenamento de fósforo. O grupo teste compreendeu todas as placas de fósforo tamanho 2 que estavam em uso em ambas as clínicas, correspondendo a 44 placas, sendo 14 da clínica A e 30 da clínica B. Na clínica A é usado o sistema de placas de armazenamento de fósforo ScanX[®] (Air Techniques, Corona, CA, EUA), enquanto a clínica B utiliza o sistema Digora Optime[®] (Soredex/Orion Corp., Helsinki, Finlândia). O grupo controle, foi composto por 6 placas de armazenamento de

fósforo tamanho 2 nunca utilizadas, sendo 3 placas de cada sistema testado. Essas placas se encontravam em embalagens lacradas pelos próprios fabricantes.

A coleta do material microbiano foi realizada nas clínicas de Radiologia Odontológica, exclusivamente nas placas de armazenamento de fósforo, por único pesquisador, com o auxílio de luvas estéreis. A coleta foi feita durante o intervalo entre os turnos da manhã e da tarde. Nesse período as placas de fósforo não eram utilizadas, mas encontravam-se prontas para uso, estando protegidas por seus invólucros plásticos de barreira e, adicionalmente por um saco plástico, em ambas as clínicas. Para tanto, um *swab* estéril foi umedecido em água destilada esterilizada, e esfregado na superfície inativa e na periferia da placa de fósforo. Em seguida, o *swab* foi transferido para um tubo de ensaio contendo 2 ml de solução salina (NaCl a 0,9%) esterilizada. Esses tubos foram então imediatamente levados ao laboratório de microbiologia, e processados em um tempo não superior a 20 minutos.

Os tubos de ensaio contendo os *swabs* foram levados a aparelho agitador de soluções AP 59 (Phoenix[®], Araraquara, SP, Brasil) por 1 minuto. Então, para possibilitar a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), foram realizadas diluições seriadas dessa solução-mãe. Com essa finalidade, para cada amostra preparou-se 5 tubos de ensaio contendo 900 µl de solução salina esterilizada. Então, 100 µl da solução obtida após a agitação, foram diluídos no primeiro tubo (10^{-1}), dessa diluição 100 µl foram diluídos no segundo tubo (10^{-2}), sendo então a diluição realizada de forma sucessiva até atingir uma diluição de 10^{-5} . Alíquotas da solução-mãe e das cinco diluições foram inoculadas em triplicata em placas contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) pela técnica da gota.¹³ Para cada amostra foram utilizadas duas placas de Petri divididas em três partes iguais. Em cada parte da placa foram inoculadas 3 alíquotas de 25 µl de cada diluição.

Em caso suspeita de contaminação microbiana das placas de fósforo durante a realização do exame radiográfico ou ao removê-las dos invólucros plásticos, na clínica A as placas são desinfetadas com etanol a 70%, e na clínica B não há nenhum procedimento previsto para essa situação.

As placas de Petri foram então incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 h. Após esse tempo, realizou-se a contagem das UFC para as três gotas em uma das diluições. A média das três contagens foi multiplicada por 40 e elevada à

potência correspondente à diluição, para então estimar o número de UFC/ml. Para estabelecer o número de UFC/placa de fósforo, o número de UFC/ml encontrado foi multiplicado por 2, já que o *swab* foi submerso em 2 ml de solução salina.

Em um tubo de ensaio contendo 1,5 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusion – HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) duplamente concentrado, adicionou-se 1,5 ml da solução-mãe. Esses tubos foram então levados à estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas. Após esse período, foi observado se houve turvação do meio, o que indica o crescimento microbiano, e, portanto, presença de contaminação nas placas de fósforo. Como parâmetro de comparação para verificar a turvação, utilizou-se uma solução esterilizada composta por 1,5 ml de caldo BHI duplamente concentrado e 1,5 ml de solução salina.

Todas as soluções, turvas e límpidas, foram semeadas pelo método de esgotamento, com alça descartável estéril de 1 µl, em Ágar Mueller Hinton (MHA) (meio não seletivo) e em meios seletivos: Ágar Mitis Salivarius (MSA) (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) com adição de telurito de potássio a 1%, Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) (DIFCO[™], BD Diagnostics, New Jersey, EUA) com adição de cloranfenicol, e Ágar Sal Manitol (SMA) (DIFCO[™], BD Diagnostics, New Jersey, EUA). As placas de Petri foram então incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas, sendo que as placas contendo MSA foram incubadas em microerofilia. Após esse período foi observado se houve crescimento microbiano nos diferentes meios de cultura.

Com o objetivo de garantir a esterilidade dos *swabs*, dos meios de cultura, da água destilada, da solução salina e da vidraria utilizada, foi realizado, simultaneamente, o controle negativo do estudo. Para tanto, seguiu-se toda a metodologia proposta, porém sem esfregar os *swabs* nas placas de armazenamento de fósforo. Os dados obtidos foram analisados descritivamente.

5.3 Resultados

Nas tabelas 1 e 2, encontram-se os resultados das análises de contaminação microbiana nas placas de armazenamento de fósforo das clínicas A e B, respectivamente.

Na clínica A, 50% (n=7) das placas de armazenamento de fósforo em uso estavam contaminadas. Enquanto na clínica B, verificou-se contaminação em 73,3% (n=22) das placas. Essa contaminação foi verificada por meio da visualização de turvação em caldo BHI, bem como pela presença de crescimento microbiano em Ágar Mueller Hinton.

