



UFMG
2014 ICROBIOLOGIA
MESTRADO PROFISSIONAL



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL
EM MICROBIOLOGIA APLICADA**

Gabrielle Cristina Figueiredo da Silva

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS COMO MODELO DE TESTAGEM DA
EFICÁCIA DAS MÁSCARAS UTILIZADAS EM SALA DE AULA DE
CURSO DA SAÚDE EM BELO HORIZONTE – MG**

Belo Horizonte

2023

GABRIELLE CRISTINA FIGUEIREDO DA SILVA

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS COMO MODELO DE TESTAGEM DA
EFICÁCIA DAS MÁSCARAS UTILIZADAS EM SALA DE AULA DE
CURSO DA SAÚDE EM BELO HORIZONTE – MG**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientadora: Prof. Dra. Jordana G. A. Coelho dos Reis – UFMG.

Co-orientadora: Prof. Dra. Cristiane Corrêa – Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais.

Belo Horizonte

2023

043

Silva, Gabrielle Cristina Figueiredo da.

Staphylococcus aureus como modelo de testagem da eficácia das máscaras utilizadas em sala de aula de curso da saúde em Belo Horizonte – MG [manuscrito] / Gabrielle Cristina Figueiredo da Silva. – 2023.

80 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof. Dra. Jordana G. A. Coelho dos Reis. Co-orientadora: Prof. Dra. Cristiane Corrêa.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia aplicada.

1. Microbiologia. 2. Pandemia. 3. Staphylococcus aureus. 4. Máscaras. I. Reis, Jordana Graziela Alves Coelho dos. II. Corrêa, Cristiane. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 579



Documento assinado eletronicamente por **Jordana Graziela Alves Coelho dos Reis, Membro de comitê**, em 23/05/2023, às 10:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Estefânia Mara do Nascimento Martins, Usuário Externo**, em 24/05/2023, às 16:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2322718** e o código CRC **D5E64E94**.

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado foi possível ser concluída por meio da ajuda de tantas pessoas especiais, as quais devo meus agradecimentos.

Aos meus pais, Leandro e Dirmênia, que me ensinaram e instruíram no caminho da educação e ensino de qualidade. As minhas irmãs e minha avó pela compreensão nos momentos difíceis, as quais entenderam minha ausência durante a realização desse trabalho e me apoiaram. Ao meu noivo Gabriel pelo apoio e compreensão durante esse período, no qual, ele também estava enfrentando como mestrando, sua ajuda foi essencial para mim.

Desejo igualmente agradecer a pessoa que me permitiu vivenciar essa experiência e contribuiu ativamente para que eu pudesse concluí-la, minha co-orientadora e coordenadora Doutora Cristiane R. Corrêa. Você fez a diferença na minha carreira. À minha orientadora Doutora Jordana Reis, que me direcionou no projeto e me ensinou muito como aluna. Eu aprendo muito com vocês. À professora Erna Geessien Kroon que me auxiliou nas correções dessa dissertação e ao Curso de Mestrado Profissional da UFMG que proporcionou essa oportunidade.

À Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais, que contribuiu com os recursos disponíveis para que eu pudesse colocar em prática o projeto de mestrado e alcançar os resultados obtidos nessa dissertação.

À minha amiga Suzy Oliveira pelo incentivo e por mergulhar nessa experiência ao meu lado, ela na UFOP, eu na UFMG. Agradeço igualmente aos meus amigos Lucas Vilela e Cinthia Fany, pelo apoio e ajuda nas revisões dessa dissertação.

Aos meus colegas de laboratório pelas reuniões e parcerias. Especialmente ao Caio Wilker pelas orientações e ensinamentos.

Agradeço a Deus por ter me direcionado ao lugar certo no tempo devido, pelo desejo e força que colocou em meu coração de começar e findar mais uma etapa em minha trajetória. Obrigada, Senhor.

RESUMO

Neste estudo, foi avaliada a eficácia das máscaras como barreira de proteção contra gotículas e respingos que pudessem conter diferentes agentes patogênicos. Para tal, um modelo empregando *Staphylococcus aureus* foi utilizado para a avaliação de eficácia das máscaras. Neste modelo foram quantificadas bactérias que podem ser veiculadas por perdigotos sob duas condições: com a utilização das máscaras e sem a utilização da máscara pelos voluntários participantes. Foram testados três tipos de máscaras: máscara de tecido, cirúrgica e PFF-2. Foram selecionados 40 voluntários que se posicionaram a uma distância de 30 centímetros da placa contendo meio de cultura ágar manitol e durante 60 segundos, de forma padronizada, pronunciaram palavras frontalmente para a placa utilizando a máscara, e em seguida, sem o uso da mesma. Foi realizado a contagem de micro-organismos e a eficácia do controle microbiano dos três tipos de máscaras. As colônias coletadas no meio ágar manitol, foram coradas pela técnica de Gram e foram feitos os testes bioquímicos da catalase, DNase azul de toluidina, teste da coagulase e o antibiograma. Foi observado que a utilização de máscara, mesmo que seja de tecido, é mais eficaz como barreira de proteção contra diferentes micro-organismos patogênicos, do que não utilizar nenhuma máscara ou peça filtrante. Houve diferença significativa na filtragem dos três modelos utilizados pelos voluntários desse estudo, sendo que a máscara de tecido foi a que menos filtrou as micro gotículas emitidas pelos voluntários nas placas, sendo mais efetiva apenas para a prática sem máscara, na qual houve o maior número de colônias crescidas e também as colônias que mais se mostraram positiva nos testes bioquímicos realizados. A máscara cirúrgica se mostrou uma barreira eficaz, filtrando a maior parte das micro gotículas e atingindo um nível baixo de colônias crescidas nas placas. E por fim, a PFF-2 se mostrou uma excelente barreira frente as micro gotículas, filtrando e bloqueando os possíveis micro-organismos patogênicos que foram expelidos pelos voluntários nas placas.

Palavras-chaves: Pandemia. Máscaras. *S. aureus*.

ABSTRACT

This study evaluated the effectiveness of masks as a protective barrier against droplets and splashes that could contain different pathogens. For this purpose, a model employing *Staphylococcus aureus* was used to evaluate the effectiveness of the masks. In this model, the participating volunteers quantified bacteria droplets under two conditions: with and without masks. Three types of masks were tested: cloth, surgical, and PFF-2. Forty volunteers were selected and positioned at a distance of 30 centimeters from the plate containing the mannitol agar culture medium. For 60 seconds, in a standardized manner, they uttered words facing the plate using the mask and then without using it. A microorganism count and the microbial control efficacy of the three types of masks were performed. The colonies collected on mannitol agar medium were stained by Gram, and the biochemical tests of catalase, toluidine blue DNase, coagulase test, and antibiogram were performed. It was observed that the use of a mask, even if it is made of fabric, is more effective as a protective barrier against different pathogenic microorganisms than not using any mask or filtering piece. There was a significant difference in filtering the three models used by the volunteers in this study. The cloth mask was the one that least filtered the microdroplets emitted by the volunteers on the plates, just being more effective to the practice without a mask, in which the highest number of grown colonies and the colonies that were most positive in the biochemical tests performed. The surgical mask proved an effective barrier, filtering most of the microdroplets and reaching a low level of colonies grown on the plates. Moreover, finally, the PFF-2 proved to be an excellent barrier against the microdroplets, filtering and blocking the possible pathogenic microorganisms expelled by the volunteers on the plates.

Keywords: Pandemic. Masks. *S. aureus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Camadas de tecido não tecido (TNT) em uma máscara cirúrgica	18
Figura 2: Etapas de fabricação de uma máscara cirúrgica.....	19
Figura 3: Etapas de fabricação de uma máscara cirúrgica.....	20
Figura 4: Fluxograma das etapas bioquímicas.....	35
Figura 5: Análise microbiológica quantitativa das amostras coletadas nas placas de ágar manitol.	41
Figura 6: Placa de ágar manitol evidenciando a fermentação do manitol.	45
Figura 7: Número de colônias que fermentaram e não fermentaram o meio de cultura de acordo com as máscaras utilizadas	47
Figura 8: Análise das colônias identificadas na coloração de Gram.....	48
Figura 9: Colônia em lâmina positiva para o teste da catalase.....	49
Figura 10: Número de UFC catalase positiva (+) e catalase negativa (-) de acordo com as máscaras utilizadas.....	50
Figura 11: Semeadura das colônias no meio DNase azul de toluidina.....	53
Figura 12: Análise das UFC que hidrolisaram o meio de cultura DNase.....	54
Figura 13: Coágulo formado no plasma de coelho.....	55
Figura 14: Análise das UFC no teste da coagulase.....	56
Figura 15: Placas de ágar MH contendo os antimicrobianos.....	57
Figura 16: Análise dos halos dos antibiogramas dos voluntários sem a utilização de máscara e com máscara de tecido.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL: Microlitro