Em Ágar Sal Manitol, meio de cultura seletivo e diferencial para *Staphylococcus* spp., houve crescimento microbiano para 100% (n=7) das placas de fósforo contaminadas da clínica A, e 86,3% (n=19) da clínica B. Em 71,4% (n=5) dessas placas da clínica A e 63,1% (n=12) da clínica B, observou-se colônias microbianas amarelas, com meio de cultura circundante também amarelo, características de *Staphylococcus aureus*. Adicionalmente, em 28,6% (n=2) dessas placas da clínica A e 36,9% (n=7) da clínica B, as colônias apresentaram-se brancas, com meio de cultura circundante vermelho, o que é indicativo de presença de *Staphylococcus epidermidis* (Figura 1).

De todas as placas de fósforo contaminadas de ambas as clínicas de Radiologia Odontológica, apenas para uma (14,2%) houve crescimento em Ágar Mitis Salivarius, o qual sugere contaminação por bactérias do gênero *Streptococcus* (Figura 2). No meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose, não houve crescimento para nenhuma das placas de ambas clínicas, demonstrando ausência de contaminação por fungos.

Verificou-se crescimento de UFC para 28,5% (n=2) das placas contaminadas da clínica A (26.4 UFC/placa), e 27,2% (n=6) da clínica B (variando de 26.4 a 80.0 UFC/placa).

Não houve crescimento microbiano para o controle negativo, o que confirma a esterilidade de todo o material utilizado na pesquisa, e a ausência de contaminação durante a realização dos procedimentos metodológicos. Também não foi verificada contaminação nas placas de armazenamento de fósforo dos sistemas Scan X e Digora Optime, usadas como controle.

Tabela 1 Análise de contaminação microbiana nas placas de armazenamento de fósforo da clínica A.

Placa	UFC/placa de fósforo	Turvação em caldo BHI	MHA	MSA	SDA	SMA	Resultado de crescimento em SMA
1	26.4	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
2	-	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
5	-	-	-	-	-	-	-
6	26.4	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
7	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
8	-	+	+	+	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
9	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-
11	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
12	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-

BHI = Brain Heart Infusion; MHA = Mueller Hinton Agar; MSA = Mitis Salivarius Agar; SDA = Sabouraud Dextrose Agar; SMA = Sal Manitol Agar. O sinal "+" indica presença de crescimento microbiano. O sinal "-" indica ausência desse crescimento.

Tabela 2 Análise de contaminação microbiana nas placas de armazenamento de fósforo da clínica B.

Placa	UFC/placa de fósforo	Turvação em caldo BHI	MHA	MSA	SDA	SMA	Resultado de crescimento em SMA
1	26.4	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
2	-	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
6	26.4	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
7	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
8	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
9	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
10	-	-	-	-	-	-	-
11	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
12	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-
16	52.8	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
17	-	+	+	-	-	-	-
18	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
19	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
20	80.0	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
21	-	-	-	-	-	-	-
22	-	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
23	26.4	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
24	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
25	-	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
26	26.4	+	+	-	-	-	-
27	-	+	+	-	-	-	-
28	-	+	+	-	-	+	Colônias amarelas, meio amarelo
29	-	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho
30	-	+	+	-	-	+	Colônias brancas, meio vermelho

BHI = Brain Heart Infusion; MHA = Mueller Hinton Agar; MSA = Mitis Salivarius Agar; SDA = Sabouraud Dextrose Agar; SMA = Sal Manitol Agar. O sinal "+" indica presença de crescimento microbiano. O sinal "-" indica ausência desse crescimento.

5.4 Discussão

O controle de infecção é de grande importância na realização de radiografias intrabucais. Assim, a mudança da radiografia com filme para imagem digital não deve ser acompanhada por um aumento do risco de contaminação⁶. No entanto, a maior parte dos estudos que aborda essa temática em Radiologia Odontológica avalia filmes, soluções de processamento químico e equipamentos radiográficos. Apenas algumas pesquisas têm avaliado contaminação em receptores digitais.^{6,8,9,11,12,14}

O presente estudo é o primeiro a analisar contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica, os quais são serviços com uma rotina intensa de uso desses receptores. No entanto, não foi objetivo nesta pesquisa comparar as duas clínicas, nem os dois sistemas de placas de fósforo analisados, já que eles eram usados em estabelecimentos diferentes.

Nas clínicas analisadas, grande parte das placas de armazenamento de fósforo em uso encontrava-se contaminada, apesar de protocolos de controle de infecção serem seguidos. Como a contaminação se deu predominantemente por bactérias do gênero *Staphylococcus*, as quais fazem parte da microbiota da pele humana normal¹⁵, provavelmente, a fonte dessa contaminação são as mãos dos técnicos em Radiologia. Pois, em ambas as clínicas, esses não usavam luvas nas etapas de processamento e embalagem das placas. Esses resultados também foram observados por White e Glaze¹⁶ e Wenzel et al⁶. Além disso, White e Glaze¹⁶ constataram que o *S. aureus* sobrevive durante pelo menos 48 horas após ter sido colocado na superfície de cabeçotes de raios X.

Dentre as várias espécies de estafilococos presentes na pele, tem-se o *S. epidermidis* e o *S. aureus*. Porém o *S. aureus* é a de maior interesse médico, pois está frequentemente relacionada com diversas patologias em seres humanos, que vão desde uma infecção simples, como acne e furúnculo, até as mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite e septicemia.¹⁵ Com base nisso, recomenda-se o uso de luvas limpas durante a manipulação de placas de fósforo em todas as etapas para obtenção da imagem, não apenas durante a realização da técnica radiográfica.

Contudo, os procedimentos para controle de infecção adotados pelas clínicas analisadas mostraram-se eficazes no sentido de minimizar a contaminação das placas por microrganismos bucais. Pois, não foi verificada a presença de fungos, e para apenas uma das placas contaminadas da clínica A, houve crescimento no meio de cultura seletivo para estreptococos (MSA).

Esse resultado pode estar relacionado à utilização da barreira plástica adicional sobre o invólucro plástico fornecido pelo fabricante das placas. Uma vez que em estudos nos quais apenas esse invólucro foi utilizado para proteger as placas de fósforo, estas apresentaram contaminação por microrganismos compatíveis com os da microbiota bucal, apesar de rígidos protocolos de controle de infecção terem sido seguidos.^{8,11,12}

Hokett et al¹⁴, verificaram que o uso de uma barreira adicional de látex reduziu significativamente a perfuração da barreira de plástico usada para cobrir sensores de estado sólido. Em placas de fósforo, falhas na integridade dos invólucros, como deficiência no selamento ou perfurações, podem levar à sua contaminação.⁹ Dessa forma, a utilização dessa segunda barreira plástica se mostra uma alternativa viável no controle de infecção em placas de armazenamento de fósforo.

Em termos quantitativos, foram verificados baixos níveis de microrganismos nas placas de fósforo de ambas as clínicas. Pois, para a maioria das placas contaminadas não foi identificado o crescimento de UFC, e para as placas que proporcionaram esse crescimento, o número de UFC foi pouco expressivo. De semelhante modo, Wenzel et al⁶ e Negron et al¹¹, também observaram um baixo número de UFC para as placas de fósforo avaliadas em seus estudos. Todavia, Kalathingal et al¹² alertam que a presença de qualquer bactéria nessas placas deve ser preocupante.

Ressalta-se ainda que apenas a clínica A adota um procedimento para desinfecção das placas, utilizando etanol a 70%, em caso de suspeita de contaminação. O fabricante do sistema ScanX[®] recomenda que caso a placa de fósforo entre em contato direto com uma superfície contaminada, seja imersa rapidamente em uma solução esterilizante (como glutaraldeído a 2%). O fabricante desse sistema fornece ainda toalhas umedecidas com etanol para limpeza das placas¹⁸. Já para o sistema Digora Optime[®], a instrução do fabricante é que a placa seja limpa com uma toalha fornecida junto com o equipamento, e em seguida desinfetada com etanol de 70 a 96%¹⁹. No entanto, Wenzel et al¹⁰ constataram que a

desinfecção de placas de fósforo com etanol a 82% foi efetiva em eliminar bactérias e fungos, mas resultou na degradação das bordas das placas, levando ao aparecimento de artefatos na imagem radiográfica.

Idealmente, as placas de armazenamento de fósforo deveriam ser esterilizadas por calor.¹⁷ Mas como elas não resistem a esse método^{9,20}, Kalathingal et al⁸ e Kalathingal et al¹² recomendam o uso de óxido de etileno na esterilização desses recetores. Entretanto, os autores salientaram que não é comum clínicas odontológicas terem acesso a esse sistema de esterilização.

Desse modo, diante da ineficiência das barreiras fornecidas pelos fabricantes das placas de fósforo em evitar a contaminação dessas, e da inviabilidade do uso de etanol como desinfetante, se faz necessário o desenvolvimento de placas resistentes a métodos de esterilização por calor. Bem como a realização de estudos que avaliem a possibilidade de uso de outras soluções desinfetantes.

Este estudo apresenta algumas limitações como a ausência de seleção de bactérias gram-negativas, e a falta de identificação precisa dos microrganismos encontrados nas placas de armazenamento de fósforo, que pode ser realizada por métodos bioquímicos.

Assim conclui-se que há risco de contaminação cruzada por placas de armazenamento de fósforo, uma vez que a maioria das placas analisadas apresentou-se contaminada, principalmente por bactérias do gênero *Staphylococcus*. Quantitativamente, essa contaminação ocorreu em baixos níveis, sendo oriunda da manipulação das placas sem o uso de luvas. Desta forma, o uso de uma segunda barreira plástica adotado pelas clínicas de Radiologia Odontológica mostrou-se uma alternativa simples, acessível e eficiente para minimizar a contaminação por microrganismos da microbiota bucal.

5.5 Referências

1. Bartoloni JA, Chariton DG, Flint DJ. Infection control practices in dental radiology. *Gen Dent* 2003; 51: 264-271.
2. Palenik CJ. Infection control practices for dental radiography. *Dent Today* 2004; 23: 52-55.
3. van der Stelt, PF. Filmless imaging: the uses of digital radiography in dental practice. *J Am Dent Assoc* 2005; 136: 1379-1387.
4. van der Stelt PF. Principles of digital imaging. *Dent Clin North Am* 2000; 44: 237-248.
5. Geist JR, Katz JO. Radiation dose-reduction techniques in North American dental schools. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 496-505.
6. Wenzel A, Frandsen E, Hintze H. Patient discomfort and cross-infection control in bitewing examination with a storage phosphor plate and a CCD-based sensor. *J Dent* 1999; 27: 243–246.
7. Parks ET, Williamson GF. Digital radiography: an overview. *J Contemp Dent Pract* 2002; 3: 23-39.
8. Kalathingal S, Youngpeter A, Minton J, Shrout M, Dickinson D, Plummer K, et al. An evaluation of microbiologic contamination on a phosphor plate system: is weekly gas sterilization enough? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 457–462.
9. MacDonald DS, Waterfield JD. Infection control in digital intraoral radiography: evaluation of microbiological contamination of photostimulable phosphor plates in barrier envelopes. *J Can Dent Assoc* 2011; 77: 1-5.
10. Wenzel A, Kornum F, Knudsen MR, Frandsen Lau E. Antimicrobial efficiency of ethanol and 2-propanol alcohols used on contaminated storage phosphor plates and impact on durability of the plate. *Dentomaxillofac Radiol* 2013; 42: 1-6.
11. Negron W, Mauriello SM, Peterson CA, Arnold R. Crosscontamination of the PSP sensor in a preclinical setting. *J Dent Hyg* 2005; 79: 1-10.