µm: Micrômetro

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DNase: Desoxirribonuclease

EPI: Equipamento de Proteção Individual

FFR: Reserva de Fluxo Fracionado

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

mL: Mililitro

MERS: Síndrome Respiratória do Oriente Médio

MRSA: *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina

MS: Ministério da Saúde

MH: Mueller Hinton

nm: Nanômetros

OMS: Organização Mundial de Saúde

PFF: Peça Facial Filtrante

PBP: Proteína de Ligação à Penicilina

SARS: Síndrome Respiratória Aguda Grave

TCLE: Termo de Consentimento Livre Esclarecido

TNase: Termonuclease

TNT: Tecido Não Tecido

UFC: Unidade Formadora de Colônia

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 A incidência de SARS-CoV-2 e a iniciativa de medidas de prevenção na pandemia	12
1.2 Máscaras como medidas de prevenção e proteção facial.....	15
1.3 Modelos de estudos utilizados para avaliação da eficácia e filtragem de máscaras de proteção facial	23
1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	24
1.5 <i>S. aureus</i> : fatores de virulência e resistência à antimicrobianos	25
2. JUSTIFICATIVA.....	30
3. OBJETIVO.....	32
3.1 Objetivos específicos.....	31
4. METODOLOGIA.....	33
4.1 População de estudo.....	33
4.2 Avaliação da eficácia das máscaras.....	33
4.3 Análise microbiológica quantitativa.....	34
4.4 Análise microbiológica qualitativa	34
4.4.1 Coloração de Gram	36
4.4.2 Teste da Catalase	37
4.4.3 Teste DNase	37
4.4.4 Teste da Coagulase	37
4.4.5 Antibiograma	38
4.5 Análise estatística.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.5 Análise microbiológica quantitativa e qualitativa	40
6. CONCLUSÃO.....	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
8. ANEXOS	70
CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	76

1. INTRODUÇÃO

1.1 A incidência de SARS-CoV-2 e a iniciativa de medidas de prevenção na pandemia

Em dezembro de 2019, começaram a surgir diversos casos de pneumonia viral na Ásia Ocidental causada por um vírus da família *Coronaviridae* (ZHU et al., 2020). Os vírus desta família foram descritos pela primeira vez em 1960, sendo os maiores vírus de RNA fita simples, esféricos e encapsulados. O nome é devido a proteína S, que faz com que o vírus apresente espículas em sua superfície produzindo uma estrutura com aparência de coroa. Além disso, essa mesma proteína determina o tropismo celular do micro-organismo e sua fusão com as células do hospedeiro. Os vírus dessa família possuem um genoma de RNA variando de 26 a 32 quilobases (kb) (WANG et al., 2019).

Os primeiros relatos da nova doença surgiram em Wuhan na China (CAPONE, 2020). Em janeiro de 2020 o coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), conforme descrito pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), foi isolado, sequenciado e identificado como pertencente ao gênero *Betacoronavirus*, subgênero *Sarbecovirus*, família *Coronaviridae* subfamília *Orthocoronavirinae*, ordem *Nidovirales* (TANG et al., 2020; WU et al., 2020).

O SARS-CoV-2 é o sétimo vírus já identificado dessa família a causar doenças em humanos e o terceiro a causar uma epidemia; os primeiros originaram a síndrome respiratória aguda grave (SARS) e a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS). Com o surto da nova doença as pesquisas foram direcionadas aos casos de enfermidades que ocorreram no passado envolvendo as síndromes respiratórias relacionadas a família *Coronaviridae* (WANG et al., 2019).

Em 2003, na China, foi descrita a síndrome respiratória aguda grave que se disseminou pelo mundo. Na época foi denominada como SARS-2003 uma doença ocasionada também por vírus do gênero *Betacoronavirus*, transmitida por gotículas de saliva ou por meio do contato com superfícies infectadas (WANG et al., 2019). De acordo como a Organização Mundial de Saúde (OMS), a SARS foi a primeira nova doença grave e com alto nível de transmissibilidade que surgiu no século XXI (OMS,

2020). Em 2012 surgiu outro surto de um novo coronavírus no Oriente Médio, com sintomas e características semelhantes ao vírus identificado em 2003. Seu primeiro registro ocorreu na Arábia Saudita e posteriormente em outros países do Oriente Médio e devido à localização dos casos registrados a doença passou a se chamar síndrome respiratória do Oriente Médio (ZHONG et al., 2003).

No dia 20 de janeiro de 2020 a OMS relatou os primeiros surtos da doença causada pelo SARS-CoV-2, em 4 países foram relatados 282 casos e 6 mortes pela doença, sendo que desse total de casos, 272 eram de Wuhan na China (ESTELLITA et al., 2020). Perante a situação, em 30 de janeiro de 2020 a OMS emitiu um alerta emergencial de saúde pública e de interesse internacional adotando procedimentos rigorosos de quarentena e aferimento de temperatura. A doença foi caracterizada pela rápida transmissão e por infectar um alto número de pessoas, tanto as imunocomprometidas quanto as saudáveis.

Pacientes com infecção por SARS-CoV-2 grave necessitaram de internação em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e de ventilação mecânica (FELDMAN et al., 2021). Conforme o número de infecções causadas pelo SARS-CoV-2 expandia diversos países foram afetados economicamente e socialmente pela doença como a China, Itália, Estados Unidos (EUA) e Espanha. Por fim, no dia 11 de março de 2020, a OMS declarou pandemia de COVID-19 (ESTELLITA et al., 2020).

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde (MS) (2020), o primeiro caso registrado de COVID-19 ocorreu no dia 26 de fevereiro de 2020 em São Paulo. Com o decorrer dos meses a transmissão do coronavírus se disseminou rapidamente pelos estados brasileiros e causando diversos sintomas e sequelas nos indivíduos acometidos. A infecção que parecia estar controlada no início da pandemia, chegou ao final do ano de 2020 com mais de 142 mil mortes. O epicentro da doença teve início no estado de São Paulo, logo depois no Amazonas, Ceará, Pernambuco, Minas Gerais e Rio de Janeiro (BRASIL, 2020).

O MS (2020) relatou que a Região Sudeste apresentou o maior número de casos devido a seguida pela região Nordeste, Norte, Sul e por último, Centro-Oeste. As regiões Norte e Nordeste foram as mais afetadas, devido à escassez de fármacos e insumos, falta de estrutura nos hospitais, escassez de leitos para internação, além da diferença socioeconômica da população dessas regiões em relação as demais no restante do país (SOUZA et al, 2021).

Os países receberam autonomia para lidar com a pandemia de acordo com

suas necessidades, utilizando do conhecimento e hipóteses levantadas por suas vigilâncias epidemiológicas. Algumas das medidas de enfrentamento adotadas pela maioria dos países foram: realização de testes diagnósticos; mudança de comportamento populacional, distanciamento social e outras medidas governamentais (HOUVÈSSOU et al., 2021).

Dentre as intervenções para minimizar a transmissão do vírus foi priorizado a lavagem das mãos, distanciamento social, utilização de máscaras respiratórias e desinfecção de superfícies e objetos (KUCHARSKI et al., 2020).

Nesse contexto a OMS solicitou que a população utilizasse máscaras faciais, com o intuito de conter a propagação do vírus. Em alguns países e cidades o uso de máscaras foi obrigatório dentro de supermercados, farmácias, hospitais e outros estabelecimentos. Em alguns países, por determinado período, houve proibição do funcionamento de locais que não eram essenciais para população, como academias e lojas de comércio. Com o avanço da pandemia escolas e universidades também foram fechadas (OTERO et al., 2020).

No Brasil, à medida que a taxa de transmissão crescia no país, aliada com a ausência de imunidade prévia da população, os casos mais graves de infecção pela COVID-19 aumentavam, houve a necessidade de adotar medidas de contenção e prevenção contra a transmissão de SARS-CoV-2 (KUCHARSKI et al., 2020). Com isso, o Supremo Tribunal Federal atribuiu aos estados, municípios e ao Distrito Federal o poder de escolha e decisão no que se refere às medidas de distanciamento social. Diferente de outros países, de modo geral o lockdown não foi adotado, havendo apenas alguns municípios que aderiram ao confinamento parcial, de acordo com a necessidade local e o número de infectados (SILVA et al., 2020).

Tendo isso em vista, o MS (2020), divulgou sua orientação com a Nota Informativa nº 3/2020-CGGAP/DESF/SAPS/MS para que aqueles que tivessem condições fabricassem suas próprias máscaras de proteção facial. Assim, desde o mês de abril de 2020, o MS passou a sugerir o uso de máscaras caseiras, feitas de diferentes tecidos, com o propósito de conter à disseminação do vírus (ANVISA, 2020).

Diante disso, a utilização das máscaras na pandemia foi uma das principais medidas de prevenção utilizadas pelo Ministério da Saúde e pelo governo dos países, sendo que em alguns estados, o seu uso passou a ser obrigatório para a população. Apesar do constante uso da máscara ter ocorrido devido a propagação do

coronavírus, nos dias atuais, pós-pandemia, onde a utilização da máscara não é mais obrigatória, é possível encontrar em alguns espaços, públicos e privados, com maior aglomerado de pessoas, como em ônibus, hospitais, escolas e em espaços fechados, indivíduos que ainda fazem uso da mesma.

Essa prática é realizada principalmente por idosos e por indivíduos inunocomprometidos, com o intuito de prevenir sua saúde e conter diferentes tipos de doenças que podem ser transmitidas por meio da fala, espirro ou tosse. A máscara, que também é um equipamento de proteção individual (EPI), passou a ser um dos principais mecanismos de prevenção no enfrentamento de diferentes patógenos que podem ser propagados através de micro gotículas de saliva pela população.

1.2 Máscaras como medidas de prevenção e proteção facial

A utilização de EPI surgiu como forma de prevenção e proteção aos indivíduos que trabalham na área da saúde, visando a minimização da propagação de micro-organismos, redução de acidentes ocupacionais e a correta manipulação de agentes biológicos (STANGANELLI et al., 2015). Os EPIs destinados à área de saúde são compostos por: máscara cirúrgica, óculos de proteção ou protetor facial, avental impermeável de mangas longas e luvas de procedimento (ANVISA, 2020).

Na pandemia da COVID-19 a OMS estabeleceu que, além da higienização pessoal e respiratória, EPIS deveriam ser utilizados como barreira mecânica a fim de evitar a transmissão da doença pela população. A principal orientação para impedir a dispersão de gotículas entre um indivíduo e outro foi o uso de máscaras cirúrgicas ou equivalentes (OMS, 2020).