12. Kalathingal SM, Moore S, Kwon S, Schuster GS, Shrout MK, Plummer K. An evaluation of microbiologic contamination on phosphor plates in a dental school. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107: 279-282.
13. Miles AA, Misra SS, Iurn JO. The estimation of the bacterial power of the blood. *J Hyg* 1938; 38: 732-749.
14. Hokett SD, Honey JR, Ruiz F, Baisden MK, Hoen MM. Assessing the effectiveness of direct digital radiography barrier sheaths and finger cots. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 463-467.
15. Cassettari VC, Strabelli T, Medeiros EAS. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? *Braz J Infect Dis* 2005; 9: 70-76.
16. White SC, Glaze S. Interpatient microbiological cross-contamination after dental radiographic examination. *J Am Dent Assoc* 1978; 96: 801-804.
17. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings — 2003. *MMWR* 2003; 52: 1-76.
18. Air Techniques. ScanX[®] Duo. Digital Imaging System. Instruction Manual.
19. Soredex. DIGORA[®] Optime DXR-50 00. Digital intraoral imaging plate system. User's Manual.
20. Wenzel A, Møystad A. Work flow with digital intraoral radiography: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 2010; 68: 106-114.

5.6 Figuras



Figura 1 Crescimento bacteriano em Ágar Sal Manitol referente às placas de fósforo de número 19 e 20 da clínica B. Para a placa 19 observa-se crescimento característico de *Staphylococcus aureus*, e para a placa 20 crescimento compatível com *S. epidermidis*.



Figura 2 Crescimento bacteriano em Ágar Mitis Salivarius referente à placa de fósforo de número 8 da clínica A.

6 CONCLUSÕES

- A maioria das placas de armazenamento de fósforo analisadas apresentou-se contaminada;
- Quantitativamente a contaminação ocorreu em baixos níveis, observado pelo pequeno número de UFC por placa de fósforo;
- A contaminação se deu principalmente por bactérias do gênero *Staphylococcus*, oriundas da manipulação das placas sem o uso de luvas;

REFERÊNCIAS

AIR TECHNIQUES. ScanX[®] Duo. Digital Imaging System. Instruction Manual. 32 p.

BARTOLONI, J.; CHARLTON, D.; FLINT, D. Infection control practices in dental radiology. **Gen Dent.**, Chicago, v. 51, n. 3, p. 264-271, May/Jun. 2003.

BD DIAGNOSTICS. **BD Mannitol Salt Agar**. 2013. Disponível em: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9074>. Acesso em: 30 de junho de 2014.

BEDARD, A.; DAVIS, T. D.; ANGELOPOULOS, C. Storage phosphor plates: how durable are they as a digital dental radiographic system? **J. Contemp. Dent. Pract.**, New Delhi, v. 5, n. 2, p. 57-69, May 2004.

BERKHOUT, W. E. R.; BEUGER, D. A.; SANDERINK, G. C. H.; VAN DER STELT, P. F. The dynamic range of digital radiographic systems: dose reduction or risk of overexposure? **Dentomaxillofac. Radiol.**, Tokyo, v. 33, n. 1, p. 1-5, Jan. 2004.

CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v. 9, n.1, p. 70-76, Feb. 2005.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings — 2003. **MMWR**, Atlanta, v. 52, n. RR-17, p. 1-76, Dec. 2003.

GEIST, J. R.; KATZ, J. O. Radiation dose-reduction techniques in North American dental schools. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 93, n. 4, p. 496-505, Apr. 2002.

HAITER NETO, F.; MELO, D. P. Radiografia digital. **Rev. ABRO**, Campos dos Goytacazes, v. 11, n. 1, p. 5-17, jan./jun. 2009.

HIMEDIA. **Agar Mitis Salivarius Base**. 2014. Disponível em: <http://www.himedialabs.com.br/produtos/detail.asp?iType=37&iPic=518>. Acesso em: 30 de junho de 2014.

HOKETT, S. D.; HONEY, J. R.; RUIZ, F.; BAISDEN, K.; HOEN, M. M. Assessing the effectiveness of direct digital radiography barrier sheaths and finger cots. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 131, n. 4, p. 463-467, Apr. 2000.

KALATHINGAL, S. M.; MOORE, S.; KWON, S.; SCHUSTER, G. S.; SHROUT, M. K.; PLUMMER, K. An evaluation of microbiologic contamination on phosphor plates in a dental school. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 107, p. 279-282, Feb. 2009.

KALATHINGAL, S. M.; SHROUT, M. K.; COMER, C.; BRADY, C. Rating the extent of surface scratches on photostimulable storage phosphor plates in a dental school environment. **Dentomaxillofac. Radiol.**, Tokyo, v. 39, n. 3, p. 179-183, Mar. 2010.

KALATHINGAL, S.; YOUNGPETER, A.; MINTON, J.; SHROUT, M.; DICKINSON, D.; PLUMMER, K.; LOONEY, S. An evaluation of microbiologic contamination on a phosphor plate system: is weekly gas sterilization enough? **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 109, p. 457-462, Mar. 2010.

LAKATOS, E. M.; MARCONI, M. A. **Fundamentos de metodologia científica**. 7. ed. São Paulo: Atlas, 2010.

MACDONALD, D. S.; WATERFIELD, J. D. Infection Control in Digital Intraoral Radiography: Evaluation of Microbiological Contamination of Photostimulable Phosphor Plates in Barrier Envelopes. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v. 77, n. 1, p. 1-5, Jan. 2011.

MARTINS, M. G.; HAITER NETO, F.; WHAITES, E. J. Analysis of digital images acquired using different phosphor storage plates (PSPs) subjected to varying reading times and storage conditions. **Dentomaxillofac. Radiol.**, Tokyo, v. 32, n. 3, p. 186-190, May 2003.

MILES, A. A.; MISRA, S. S.; IRURN, J. O. The estimation of the bacterial power of the blood. **J. hyg.**, London, v. 38, n. 6, p. 732-749, Nov. 1938.

NEGRON, W.; MAURIELLO, S. M.; PETERSON, C. A.; ARNOLD, R. Crosscontamination of the PSP sensor in a preclinical setting. **J. Dent. Hyg.**, Chicago, v. 79, n. 3, p. 1-10, Jul. 2005.

PAIXÃO, G. C.; SIDRIM, J. J. C.; BRILHANTE, R. S. N. Elaboração de meios de cultura em micologia. In: SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz dos autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. p. 341.
PALENIK, C. J. Infection control practices for dental radiography. **Dent. Today**, Montclair, v. 23, n. 6, p. 52-55, Jun. 2004.

PARKS, E. T.; WILLIAMSON, G. F. Digital radiography: an overview. **J. Contemp. Dent. Pract.**, New Delhi, v. 3, n. 4, p. 23-39, Nov. 2002.

ROBERTS, M. W.; MOL, A. Clinical techniques to reduce sensor plate damage in PSP digital radiography. **J. Dent. Child.**, Chicago, v. 71, n. 2, p. 169–170, May/Aug. 2004.

SANDERINK, G. C. MILES, D. A. Intraoral detectors. CCD, CMOS, TFT, and other devices. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 44, n. 2, p. 249-255, Apr. 2000.

SOREDEX. Digora[®] Optime DXR-50 00. Digital intraoral imaging plate system. User's Manual. 58 p.

TSUCHIDA, R.; ARAKI, K.; ENDO, A.; HUNAHASHI, I.; OKANO, T. Physical Properties and ease of operation of a wireless intraoral x-ray sensor. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 100, n. 5, p. 603-608, Nov. 2005.

VAN DER STELT, P. F. Filmless imaging: the uses of digital radiography in dental practice. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 136, n. 10, p. 1379-1387, Oct. 2005.

VAN DER STELT, P. F. Principles of digital imaging. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 44, n. 2, p. 237-248, Apr. 2000.

WENZEL, A.; FRANDBSEN, E.; HINTZE, H. Patient discomfort and cross-infection control in bitewing examination with a storage phosphor plate and a CCD-based sensor. **J. Dent.**, Guildford, v. 27, p. 243–246, Mar. 1999.

WENZEL, A.; KORNUM, F.; KNUDSEN, M. R.; FRANDBSEN LAU, E. Antimicrobial efficiency of ethanol and 2-propanol alcohols used on contaminated storage phosphor plates and impact on durability of the plate. **Dentomaxillofac. Radiol.**, Tokyo, v. 42, n. 6, p. 1-6, Jun. 2013.

WENZEL, A.; MØYSTAD, A. Work flow with digital intraoral radiography: a systematic review. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 68, n. 2, p. 106-114, Mar. 2010.

WHITE, S. C.; GLAZE, S. Interpatient microbiological cross-contamination after dental radiographic examination. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 96, n. 5, p. 801-804, May 1978.

APÊNDICES

Apêndice A – Carta de anuência da clínica A



CARTA DE ANUÊNCIA

Declaro para os devidos fins, que aceito a pesquisadora Tricia Murielly Pereira Andrade de Souza, a desenvolver o seu projeto de pesquisa “Estudo de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo em clínicas de Radiologia Odontológica”, que está sob a orientação da Profa. Maria Luiza dos Anjos Pontual, cujo objetivo é verificar a presença de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica, nesta clínica.

A aceitação está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

João Pessoa, em 09 de abril de 2014.

ODONTO RADIOLOGISTAS ASSOCIADOS S/C LTDA.

Eduardo Cunha Carneiro Braga
CRO - 2301
Sócio

Apêndice B – Carta de anuência da clínica B



RADIOCRÂNIO
CENTRO DE RADIOLOGIA E DOCUMENTAÇÃO ODONTOLÓGICA

CARTA DE ANUÊNCIA

Declaro para os devidos fins, que aceito a pesquisadora Trícia Murielly Pereira Andrade de Souza, a desenvolver o seu projeto de pesquisa "Estudo de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo em clínicas de Radiologia Odontológica", que está sob a orientação da Profa. Maria Luiza dos Anjos Pontual, cujo objetivo é verificar a presença de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica, nesta clínica.

A aceitação está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa.

João Pessoa, em 09 de abril de 2014.

Dr. Ricardo Villar Beltrão
Cirurgião Dentista CRO 2455
CPF: 409.481.804-53

CNPJ: 01.299.313/0001-55
Radiocrânio-Centro de Radiologia e
Documentação Odontológica Ltda
Av. Epiplácio Pessoa, 2055 Sala 03
CEP 58030-002 -João Pessoa-PB

Apêndice C – Carta de anuência do Laboratório de Microbiologia Oral



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Laboratório de Medicina Tropical/NUMETROP
Laboratório de microbiologia oral



CARTA DE ANUÊNCIA

Declaro para os devidos fins, que aceito a pesquisadora **Trícia Murielly Pereira Andrade de Souza**, a desenvolver o seu projeto de pesquisa "*Estudo de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo em clínicas de Radiologia Odontológica*", que está sob a orientação da Profa. Maria Luiza dos Anjos Pontual, cujo objetivo é verificar a presença de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica, no Laboratório de Microbiologia Oral do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal da Paraíba.

A aceitação está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares, comprometendo-se a utilizar os dados e materiais coletados, exclusivamente para os fins da pesquisa

João Pessoa, em 08 de abril de 2014.