As pesquisas demonstram que a mucosa conjuntiva, nasal e também a boca são vias de penetração para possíveis micro-organismos. As proteções faciais e respiratórias funcionam como barreira física para filtrar partículas transportadas pelo ar ao cobrir nariz, boca e queixo, sendo dessa forma efetivas na limitação da transmissão de possíveis agentes patogênicos (GIRARDI et al., 2020).

Há diferenças entre os veículos de transmissão de doenças por meio do trato bucal e respiratório. Salpicos e gotículas tendem a ser veículos relativamente eficientes quando se trata de propagar grande número de micro-organismos por meio de uma distância curta entre um indivíduo e outro. As partículas, no entanto, necessitam de proximidade durante o período de exposição e dispersão, além de contar com a susceptibilidade do indivíduo que a está recebendo. Este veículo tem

grande potencial de penetração em nível alveolar (COIA et al., 2013).

Os dados obtidos por Coia e colaboradores (2013) revelam que as partículas que possuem dimensões inferiores a 5 µm, têm capacidade para se manter suspensas no ar e percorrer certas distâncias. As gotículas que possuem diâmetro entre 5 e 100 µm, após serem dispersas pelo ar, em poucos segundos estão sujeitas às forças gravitacionais. Já os salpicos com dimensão superior a 100 µm, após serem expelidas não permanecem por longo período dispersas no ar.

Um estudo feito por Ma e colaboradores (2020) simulou duas infecções virais, a de SARS-CoV-2 e de Influenza vírus A, ambos os vírus têm morfologia esférica, são polimórficos e possuem capsídeo e diâmetro com cerca de 80 a 120 nm. Os autores observaram que com o emprego da máscara N95 houve retenção de 99,9% de partículas virais, enquanto na máscara cirúrgica a retenção foi de 97,1% de partículas. Utilizando a máscara caseira houve retenção de 95,1%.

Atualmente, existem diferentes tipos de filtros em respiradores de proteção, mas para que o desempenho dos filtros possa estar de acordo com sua utilização, existem critérios como a eficiência, capacidade de retenção de partículas e perdas eletrostáticas com o tempo de uso (PASTORE et al., 2009).

A capacidade de retenção de partículas de um filtro é resultado da massa de partículas que consegue reter até que haja alteração em sua eficiência ou até que ele atinja sua perda máxima de cargas. As perdas de cargas são consequência do escoamento de fluidos provenientes do extravasamento do ar através do filtro, levando à alteração na pressão estática da máscara (FERREIRA, 2018).

Os respiradores, denominados como peça facial filtrante (PFF) são EPIs projetados para filtrar partículas transportadas pelo ar e contém alto desempenho de filtragem, que transcorre por meio de microfibras de polipropileno tratadas eletrostaticamente, os mais conhecidos são: PFF-1, PFF-2, PFF-3, N99 e N95 (LEACHI et al., 2020).

Aos profissionais que dão assistência à pacientes infectados e que estão envolvidos em procedimentos que podem gerar aerossóis, aspiração traqueal, tosse, intubação, ventilação invasiva e não invasiva, ventilação manual antes da intubação, coletas de amostras naso-traqueais e indução de escarro é indicada a utilização de máscaras de proteção respiratória N95 ou PFF2 (OLIVEIRA et al., 2020).

Os respiradores com classificação PFF-2 e N95 seguem as normas brasileiras ABNT/NBR 13698:1996 e americana, respectivamente e apresentam eficiência

mínima de filtração de 95%. Portanto, ambos os respiradores apresentam níveis de proteção equivalente (SICKBERT-BENNETT et al., 2020).

A ANVISA (2020) destaca que respiradores podem ser utilizados mais de uma vez, no entanto, se houver enodado, rasgado, amassado ou umedecido, a sua integridade pode ter sido comprometida. Para que os respiradores sejam de fato eficazes é necessário seguir as recomendações do fabricante quanto à manipulação e ao armazenamento, sendo que ela deve estar ajustada à face no contorno do nariz, não podendo ser compartilhada de maneira alguma.

No período da pandemia da COVID-19, algumas universidades brasileiras, alinhadas com suas pesquisas e com as recomendações da ANVISA e da OMS, publicaram os protocolos e recomendações para o manuseio e utilização desses respiradores para que o indivíduo que o manipula não se contamine com partículas virais. Como exemplo de protocolo de manipulação e armazenamento pode-se citar o da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP): previamente é feita a remoção dos elásticos laterais sem tocar a superfície interna da máscara, e se possível, não tocar a superfície externa da máscara, no entanto, caso isso ocorra deve-se higienizar à mão imediatamente. Os lugares sugeridos para acondicionar os respiradores devem ser no envelope de papel com os elásticos para fora, a fim de facilitar a retirada da máscara para usar novamente, a utilização de saco plástico para guardar a máscara pode fazer com que a mesma permaneça úmida e potencialmente contaminada, já que quando úmidas, perdem sua capacidade de filtração (UNESP, 2021).

Outra proteção fácil que é amplamente utilizada nos hospitais, mas com o avanço da pandemia passou a ser comercializada e consumida em larga escala pela população, são as máscaras cirúrgicas (STRASSER et al., 2020).

Através das máscaras cirúrgicas é possível reduzir a ocorrência de infecções em ambiente hospitalar, protegendo os profissionais da saúde, contra gotículas e respingos que possam conter agentes infecciosos. Trata-se de um EPI de uso individual e descartável (GIRARDI et al., 2020; PARENTE et al., 2021). De acordo com a OMS (2020) a utilização das máscaras cirúrgicas também é necessária para pacientes acometidos de doenças respiratórias e infecções virais.

As máscaras cirúrgicas são constituídas de três a quatro camadas de TNT ("*spunbond-meltblown-spunbond*", ou seja, tecidos não tecidos), seguindo a orientação da ABNT NBR 15.0524. A camada externa é formada de polipropileno.

Essa camada é composta por substâncias que à tornam impermeável, sendo assim, uma camada hidrofóbica. A camada intermediária é um não-tecido filtrante também feito de polipropileno. Por fim, a camada interna que é confeccionada de polipropileno e é composta por substâncias que à tornam hidrofílica (YAM et al., 2020).

Por isso, camada externa que é hidrofóbica é menos propensa a reter partículas do meio externo, e aquelas que ultrapassam essa camada, vão ao encontro da camada intermediária que pode reter e conter essa partícula. A camada interna da máscara, que fica em contato direto com as microgotículas do indivíduo, tem sua camada hidrofílica, fazendo com que as partículas de saliva não extravasem da máscara, mas sejam absorvidas por ela. Esses constituintes da máscara cirúrgica resultam em uma barreira filtrante (YAM et al., 2020).

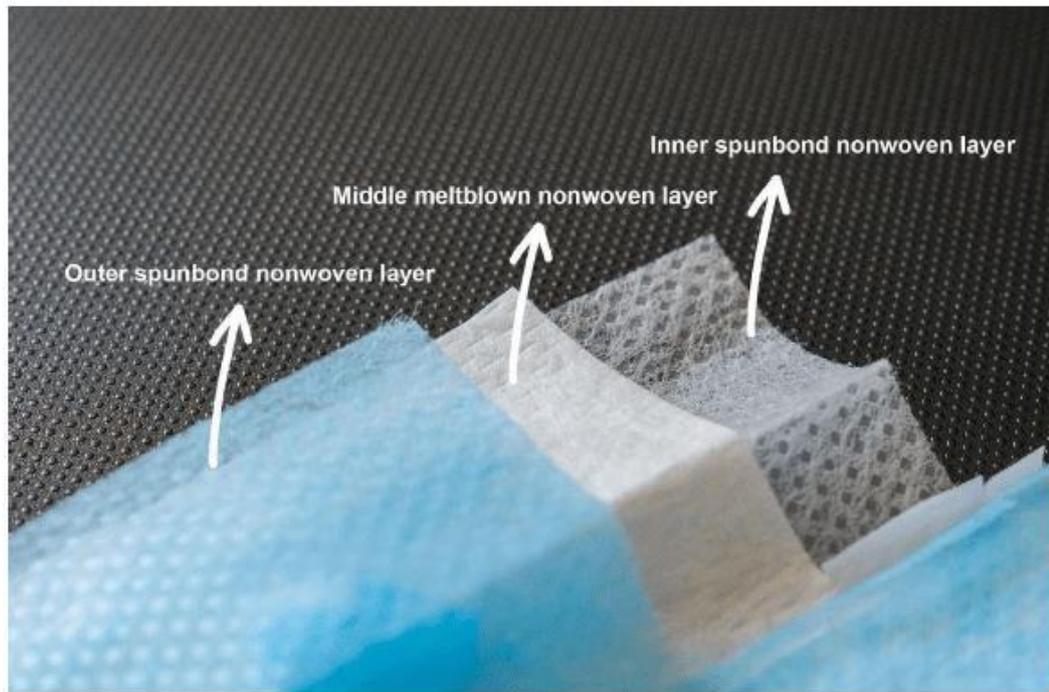


Figura 1: Camadas de tecido não tecido (TNT) em uma máscara cirúrgica. A tripla camada de uma máscara cirúrgica do tipo *spunbond-meltblown-spunbond*. A-camada externa não tecido; B- camada média de não tecido fundido, C- camada não-tecido interna.

Fonte: Adaptado de Yam et al (2020).

O polipropileno *spunbond* que compõe a camada interna é feito de polímeros extrudados, formando uma teia que deriva de finos fios de filamento de polipropileno. A folha do tecido passa pela colagem de calandra, mecanismo utilizado no processo de fabricação e que afeta as propriedades da folha do tecido (YAM et al., 2020). Essa

folha é então comprimida e tratada termicamente, conforme observado na figura 2.