Prof. Ana Maria Gondim Valença
Ana Maria Gondim Valença
Coordenadora - Lab. Microbiologia Oral
Matricula SIAPE - 0311314

Apêndice D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-graduação em Odontologia**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convido o(a) Sr.(a) para participar, como voluntário(a), da pesquisa “Contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo intrabucais”, que está sob a responsabilidade da pesquisadora Tricia Murielly Pereira Andrade de Souza. [Endereço: Rua Manoel Belarmino de Macêdo, 368, apt. 305, Jardim Cidade Universitária, CEP: 58052-290, João Pessoa-PB. Telefones: (83)96255111; (83)87128848 (recebem ligações a cobrar). E-mail: triciamurielly@yahoo.com.br]. Esta pesquisa está sob orientação da Profa. Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual [Telefone: (81)96566861. E-mail: mlpontual@gmail.com]. Este Termo de Consentimento pode conter alguns tópicos que o/a senhor/a não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa a quem está lhe entrevistando, para que o/a senhor/a esteja bem esclarecido (a) sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, caso aceite em fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr. (a) não será penalizado (a) de forma alguma. Também garantimos que o (a) Senhor (a) tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Esta pesquisa é sobre contaminação em receptores digitais (placas de armazenamento de fósforo) usados para realização de radiografia intrabucais digitais. O objetivo desta pesquisa é verificar a presença de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo utilizadas em clínicas privadas de Radiologia Odontológica. O Sr. (a) participará desta pesquisa relatando o protocolo de controle infecção empregado no uso das placas de armazenamento de fósforo da clínica que o Sr. (a) é responsável, o que pode vir a causar desconforto ou constrangimento ao Sr (a).

O Sr.(a) será beneficiado de forma direta ao tomar conhecimento se existe contaminação nas placas de armazenamento de fósforo da clínica pela qual o Sr. (a) é responsáveis, conhecendo se o método de controle de infecção adotado é eficiente. Indiretamente, esta pesquisa alertará os fabricantes de produtos para radiografia digital intrabucal sobre a importância do desenvolvimento de equipamentos passíveis de serem esterilizados por métodos disponíveis em clínicas e consultórios odontológicos.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (resultados da coleta de material microbiológico nas placas de fósforo e dados do formulário de pesquisa) ficarão armazenados em computador pessoal e pastas de arquivo, sob a responsabilidade da pesquisadora, no endereço acima informado, pelo período de 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

Tricia Murielly Pereira Andrade de Souza

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar da pesquisa “Estudo de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo em clínicas de Radiologia Odontológica”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha

participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____

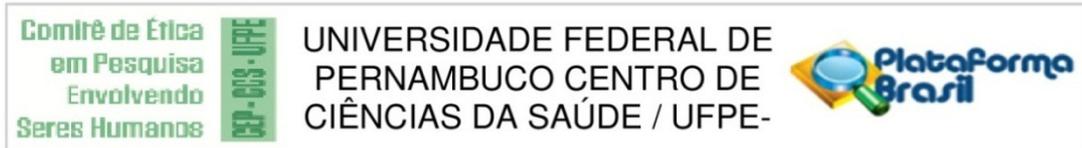
Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXOS

Anexo A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo de contaminação microbiana em placas de armazenamento de fósforo de clínicas de Radiologia Odontológica

Pesquisador: Tricia Murielly Pereira Andrade de Souza

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 30768414.0.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 712.256

Data da Relatoria: 09/07/2014

Apresentação do Projeto:

Indicado na relatoria inicial.

Objetivo da Pesquisa:

Indicado na relatoria inicial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Indicado na relatoria inicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Indicado na relatoria inicial.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Indicado na relatoria inicial.

Recomendações:

s/recomendação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

Anexo B – Normas da revista *Dentomaxillofacial Radiology*

AUTHOR CONTRIBUTION STATEMENT

DMFR requires that an author contribution statement accompany each submission, outlining the contributions of each author towards the work. A template statement can be downloaded here.

DMFR requires that for all submitted papers:

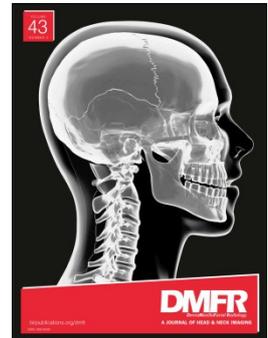
- All the authors have made substantive contributions to the article and assume full responsibility for its content; and
- All those who have made substantive contributions to the article have been named as authors.

The International Committee of Medical Journal Editors recommends the following definition for an author of a work, which we ask our authors to adhere to:

Authorship be based on the following 4 criteria [1]:

- Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
- Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
- Final approval of the version to be published; AND
- Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

1 The International Committee of Medical Journal Editors, Roles and Responsibilities of Authors, Contributors, Reviewers, Editors, Publishers, and Owners: Defining the Role of Authors and Contributors, http://www.icmje.org/roles_a.html



TITLE PAGE

The title page is a separate submission item to the main manuscript and should provide the following information:

- Title of the paper. Abbreviations other than CT or MRI should not be used in the title.
- A shortened version of the title (no more than 70 characters in length, including spaces) should be provided for use as the running head. Abbreviations are permissible.
- Type of Manuscript (see all types of manuscript)
- Author names, qualifications and affiliations.
- Statement indicating any source of funding or financial interest where relevant should be included.
- A cover letter or statement can be included into the title page, but please note this is not a compulsory item.

Blind title page

A blind title page should be included with the full manuscript, giving only the title (i.e. without the authors' names and affiliations), for use in the peer-review process.

ABSTRACT

The abstract should be an accurate and succinct summary of the paper, not exceeding **250 words**. For papers containing research: the abstract should be constructed under the following subheadings:

- Objectives;
- Methods;
- Results;
- Conclusions.