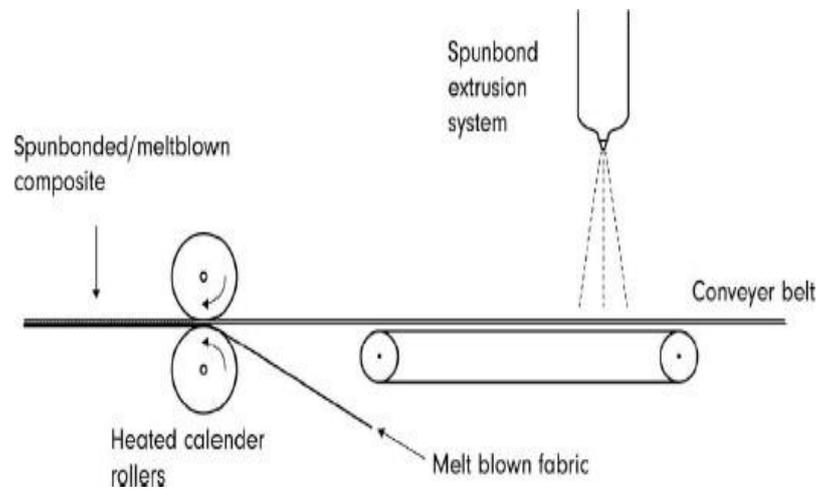


Figura 2: Etapas de fabricação de uma máscara cirúrgica. O polipropileno é extrudado através da fieira rotativa. Múltiplas fibras são colocadas em camadas, e em seguida recebem tratamento aquecido por compressão por meio de um processo chamado calandragem.

Fonte: Adaptado de Yam et al (2020).

A segunda camada de polipropileno fundido é feita por meio de fluxos de ar quente de alta velocidade, isso ocorre para extrudar os polímeros de polipropileno em filamentos ainda mais finos, assim, enquanto os filamentos se sobrepõem, o tecido engrossa para formar a camada filtrante (YAM et al., 2020), conforme demonstrado na figura 3.

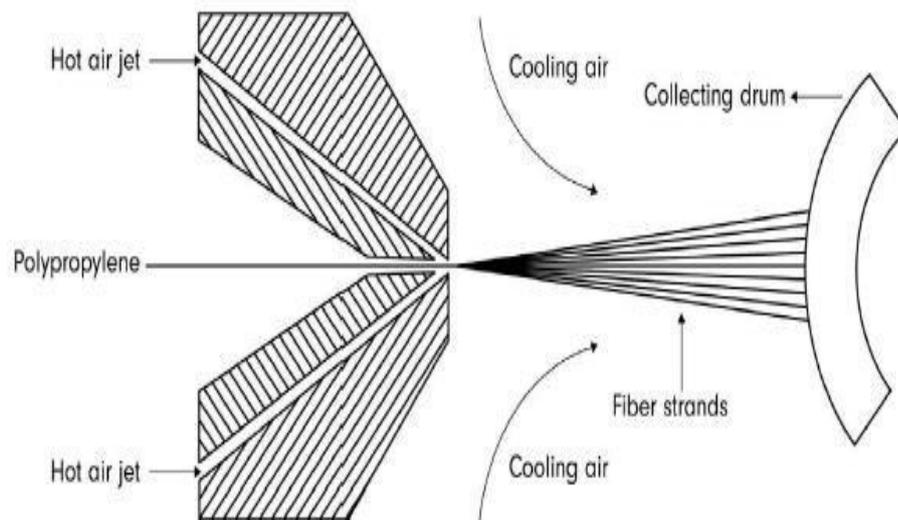


Figura 3: Etapas de fabricação de uma máscara cirúrgica. Jatos de ar quente são usados para extrudar o polipropileno em fios finos de fibra. As fibras são então colocadas em um tambor rotativo formando uma folha de tecido não tecido.

Fonte: Adaptado de Yam et al (2020).

Desse modo, o tecido spunbond e o tecido fundido se complementam, pois o primeiro possui boa resistência e durabilidade, resistindo à umidade e temperatura, e o segundo, excelente propriedade de filtragem, absorção e barreira, devido à sua fibra ser menor e haver a sobreposição desses dois tecidos (YAM et al., 2020).

Estudos feitos por Ma e colaboradores (2020) já demonstraram a eficiência das máscaras cirúrgicas como barreira efetiva contra o vírus Influenza A. Devido à semelhança desses vírus em termos estruturais com o SARS-CoV-2 é recomendado seu uso para a redução da transmissão de COVID-19 em paciente suspeitos ou diagnosticados. Os autores demonstraram em suas pesquisas que em relação ao tecido poliéster, a máscara cirúrgica barrou 97,14% das partículas virais, enquanto a máscara caseira 95,15%.

Sendo o SARS-CoV-2 um vírus de alta patogenicidade humana e rápida transmissão, o MS (2020) recomendou que as máscaras cirúrgicas e N95 fossem priorizadas para os profissionais da saúde durante a assistência médica. No entanto, com a alta disseminação da pandemia ocorreu a escassez de máscaras faciais em nível internacional, devido ao fato de a produção do item não ter conseguido acompanhar o consumo.

Diante desse cenário de escassez do EPI, as máscaras de tecido surgiram como alternativa do MS para suprir a demanda de máscaras para a população em geral. O MS, atuando de forma preventiva, divulgou sua orientação com a Nota Informativa nº 3/2020-CGGAP/DESF/SAPS/MS, sugerindo a produção de máscaras caseiras para o uso da população, exceto, no caso de indivíduos acometidos de síndrome/doença gripal. Diante disso, diferentes tipos de tecidos e modelos foram utilizados para produção de máscaras (BRASIL, 2020). As máscaras caseiras, não são profissionais e não seguem nenhum padrão, mas foram cruciais para controlar a contaminação da população (MORAIS et al., 2021).

Devido a sua capacidade de reter gotículas maiores, as máscaras de tecido conseguem diminuir a capacidade de dispersão de gotículas contendo micro-organismos. No entanto, elas têm uma eficácia menor quando comparado a máscara que é utilizada no EPI, pois possui baixa taxa de filtração, acumulam umidade (especialmente as máscaras de algodão, por se tratar de material hidrófilo) e não se encaixam exatamente no contorno do rosto. Entretanto, elas ainda são comprovadamente passíveis de diminuir a contaminação, tendo algumas vantagens em cima das demais, como baixo custo, reutilização e facilidade de uso (YAM et al., 2020; MORAIS et al., 2021).

Alguns autores relatam que a eficácia desse tipo de máscara pode aumentar dependendo do material que a compõe. Por isso é necessário utilizar materiais resistentes a água para a camada externa da máscara, além do uso de um tecido firme que contém fibras, a correta adequação do formato da máscara ao rosto e a lavagem diária da mesma (VAN DER SANDE et al., 2008).

Estudos mostraram que os tecidos de seda natural, chiffon e algodão conseguiram garantir proteção acima de 50% como barreira física para partículas entre 10 μm e 6 μm . A junção de materiais como fibras de algodão e seda, algodão e chiffon ou algodão e flanela, tornam-se eficientes pois aproveitam as propriedades de filtração mecânica e eletrostática. No entanto, os autores relatam que materiais de alta elasticidade deve ser evitado, pois conforme o tecido se estica, o tamanho do poro pode aumentar, permitindo a passagem de algumas partículas, dependendo do seu tamanho (VAN DER SANDE et al., 2008).

Sobre os pacientes com COVID-19, em nota técnica do MS do Brasil GVIMS/GGTES/ANVISA nº 04/2020, especificou quando utilizar as máscaras de tecido dentro dos serviços de saúde. Sendo elas: pacientes assintomáticos, visitantes

ou acompanhantes, profissionais que atuam nas áreas administrativas, como na recepção de hospitais, dos quais não tenham contato direto com os pacientes e

mantenham uma distância segura de pelo menos 1 metro, profissionais de saúde ou mesmo apoio (BRASIL, 2020).

Atualmente, ainda há poucos estudos clínicos randomizados para avaliar a capacidade de filtração das máscaras de tecido e que tenha como objetivo diminuir infecções respiratórias (ARARUNA et al., 2021). Ainda que sejam encontrados poucos estudos sobre a eficiência da máscara de tecido, dados existentes como o de Davies e colegas (2013) observaram que os materiais com maior poder filtrante eram os filtros de aspiradores de pó e toalhas, porém eles dificultavam a respiração, fazendo com que os materiais escolhidos tivessem menor ação de filtragem, mas com facilidade para respiração, os quais foram os tecidos de travesseiro (pillowcase) e o algodão 100% (cotton).

As características das máscaras de tecido, feitas com algodão e malha, apresentaram baixo potencial de filtração e os processos de lavagem e reutilização aumentaram o risco de contaminação e a retenção de umidade na superfície dessas máscaras (MACLNTYRE et al., 2015)

MacIntyre e colaboradores (2015), realizaram um ensaio em um hospital no Vietnã, onde grupos foram avaliados de acordo com o tipo de máscara utilizado, cirúrgica e tecido, que pode ser algodão ou malha. A pesquisa demonstrou que no grupo que utilizou máscaras de tecido o número de infecções foi significativamente maior, quando comparado aos demais grupos. A penetração de partículas virais em máscaras de tecido foi de quase 97% e em máscaras cirúrgicas de 44%. Os autores concluíram que algumas características das máscaras de tecido prejudicavam sua eficiência, como o baixo potencial de filtração, dependendo do tipo de material do qual a máscara era feita; aos processos de lavagem e reutilização, podendo aumentar o risco de contaminação; e a retenção de umidade na superfície dessas máscaras.

Araruna e colaboradores (2021) descrevem que as máscaras de tecidos são eficientes quando comparados a nenhuma utilização de proteção facial, ou mesmo quando máscaras do tipo cirúrgicas são utilizadas de forma incorreta ou reutilizadas por muito tempo. No entanto, a mesma autora ressalta que a viabilidade das máscaras de tecido está condicionada a diversos fatores, tais como a construção e o tipo de material empregado na fabricação, o número de camadas, ajuste na face, o cuidado na utilização e no manuseio, bem como os processos de higienização e

comportamentos sociais.

1.3 Modelos de estudos utilizados para avaliação da eficácia e filtragem de máscaras de proteção facial

Pesquisas utilizando modelos de testagem como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e SARS-CoV-2 para avaliação da eficácia de filtragem de diferentes máscaras de proteção facial e também da eficácia de descontaminação das mesmas podem ser encontrados na literatura.

Em estudo experimental, Pascoe e colaboradores (2020) avaliou a eficácia de descontaminação das máscaras N95 contaminadas por *S. aureus* por meio de teste de filtração e de integridade visual. Para a descontaminação do EPI foi utilizado o calor seco e vapor gerado por forno micro-ondas. Estes métodos foram eficientes na diminuição de 99% da contaminação por *S. aureus*, no entanto houve perda de 50% na eficiência de filtração da máscara N95.

Heimbuch e colegas (2014) avaliaram a capacidade de produtos de limpeza comercializados para higienizar peças faciais filtrantes (PFF) contaminadas com aerossóis de mucina ou *S. aureus*. Três modelos de FFRs N95 cirúrgicos foram contaminados com aerossóis de mucina ou *S. aureus* viável e depois limpos com hipoclorito, cloreto de benzalcônio ou lenços não antimicrobianos. Após a limpeza, os PFF foram separados em componentes. O desempenho da filtração foi avaliado em relação às PFF limpas. Foram observadas que as PFF limpas com lenço contendo cloreto benzalcônico tiveram grande eficácia na eliminação de *S. aureus*.

Escherichia coli também é apontada como modelo para a avaliação da eficácia de descontaminação de máscaras, pois ZHAO e colaboradores (2020), por meio de estudo experimental, analisaram a manutenção do desempenho da filtração de máscaras N95 contaminadas por *E. coli*, após utilizar calor seco, observou-se que houve a diminuição de 99% de contaminação de *E. coli* na máscara.

As espécies como *S. aureus* e *E. coli* são modelos amplamente utilizados em estudos sobre a eficácia da desinfecção de respiradores e máscaras faciais, pois além de fazerem parte da microbiota residente do ser humano, possuem elevada resistência a antibióticos e métodos de esterilização. Essas espécies possibilitam uma análise comparativa sobre a eficácia de diferentes tipos de máscaras utilizadas como barreira de proteção contra micro gotículas (RODRIGUES, 2022).

Um estudo feito por Davies e colaboradores (2013) examinou máscaras

caseiras de algodão, como uma alternativa às máscaras faciais comerciais, utilizaram como modelo de testagem *Bacillus atrophaeus* (0,95-1,25 µm) e bacteriófago MS2 (23 nm). Foi comparado, por meio de técnica de amostragem de ar, o número de micro-organismos isolados das máscaras dos voluntários. A conclusão foi que nos indivíduos que utilizaram a máscara cirúrgica o bloqueio da transmissão desses micro-organismos foi três vezes maior se comparado àqueles que usaram a máscara caseira.

Neves e colaboradores (2022) realizaram a análise microbiológica das máscaras N95 por 36 horas, mostrou o crescimento de micro-organismos como *Candida ssp*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Para descontaminação de tais itens realizou-se a termo desinfecção por calor úmido à 90°C e calor seco à 70°C por 1 hora. Após a descontaminação não houve o crescimento de micro-organismos.

Diante dessas pesquisas é possível observar que entre as espécies estudadas, o *S. aureus* tem sido amplamente utilizado para testagem da eficácia de filtração de diferentes máscaras e respiradores faciais, devido ao seu potencial de crescimento e colonização em diferentes superfícies, à sua presença na microbiota humana residente, bem como a facilidade e viabilidade na manipulação desse micro-organismo (ZHAO et al., 2020; RODRIGUES, 2022).

1.4 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae*, sendo mencionado pela primeira vez em 1880, pelo cirurgião Alexandre Ogston, em pus de abscessos cirúrgicos (WALSH, 2002). Esse gênero é composto de bactérias em forma de cocos Gram-positivos, não esporulados e geralmente não encapsulados. Os estafilococos possuem semelhança à cachos de uvas, mas podem ser encontrados na forma de cocos isolados em células únicas, em pares ou agrupados irregularmente (ISENBERG, 1998).

A maioria das espécies são aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, sua multiplicação é rápida na maioria dos meios de cultura a 37°C. As colônias em meio sólido são macroscopicamente arredondadas, rugosas e brilhantes, quando semeadas em ágar manitol ele adquire coloração amarelo-ouro devido a fermentação desse meio que contém alta concentração de cloreto de sódio (ISENBERG, 1998).

As espécies desse gênero podem ser classificadas de duas formas: coagulase-positiva e coagulase-negativa. A coagulase-positiva abrange a espécie *S.*

aureus que está relacionada com infecções humanas, comunitárias e hospitalares.

Essa bactéria é reconhecida por sua resistência a alguns antimicrobianos, embora seja susceptível a ação de vários deles também. Atualmente, as bactérias isoladas em humanos tem sido cada vez menos sensível à penicilina (WHITENER et al., 1993). Dentre as 52 espécies conhecidas desse gênero e as 28 subespécies, o *S. aureus* é a espécie mais conhecida e estudada clinicamente (LEE, 2018). Essa bactéria pode ser encontrada em diferentes ambientes, desde aqueles mais frios até os mais secos. Tal gênero é um dos mais dominantes na microbiota da nasofaringe de adultos saudáveis, sendo estes um dos principais reservatórios da espécie em questão (NEOPANE et al., 2018).

As interações de *S. aureus* com os indivíduos podem ser observadas em três formas: portador persistente, portador intermitente e não-portador (CARVALHO et al., 2016). Estima-se que tal espécie coloniza, entre portadores persistentes e intermitentes, um terço da população em geral com prevalência de colonização nasal. No entanto, alguns grupos de indivíduos como profissionais de saúde, apresentam altas taxas de colonização e resistência a antibióticos frente a infecção por *S. aureus* (HORN et al., 2021).

1.5 *S. aureus*: fatores de virulência e resistência à antimicrobianos

Por sua ampla capacidade de adaptação, *S. aureus* sobrevive em diferentes condições ambientais e representa um importante patógeno de doenças infecciosas em seres humanos e animais. Sua capacidade de se adaptar ao indivíduo e causar doenças, é devido aos seus vários fatores de virulência, que promovem adesão aos componentes da matriz extracelular do hospedeiro, danificam suas células e protegem a bactéria do sistema imunológico (NAVARRE et al., 1994).

A adesão de *S. aureus* às proteínas da matriz extracelular do hospedeiro como fibrinogênio, fibronectina e colágeno iniciam a infecção. Essa adesão é mediada por proteínas que estão na parede celular bacteriana, chamadas de componentes da superfície microbiana, que reconhecem moléculas da matriz adesiva (NAVARRE et al., 1994).

De acordo com a literatura, a maior parte dos isolados de *S. aureus* secretam enzimas e citotoxinas, como as toxinas hemolíticas, nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e coagulase. Essas enzimas e citotoxinas utilizam o tecido do hospedeiro como nutrientes necessários para o crescimento bacteriano (DINGES et

al., 2000).

Como apresentado em parágrafos anteriores, umas das enzimas mais conhecidas e que caracteriza o *S. aureus* é a coagulase. Essa proteína reage com a protrombina, convertendo o fibrinogênio em fibrina e ocorre a coagulação do plasma (CUSSOLIM et al., 2021).

Após adesão na célula do hospedeiro, a bactéria em questão sintetiza duas proteínas fibronectina ligantes homólogas: FnbA e FnbB. Ambas têm importância na fase inicial de adesão nos processos de infecção pelo micro-organismo. As fibronectinas são encontradas no hospedeiro na forma solúvel no sangue e na forma fibrosa na matriz celular (NAVARRE et al., 1994).

Os fatores *clumping*, ou fator de agrupamento, abrangem os genes *ClfA* e *ClfB*, o primeiro gene participa de todas as fases de crescimento do *S. aureus*, e o segundo, faz parte do crescimento exponencial em condições anaeróbicas. Além disso, os genes *ClfA* e *ClfB* se ligam ao fibrinogênio e promovem agregação plaquetária (PEACOCK et al., 2002; CLARKE et al., 2006; SPEZIALE et al., 2009).

As toxinas secretadas por *S. aureus* causam a lise de eritrócitos, como é o caso da toxina α -hemolítica (Hla), capaz de atuar contra uma gama de células do hospedeiro como as células epiteliais, endoteliais, linfócitos T, monócitos e macrófagos e apresentam um importante papel no processo de infecção (HUSEBY et al., 2007).

A toxina β -hemolítica (Hlb), também denominada como esfingomielinase C, é uma enzima que degrada membranas celulares abundantes em esfingomielina como eritrócitos, leucócitos e neurônios. Além disso, essa toxina também atua na hemólise dos glóbulos vermelhos do sangue de ovelha. É possível observar a lise das células em placa contendo o meio de cultura ágar sangue de carneiro à 5% (HUSEBY et al., 2007).