These subheadings should appear in the text of the abstract and the abstract should not contain references. The abstract should: indicate the specific objective or purpose of the article; describe the methods used to achieve the objective, stating what was done and how it was done; present the findings of the methods described – key statistics should be included; present the conclusion of the study based solely on the data provided, and highlight the novelty of the work.

Beneath the abstract please select up to 5 keywords from the current Medical Subject Headings (MeSH).

MAIN TEXT

Please organise your paper in a logical structure with clear subheadings to indicate relevant sections. It is up to the authors to decide the specific nature of any subheadings as they see fit. Research papers typically follow the structure:

- Introductory section;
- Methods and materials/patients;
- Results;
- Discussion;
- Conclusion;
- Acknowledgments (if relevant).

Present results in a clear logical sequence. The conclusions drawn should be supported by the results obtained and the discussion section should comment critically on the findings and conclusions as well as any limitations of the work.

Acknowledgments should be brief and should indicate any potential conflicts of interest and sources of financial support.

An appendix may be used for mathematical formulae or method details of interest to readers with specialist knowledge of the area.

In addition:

- Avoid repetition between sections.
- Avoid repetition of text featured in tables and the main body of the article.
- Abbreviations and acronyms may be used where appropriate, but must always be defined where first used.
- The names and locations (town, country) of manufacturers of all equipment and non-generic drugs must be given.
- Avoid the use of footnotes.
- Use SI units throughout the text (Grays, Sieverts not RADs and REMs).

REFERENCES

- Authors are responsible for the accuracy of the references. Only papers closely related to the work should be cited; exhaustive lists should be avoided. All references must appear both in the text and the reference list.
- References should follow the Vancouver format.
- In the text, references are cited in numerical order as superscript numbers starting at 1. The superscript numbers are placed AFTER the full point.
- At the end of the paper they should be listed (double-spaced) in numerical order corresponding to the order of citation in the text.
- A reference cited in a table or figure caption counts as being cited where the table or figure is first mentioned in the text.
- Papers in press may be included in the list of references.
- Do not include references to uncompleted work or work that has not yet been accepted for publication. Abstracts and/or papers presented at meetings not in the public domain should not be included as references.
- References to private communications should be given only in the text (i.e. no number allocated). The author and year should be provided.
- If there are 6 or fewer authors, list them all. If there are 7 or more, list the first 6 followed by et al.
- Abbreviations for titles of medical periodicals should conform to those used in the latest edition of Index Medicus.
- The first and last page numbers for each reference should be provided.
- Abstracts and letters must be identified as such.

Examples of references:

Journal article:

Gardner DG, Kessler HP, Morency R, Schaffner DL. The glandular odontogenic cyst: an apparent entity. *J Oral Pathol* 1988; 17:359–366.

Journal article, in press:

Dufoo S, Maupome G, Diez-de-Bonilla J. Caries experience in a selected patient population in Mexico City. *Community Dent Oral Epidemiol* (in press).

Complete book:

Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. *Histological typing of odontogenic tumours* (2nd edn). Berlin: Springer Verlag, 1992.

Chapter in book:

DelBalso AM, Ellis GE, Hartman KS, Langlais RP. Diagnostic imaging of the salivary glands and periglandular regions. In: DelBalso AM (ed). *Maxillofacial imaging*. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1990, pp 409–510.

Abstract:

Mileman PA, Espelid I. Radiographic treatment decisions - a comparison between Dutch and Norwegian practitioners. *J Dent Res* 1986; 65: 609 (Abstr 32).

Letter to the Editor:

Gomez RS, de Oliveira JR, Castro WH. Spontaneous regression of a paradental cyst. *Dentomaxillofac Radiol* 2001; 30: 296 (letter).

Journal article on the internet:

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

Homepage/Web site:

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

TABLES

Tables should be referred to specifically in the text of the paper but provided as separate files.

- Number tables consecutively with Arabic numerals (1, 2, 3, etc.), in the order in which they appear in the text.
- Give each table a short descriptive title.
- Make tables self-explanatory and do not duplicate data given in the text or figures.
- Aim for maximum clarity when arranging data in tables. Where practicable, confine entries in tables to one line (row) in the table, e.g. “value (±sd) (range)” on a single line is preferred to stacking each entry on three separate lines.
- Ensure that all columns and rows are properly aligned.
- Include horizontal rules at the top and bottom of a table and one below the column headings. If a column heading encompasses two or more subheadings, then the main headings and subheadings should be separated by a single short rule. No other rules should be included, neither horizontal nor vertical.
- Appropriate space should be used to separate columns. Rows should be double-spaced.
- A table may have footnotes if necessary. These should be referred to within the table by superscript letters, which will then also be given at the beginning of the relevant footnote. Begin each footnote on a new line. A general footnote referring to the whole table does not require a superscript letter.
- Define abbreviations in tables in the footnotes even if defined in the text or a previous table.
- Submit tables as editable text.

FIGURES

Figures should be referred to specifically in the text of the paper.

- Number figures consecutively using Arabic numerals (1, 2, 3, etc.) and any figure that has multiple parts should be labelled alphabetically (e.g. 2a, 2b).
- Concise, numbered legend(s) should be listed on a separate sheet. Avoid repeating material from the text.
- Abbreviations used in figures should be defined in the caption.

- Labelling of artwork should be Arial 8 point font.
- Ideally, figure sizes should be 84 mm wide, 175 mm wide or the intermediate width of 130 mm.