Outra toxina também secretada por *S. aureus* é a γ -hemolítica (Hlg), composta por polipeptídeos denominados de S e F, derivam do inglês, *Slow - and Fast - eluting Proteins*. Em isolados que produzem os dois polipeptídeos, existem seis possíveis formas da toxina γ -hemolítica devido as suas subunidades. Dentre essas formas, as combinações HlgA-HlgB são as que apresentam maior atividade hemolítica, e todas as possíveis combinações são eficientes na lise de leucócitos (PREVOST et al., 1995).

Por fim, a toxina δ -hemolítica é uma exotoxina que forma uma estrutura polimérica capaz de lisar uma ampla diversidade de células. O mecanismo de ação

dessa toxina tem sido alvo de muitas pesquisas pois, a partir da estrutura secundária da α -hélice juntamente com a presença de domínios hidrofóbicos e hidrofílicos, em posições opostas, foi apresentado que a delta toxina atua como agente surfactante, destruindo a membrana celular (FREER et al; 1982).

Outro fator de virulência secretado por algumas colônias de *S. aureus* são as enterotoxinas, que geralmente são as principais causadoras das intoxicações alimentares. As enterotoxinas A (sea) e E (see) aparecem na fase logarítmica do crescimento bacteriano, já a B (seb) e C (sec) aparecem no final da fase estacionária (PREVOST et al., 1995).

Outra característica dessas enterotoxinas é sua sobrevivência na presença do calor e alterações de pH, fazendo com que sua ação continue ativa no alimento quando ingerido. Elas agem no hospedeiro como superantígenos, estimulando os linfócitos T e liberando citocinas em abundância, tendo como consequência uma inflamação grave (STAMFORD et al., 2006).

Um estudo feito por Gelli e colaboradores (1986) testou a produção de desoxirribonuclease (DNAse) e termonuclease (TNAse) em 382 colônias de *S. aureus* que foram isoladas de 205 amostras de alimentos sendo esses: leite, queijo, macarrão e carne. As colônias encontradas foram separadas em grupos. Grupo A abrangia colônias não patogênicas e o grupo B as colônias causadoras de intoxicação alimentar devido a enterotoxina estafilocócica. O resultado desse estudo foi que, no grupo A as colônias não eram produtoras de DNAse e TNAse e no grupo B todas as colônias eram produtoras de DNAse e TNAse. Diante disso, as colônias do grupo B produtoras dessas enzimas, também foram as responsáveis pela produção das enterotoxinas envolvidas em intoxicação alimentar.

A atividade da DNAse foi observada por Weckman et al (1957), os quais propuseram que essa atividade podia ser usada para identificar *Staphylococcus* potencialmente patogênicos. A DNAse é uma exoproteína que catalisa a hidrólise de ligações fosfodiéster na estrutura do DNA, tornando possível diferenciar na microbiota, estafilococos patogênicos, dos que não são (CITAK et al., 2003).

A formação de biofilmes pelos *S. aureus* também é um importante mecanismo de virulência por se formarem em superfícies bióticas ou abióticas. A formação de biofilmes pode acarretar no surgimento de algumas infecções estafilocócicas quando em contato com o hospedeiro como otite média, endocardite, infecções de urina, e até mesmo em próteses ortopédicas. Estima-se que até 60% das infecções humanas

sejam devido aos biofilmes (BURTON et al., 2012).

Todos os arsenais relatados contribuem para que o *S. aureus* consiga se aderir a célula, colonizar e desenvolver uma eventual infecção no hospedeiro, além de seus mecanismos de resistência contra os antimicrobianos utilizados atualmente no mercado (ACOSTA et al., 2017).

A resistência aos antimicrobianos é determinada pela expressão de genes de resistência que determinam o funcionamento de mecanismos que irão produzir falha na ação do antibiótico frente a bactéria. As bactérias podem expressar resistência intrínseca ou resistência adquirida, originada por meio da mutação de seus genes e pela aquisição de genes de resistência, que podem ser adquiridos de outras bactérias da mesma espécie (RODRÍGUEZ-NORIEGA et al., 2013; CUSSOLIM et al., 2021).

Os principais mecanismos de resistência das bactérias como *S. aureus* são: produção de enzimas que degradam ou modificam antimicrobianos; redução da permeabilidade da membrana externa; sistema de efluxo hiperexpressos; bloqueio ou proteção do sítio alvo do antimicrobianos e alteração do sítio alvo de ligação do antibiótico (RODRÍGUEZ-NORIEGA et al., 2013; CUSSOLIM et al., 2021).

A maior parte das cepas conhecidas de *S. aureus* são resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos tradicionais, que são penicilina e derivados (LUNA et al., 2010). A vancomicina tem sido administrada em último caso aos pacientes com infecções por *S. aureus* resistente à metilicilina (MRSA). O tratamento oral comumente administrado para tratar infecções por MRSA são tetraciclina e rifampicina, bem como a clindamicina, a linezolida e o Sulfametoxazol-trimetoprima (SZUMOWSKI et al., 2007).

A tetraciclina age inibindo a síntese proteica bacteriana, devido a sua boa disponibilidade no mercado para administração oral e a excelente penetração tecidual dessa classe de medicamentos, tornaram-se uma opção para tratamento ambulatorial das infecções pela classe MRSA (PEREIRA-MAIA et al., 2010).

Já clindamicina e a linezolida são antibióticos que também são utilizados para administração oral e intravenosa nos pacientes infectados por *S. aureus*. A clindamicina é escolhida como tratamento inicial para infecções de pele e tecidos moles, tal medicamento apresenta 90% de biodisponibilidade após administração oral, além de penetrar na pele. Mesmo que haja uma elevada carga bacteriana no local da infecção, o medicamento tem grande eficácia, conseguindo inibir os fatores de virulência do MRSA. Esse medicamento age na inibição da translocação bacteriana

ribossômica, impedindo a síntese proteica (MARTINEZ-AGUILAR et al., 2003; LUNA et al., 2010).

Algumas infecções causadas pelas cepas de MRSA têm apresentado resistência a alguns antimicrobianos como é o caso da eritromicina, ciprofloxacina, gentamicina, clindamicina rifampicina, além dos beta-lactâmicos em geral. A resistência intrínseca de estafilococos à meticilina/oxacilina resulta da expressão de proteínas de ligação a penicilinas do tipo 2, codificadas por um gene cromossômico adquirido, *mecA* e que apresenta baixa afinidade com os antibióticos beta-lactâmicos (AUBRY et al., 1997; MIMICA et al., 2007).

Diante desse cenário, a busca por diferentes classes de antimicrobianos que sejam eficazes no combate às infecções causadas por *S. aureus* é extensa, justamente, devido a sua alta resistência à antibióticos comercializados no mercado atualmente (HARDY et al., 2019). Alinhado ao tratamento com o uso de antimicrobianos, as máscaras tornaram-se barreiras físicas eficazes na contenção da desse micro-organismo, controlando as infecções bacterianas.

2. JUSTIFICATIVA

O cenário pandêmico fez com que a utilização de máscaras em alguns países fosse de uso obrigatório, o que levou a escassez de máscaras no mercado. Tal situação colocou em risco a vida de profissionais e indivíduos nos serviços de saúde, visto que ficaram expostos ao vírus. Devido à alta demanda o MS orientou utilização de máscaras de tecidos como uma alternativa de proteção e recomendou que aqueles que tivessem condições produzissem suas próprias máscaras.

Nesse contexto torna-se fundamental o conhecimento sobre a eficiência de EPI, especialmente máscaras, pois esse item foi amplamente utilizado na pandemia, porém, hoje, sua utilização pela população abrange a proteção não apenas da transmissão do COVID-19, mas por diferentes infecções que podem ser transmitidas em hospitais e em espaços com aglomeração de pessoas.

Por apresentar uma situação nova e até mesmo inédita, observa-se que há carência de informações e pesquisas em relação aos diferentes tipos de máscaras utilizadas pela população, as máscaras cirúrgicas, de tecido e PFF-2 foram aquelas que prevaleceram durante toda a pandemia, servindo como barreira contra o Coronavírus.

A eficiência e proteção dos diferentes modelos de máscaras contra os microorganismos patogênicos, representa uma informação importante com potencial contribuição para a prevenção da contaminação por diferentes tipos de microorganismos como *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. atropheus*, entre outros citados na literatura.

Por isso, percebeu-se a necessidade de avaliar as máscaras que estavam sendo utilizadas pela população e pelos alunos da área de saúde, os quais têm contato direto com pacientes que podem ser veículos de diferentes infecções.

Assim, a espécie escolhida como modelo para avaliação da eficácia dos diferentes tipos de máscaras foi *S. aureus*, devido ao seu potencial de crescimento e colonização em diferentes superfícies, a sua presença na microbiota humana residente, bem como, a facilidade e viabilidade na manipulação desse microorganismo. Além de sua constante colonização em alunos da área de saúde e profissionais desse meio, principalmente pelo potencial patogênico.

Diante do exposto, a realização do trabalho buscou responder questões da eficácia dos diferentes tipos de máscaras de proteção facial utilizadas na pandemia de SARS-

CoV-2, por alunos da faculdade de medicina, tendo *S. aureus* como modelo de teste.

3. OBJETIVO

Testar a eficácia das máscaras cirúrgicas, PFF-2 e de tecidos em alunos de uma faculdade privada no município de Belo Horizonte (MG), utilizando o modelo *S. aureus*.

3.1 Objetivos específicos

- Isolar e identificar, utilizando técnicas bioquímicas e morfo-tintoriais, as células de *S. aureus* que passaram pelas máscaras e cresceram nas placas com ágar contendo meio de cultura seletivo para *S. aureus*.
- Avaliar e comparar por meio da contagem de colônias, a eficácia da filtração das máscaras utilizadas pelos voluntários.

4. METODOLOGIA

Foi testado, nas aulas práticas de Microbiologia, um modelo de avaliação de eficácia das máscaras empregando *S.aureus* como marcador. Neste modelo, foram quantificadas bactérias que podem ser veiculados por perdigotos sob duas condições: com a utilização das máscaras e sem a utilização da máscara pelos voluntários participantes. Foram testados três tipos de máscaras: máscara de tecido, cirúrgica e PFF-2.

4.1 População de estudo

Este trabalho representa um estudo longitudinal observacional e foi realizado com uma amostragem de conveniência constituída de 40 voluntários, alunos do curso de Medicina (mulheres e homens), tendo idade e sexo pareados (entre 19 à 20 anos). Os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade Ciências Médicas, submetido à Plataforma Brasil, sobre o número 40921420.2.0000.5134.

Após a assinatura do TCLE, os voluntários se prepararam para o ensaio que foi realizado a uma distância de 30 centímetros da placa contendo meio de cultura ágar manitol, essa distância foi escolhida simulando a distância entre um indivíduo e outro dentro de transportes públicos como ônibus, filas de supermercado ou mesmo dentro de bancos e outras situações, onde há um aglomerado de pessoas em locais fechados.

Durante 60 segundos, de forma padronizada, o voluntário pronunciou as palavras que constavam no TCLE frontalmente para a placa utilizando a máscara. Em seguida, repetiu o ensaio sem utilizar a máscara em outra placa em condições idênticas a anteriormente descrita. Foi realizado a contagem de micro-organismos e a eficácia do controle microbiano de três tipos de máscaras utilizadas por cada voluntário: tecido, cirúrgica e PFF-2.

4.2 Avaliação da eficácia das máscaras

A avaliação da eficácia foi realizada por meio da comparação da contagem do número de colônias nas placas com os três diferentes tipos de máscaras: tecido, cirúrgica, PFF-2 e sem máscara.

4.3 Análise microbiológica quantitativa

Para as amostragens foram utilizadas placas contendo meio de cultura ágar manitol fabricado pela Renylab Quim. Farm. LTDA. (Brasil). Este meio de cultura é seletivo e diferencial para os estafilococos (BANNERMAN et al., 2006). O ágar manitol também contém peptonas e extratos de carne bovina em sua composição e a alta taxa de cloreto de sódio na concentração de 7,5%, contido neste meio auxilia a inibição parcial de outras bactérias, que não sejam desse gênero (BANNERMAN et al., 2006). As placas foram incubadas em estufa a 37°C e o crescimento microbiano foi analisado nos tempos de 48 e 96 horas. Após o período de incubação, foram contadas as unidades formadoras de colônias (UFC), de acordo com a metodologia de Tortora e colaboradores (2017) e foi avaliada a fermentação do ágar manitol e a morfologia das colônias.

4.3 Análise microbiológica qualitativa

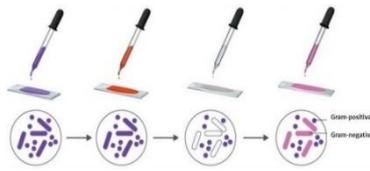
As colônias selecionadas por sua morfologia e reação de fermentação do ágar manitol foram avaliadas em esfregaços feitos em lâmina e corados pela técnica de Gram, em provas bioquímicas e realizado o antibiograma (Figura 4).

Os esfregaços das colônias foram corados pelo Gram, para identificação das bactérias Gram-negativas e positivas; e foi realizado o teste da catalase, para distinguir os grupos estreptococos e estafilococos, por meio da enzima catalase.

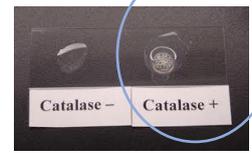
Após o teste da catalase, todas as colônias foram semeadas no meio DNase azul de toluidina, para a diferenciação dos micro-organismos que possuíam a enzima desoxirribonuclease, que quando positivas formaram um halo cor de rosa na placa. Apenas as colônias que positivaram no meio DNase, seguiram para a prova bioquímica da coagulase e do antibiograma. Essas etapas estão evidenciadas na figura 4.



1- Placa de ágar manitol



2- Coloração de Gram



3- Teste da catalase



4- Ágar sangue



Ágar DNase Azul de Toluidina



Apenas amostras que deram positivas na DNase



6- Teste da Coagulase



Apenas amostras que deram positivas na Coagulase



7- Antibiograma

Figura 4: Fluxograma das etapas bioquímicas 1- As colônias coletadas pelos voluntários foram crescidas em placa de meio de cultura ágar manitol (90x15 mm), o meio de cultura está dividido em duas cores: vermelho, no qual, não houve fermentação do meio; e amarelo, no qual houve crescimento de colônias e também a fermentação do meio de cultura. 2- A coloração de Gram envolveu quatro etapas de acordo com os corantes utilizados para classificar os micro-organismos: cristal violeta, lugol, descorante e fucsina. 3- O teste da catalase foi feito em lâmina e evidencia duas colônias e sobre elas foi adicionado o peróxido de hidrogênio 3%, a colônia da direita, circulada de azul, formou bolhas. 4- As colônias foram semeadas e isoladas no meio de cultura ágar sangue (90x15 mm). 5- Após crescimento no ágar sangue as colônias foram semeadas no meio de cultura DNase azul de toluidina (90x15 mm), a fissura rosa no meio da placa demonstra a atividade enzimática da desoxirribonuclease. 6- As colônias positivas na etapa anterior (5- DNase azul de toluidina) foram submersas em tubo de ensaio contendo 500 microlitros de plasma de coelho, o tubo superior evidencia a não coagulação do plasma, indicando que a colônia não contém a enzima coagulase; o tubo inferior evidencia a coagulação do plasma. 7- O antibiograma foi feito em placa com meio de cultura Mueller Hinton (140x15 mm) contendo suspensão bacteriana de aproximadamente 10^8 micro-organismos/mL que foi semeada com *swab* em todos os sentidos da placa (de cima para baixo, de baixo para cima, da direita para esquerda e da esquerda para direita); os antimicrobianos foram adicionados no sentido horário na seguinte ordem: oxacilina, eritromicina, cefoxitina, tetraciclina, novobiocina, ampicilina e por fim, no meio da placa, gentamicina.

4.4.1 Coloração de Gram

O método de coloração de bactérias, permite diferenciar bactérias com diferentes estruturas de parede celular, a partir das colorações que estas adquirem após tratamento com agentes químicos específicos. Na lâmina, foi colocado uma gota de cloreto de sódio 0,85% e inoculado uma alçada bacteriológica da bactéria crescida na placa de ágar manitol. O esfregaço bacteriano foi fixado pela chama em bico de Bunsen. Os reagentes utilizados foram da marca Renylab Quim. Farm. LTDA (Brasil) e a técnica de coloração foi feita de acordo com indicações do fabricante. O esfregaço foi corado com os seguintes reagentes, nos seus respectivos tempos: solução de violeta por 1 minuto; solução de lugol por 1 minuto; solução descorante por 15 segundos; solução de fucsina por 30 segundos. Entre cada etapa de reagente adicionado sobre o esfregaço, a lâmina foi lavada em água corrente. Após a secagem da lâmina, a mesma foi colocada no microscópio e visualizada na objetiva de 100x

com óleo de imersão. As bactérias que adquiriram a coloração azul violeta são Gram-positivas e as com coloração vermelha são Gram-negativas (TORTORA et al., 2017).

4.4.2 Teste da Catalase

O teste da catalase foi executado conforme descrito por Oplustil e colaboradores (2004). Por meio desta prova, foi possível verificar a presença da enzima catalase e distinguir os grupos estreptococos e estafilococos. Para o teste foi empregado a solução de peróxido de hidrogênio a 3% da marca Rioquímica, sendo que 1 gota da solução foi colocada na lâmina e foi inoculada sobre ela uma alçada do micro-organismo e observou-se a formação ou não de bolhas.

4.4.3 Teste DNase

Para esse teste é empregado o meio DNase azul de toluidina para avaliar a presença da enzima desoxirribonuclease. Esse meio de cultura foi fabricado por Renylab Quim. Farm. LTDA (Brasil) e sua composição é de: triptona, cloreto de sódio, ácido desoxirribonucleico, azul de toluidina, ágar e água deionizada. Nesse teste, as colônias que cresceram no manitol, após o teste da coloração de Gram e da catalase, foram semeadas no meio ágar sangue para o isolamento e crescimento dos micro-organismos; esse ágar também foi fabricado por Renylab Quim. Farm. LTDA (Brasil) e sua composição de acordo com o fabricante é de: peptona de caseína, peptona de soja, cloreto de sódio, sague de carneiro desfibrilado e ágar. Após o crescimento dos micro-organismos no ágar sangue, foi inoculada uma alçada de cada bactéria no meio DNase. As placas foram incubadas entre 18 e 24 horas em condições aeróbicas entre 35 e 37°C. Após a incubação, foi feita a interpretação do crescimento. Para análise de *Staphylococcus aureus* positivo há a formação de halo cor de rosa na placa (SCHREIER, 1969).

4.4.4 Teste da Coagulase

Para confirmação da espécie *S. aureus* foi realizado, também, o teste da coagulase. Este teste foi executado apenas com as colônias que deram positivas para o teste de DNase. O teste da coagulase foi produzido com plasma de coelho liofilizado da marca New Prov, sua composição de acordo com o fabricante é de: plasma de coelho, fibrinogênio, inibidor de tripsina e telurito de potássio. O plasma foi

reconstituído com 5 mL de água deionizada, de acordo com as instruções do fabricante. Foram empregados 500 µL do plasma reconstituído em um tubo de ensaio de vidro; e foi adicionado uma alçada da colônia isolada anteriormente no ágar sangue. A reação foi incubada à aproximadamente 37°C e pode ser visualizada entre 4 à 24 horas, a fim de observar o fator aglutinante (BANNERMAN et al., 2006).