Files

- Supply image files in EPS, TIFF or JPEG format.
- TIFF is preferred for halftones, i.e. medical images such as radiographs, MR scans etc.
- EPS is preferred for drawn artwork (line drawings and graphs).
- For JPEG files, it is essential to save at maximum quality, i.e. "10", to ensure that quality is satisfactory when the files are eventually decompressed.
- Files supplied in Word, PowerPoint or Excel may prove acceptable, but please supply in EPS, TIFF or JPEG if practicable. Other formats will not be usable.
- Do not supply GIF files – GIF is a compressed format that can cause quality problems when printed.
- Upload each figure separately and numbered.

Colour

- Unless essential to the content of the article, all illustrations should be supplied in black and white with no colour (RGB, CMYK or Pantone references) contained within them.
- The cost of reproduction of colour images will be charged to the author at the following rates: £300 for one colour image, £500 for two colour images and £100 for each subsequent additional colour image. All prices are exclusive of UK VAT.
- Images that do need to be reproduced in colour should be saved in CMYK, with no RGB or Pantone references contained within them.

Resolution

- Files should be saved at the appropriate dpi (dots per inch) for the type of graphic (the typical screen value of 72 dpi will not yield satisfactory printed results). Lower resolutions will not be usable.
- Line drawings – save at 800 dpi (or 1200 dpi for fine line work).
- Halftone and colour work – save at 300 dpi.

Composition

- The image should be cropped to show just the relevant area (i.e. no more than is necessary to illustrate the points made by the author whilst retaining sufficient anatomical landmarks). The amount of white space around the illustration should be kept to a minimum.
- Supply illustrations at the size they are to be printed, usually 76 mm wide (single column of text) or for especially large figures 161 mm (two columns of text).
- Annotations, e.g. arrows, should be used to indicate subtle but salient points. All annotations should be included within the images supplied.
- Patient identification must be obscured.

Additional points to note:

- Do not put a box around graphs, diagrams or other artwork.
- Avoid background gridlines unless these are essential (e.g. confidence limits).
- Fonts should be Adobe Type 1 standard – Helvetica or Times are preferred.
- Ensure that lettering is appropriately sized – should correspond to 8 or 9 pt when printed.
- Include all units of measurement on axes.
- All lines (e.g. graph axes) should have a minimum width of ¼ pt (0.1 mm) otherwise they will not print; 1 pt weight is preferable.
- Avoid using tints (solid black and white or variations of crosshatching are preferred), but any tints that are used must be at a minimum 5% level to print (but do not use too high a tint as it may print too dark).
- Do not use three-dimensional histograms when the addition of a third dimension gives no further information.

APPENDICES

Authors are discouraged from including appendices if the material can be included in the main text. If an appendix is necessary, e.g. mathematical calculations that would disrupt the text, it should be supplied as a separate file. If more than one appendix is included, these should be identified using different letters.

- An appendix may contain references, but list these separately and numbered A1, A2, etc.
- Appendices must be referred to in the main text.

UNITS, SYMBOLS AND MATHEMATICS

Authors should use the International System of Units (SI) [1]. Units of radiation should be given in SI, e.g. 1 Sv, 1 Gy, 1 MBq. Exceptions are mmHg for blood pressure and g dl⁻¹ for haemoglobin. For guidance, authors can refer to the publication *Units, Symbols and Abbreviations. A guide for medical and scientific authors* [2].

- All radiation factors (dose/time/fractionation) must be listed.
- Equations should be numbered (1), (2) etc. to the right of the equation. Do not use punctuation after equations.
- Do not include dots to signify multiplication – parameters should simply be typed closed up, or with a multiplication sign if necessary to avoid ambiguity.

Statistical Guidelines

The aim of the study should be clearly described and a suitable design, incorporating an appropriate number of subjects, should be used to accomplish the aim. It is frequently beneficial to consult a professional statistician before undertaking a study to confirm it has adequate power, and presentation of a power calculation within the paper demonstrates the ability of the study to detect clinically or biologically meaningful effects.

Details should be provided on selection criteria, whether data were collected prospectively or retrospectively, and any exclusions or losses to follow-up that might affect the study population. Information on subject characteristics in groups being compared should be given for any factors that could potentially bias the comparison of the groups; such information is often best presented in a tabular format in which the groups are in adjacent columns. If the study was randomized, details of the randomization procedure should be included.

Measures of variation should be included for all important results. When means are presented, the standard deviation or the standard error of the mean should also be given, and it should be clear which of these two measures is being quoted. When medians are given, measures of variation such as the interquartile range or overall range should also be included. Estimates of differences, e.g. between two means being compared, should be provided with 95% confidence limits to aid the reader and author to interpret the results correctly. Note that estimation of the size of effects, e.g. treatment or prognostic factor effects, is as important as hypothesis testing.

Statistical procedures should be described and referenced for all p-values given, and the values from which they were derived should be included. The validity of statistical procedures should also be confirmed, e.g. the t-test requires normal distribution(s) in the basic data and the test is not valid when the expected numbers in cells are less than 5. Data may sometimes be transformed, e.g. using a log or square root transformation, to achieve normality. Non-parametric tests should be used when the conditions for normality are not met. It should be noted, however, that the Wilcoxon signed rank test (the non-parametric equivalent of the paired t-test) is semi-quantitative. If more than two groups are being compared then an analysis of variance should be performed before undertaking comparisons of pairs of groups. You are advised to seek the help of a professional statistician if you are uncertain of the appropriateness or interpretation of statistical methods.

Analysis of repeated measurements on the same subject can give rise to spurious results if comparisons are made at a large number of different time points. It is frequently preferable to represent each subject's outcome by a single summary measure chosen for its appropriateness. Examples of such measures are the area under the curve, the overall mean, the maximum or minimum, and the time to reach a given value. Simple statistics can then be applied to these summary measures.

The results of the evaluation of a test procedure should state clearly the criteria used to define positivity, and the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value should all be quoted together with their 95% confidence limits.