4.4.5 Antibiograma

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos para amostras de *S. aureus* foi realizado em placas de ágar Mueller-Hinton (MH) no tamanho de 140x15 mm. O MH foi fabricado pela Laborclin Produtos para Laboratórios LTDA, sua composição é de: hidrolisado ácido de caseína, extrato de bovino, amido de milho, sangue de carneiro defibrinado, ágar e água deionizada. Com uma alçada foram coletadas as colônias com mesmo tipo morfológico, isoladas no meio ágar sangue, de uma cultura de 18 a 48 horas à aproximadamente 37° C e foram inoculadas em solução salina estéril 0,85% até obter a turvação semelhante ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland (concentração aproximada de 10⁸ micro-organismos/mL). Um swab estéril foi embebido na suspensão bacteriana, retirado o excesso de líquido, comprimindo-o contra a parede do tubo e semeado suavemente em todos os sentidos na superfície da placa de ágar Mueller Hinton, que estava em temperatura ambiente. O tempo entre a semeadura na placa e a adição dos discos não ultrapassou 15 minutos. A escolha dos antimicrobianos foi de acordo com os recursos existentes na instituição financiadora deste projeto de pesquisa e por aqueles mais citados e testados na literatura para tratamento de *S. aureus*, sendo eles: tetraciclina, ampicilina, novobiocina, oxacilina, gentamicina, eritromicina e cefoxitina. As placas de ágar Mueller-Hinton foram incubadas a 37° C durante 24 horas. A leitura foi feita medindo-se os diâmetros dos halos de inibição formados ao redor dos discos; e a interpretação foi feita de acordo com a tabela de halos padronizada pelo NCCLS (2000). O resultado foi expresso classificando a sensibilidade como: sensível, moderadamente resistente (intermediário) e resistente.

4.5 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc.) para comparação entre os grupos. Para a análise comparativa entre os grupos foi empregado o teste de Análise de Variância (ANOVA).

As diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando o valor de p for menor que 0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.5 Análise microbiológica quantitativa e qualitativa

As coletas das amostras dos voluntários foram feitas ao longo de três semestres, este prazo foi necessário devido a interrupção das aulas práticas durante a pandemia do SARS-CoV-2. Voluntários que estavam com algum sintoma de gripe ou outras doenças, mesmo quando se dispuseram a serem voluntários, não foram selecionados, devido aos riscos de exposição nas quatro situações de troca de máscaras próximos a outros voluntários.

Em uma amostragem de 40 voluntários, foram utilizadas 4 placas por voluntário, totalizando 160 placas, que foram analisadas em cada situação de troca (tecido, cirúrgica, PFF-2 e o grupo que não utilizou máscara).

Foi realizado a contagem das unidades formadoras de colônias em cada uma das placas de ágar manitol, conforme o uso dos diferentes tipos de máscaras pelo voluntário e também sem o uso delas; bem como, as diferenças estatísticas entre as UFC e os tipos de máscaras, como visualizado na figura 5.

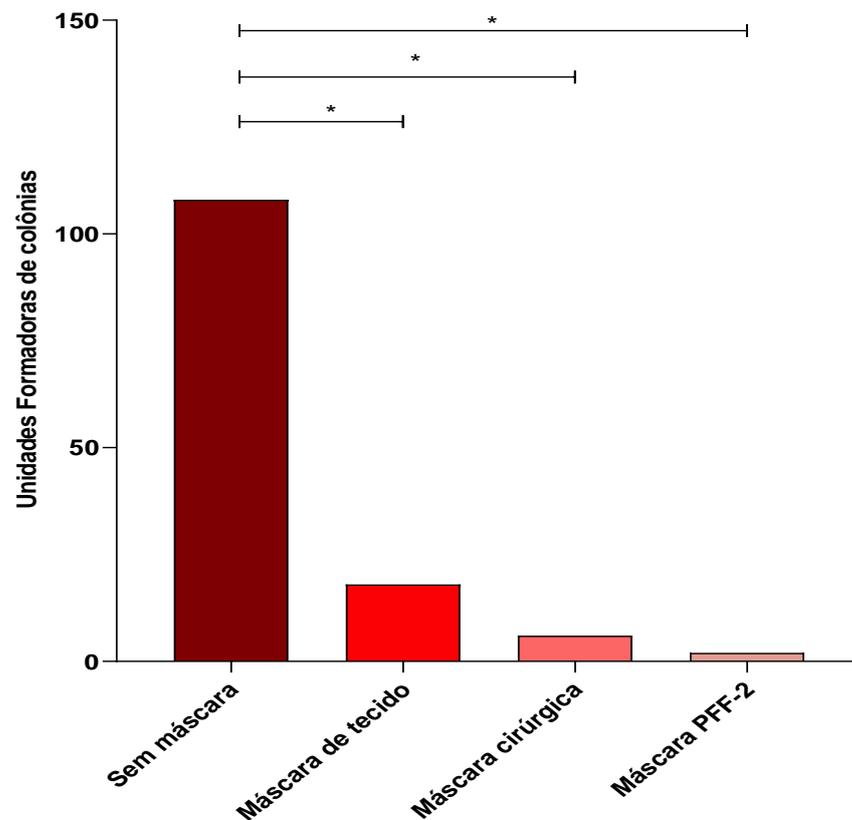


Figura 5: Análise microbiológica quantitativa das amostras coletadas nas placas de ágar manitol. Unidades formadoras de colônias que cresceram na placa de ágar manitol em quatro situações: sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2. Os resultados dos números de colônias estão expressos por gráficos de barra, sendo as barras identificadas por cores do vermelho mais intenso ao menos intenso para os resultados de voluntários sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2, nesta ordem. Barras conectoras e o símbolo * identificam diferenças estatisticamente significativas com $p < 0,05$.

Foram verificadas diferenças estatísticas em três situações: entre o voluntário sem máscara e com a máscara de tecido, entre o voluntário sem máscara e com a máscara cirúrgica e entre o voluntário sem máscara e com a máscara PFF-2. O total de colônias crescidas no meio ágar manitol foram: 108 colônias nas placas de voluntários que não utilizaram máscara; 18 colônias nas placas de voluntários que utilizaram máscara de tecido; 6 colônias nas placas de voluntários que utilizaram máscara cirúrgica e 2 colônias nas placas de voluntários que utilizaram máscara PFF-

2; totalizando 134 colônias.

É possível verificar a eficácia das máscaras de tecido utilizadas pelos voluntários pois ela conseguiu reduzir pelo menos 84% das colônias, quando comparado as UFC que cresceram na placa na qual o voluntário não estava utilizando máscara. A máscara cirúrgica conseguiu reduzir pelo menos 94,4% das UFC, quando comparadas com a quantidade que cresceu nas placas dos voluntários que não utilizaram máscara, e quando comparado as UFC que cresceram nas placas utilizando máscara de tecido, a cirúrgica conseguiu reduzir pelo menos 66% das colônias. Por fim, quando comparada a quantidade de UFC que cresceu nas placas em que o voluntário não estava utilizando máscara, a PFF-2 conseguiu reter 98%, fazendo com que apenas 2 colônias crescessem nas placas.

O maior número de colônias cresceu na prática, na qual, o voluntário não estava utilizando máscara, o modelo utilizado foi o voluntário falando diretamente a 30 centímetros da placa, sem fazer uso de nenhum dispositivo como impedimento físico para as micro gotículas de saliva, ou mesmo partículas menores que são transportadas pelo ar.

Diante da quantidade de colônias que se formaram nas placas e os resultados obtidos no gráfico, é possível relacionar essa prática ao cotidiano da população. Quando não há utilização de barreiras físicas, como máscaras ou respiradores, o indivíduo, que recebe essas micro gotículas seja pela saliva, espirro ou tosse, pode estar mais propenso a entrar em contato com diferentes micro-organismos que podem transmitir alguma doença. Isso corrobora, também, com as diretrizes estabelecidas pela OMS (2020) no começo da pandemia, no qual cita a máscara de proteção facial como barreira mecânica, a fim de conter a transmissão de doenças pela população.

Neopane e colaboradores (2018) também discorrem que as máscaras e respiradores agem como barreiras físicas que funcionam de maneira filtrante. Elas fazem com que o número de partículas, transportadas pelo ar, principalmente as partículas menores, cheguem ao indivíduo em menor quantidade. Isso é devido ao material e tecido com que a máscara é feita. Nesse sentido, a chance de o indivíduo ser infectado através da transmissão de agentes patogênicos pelo ar, saliva, espirro ou tosse são mínimos.

Como observado na figura 6, as placas com meio de cultura, que foram utilizadas juntamente com as máscaras de tecido, obtiveram o segundo maior número de unidades formadoras de colônias. Isto é devido ao tecido com que é confeccionado

a máscara que, como já citado, funciona como barreira física, limitando o número de partículas e micro gotículas de chegarem até a placa de manitol.

Alguns fatores contribuem para que essas máscaras apresentem o segundo maior número de UFC, como foi visualizado. Dentre os fatores mais citados estão a não padronização de um modelo de máscara caseira, os diferentes e variados tecidos utilizados, o número de camadas, a capacidade de retenção de partículas e gotícula que os tecidos têm, dependendo do tecido utilizado para a produção da máscara pode haver acúmulo de umidade e, por fim, o modelo de máscara pode não se encaixar com eficiência no rosto do indivíduo, deixando exposta parte do nariz, boca ou queixo (VAN DER SANDE et al., 2008; MORAIS et al., 2021).

Nem todas as máscaras utilizadas pelos voluntários, apresentaram nas placas, o crescimento de colônias. Esse resultado é validado pelos estudos de estudos de Van Der Sande e colaboradores (2008) que relatam que a eficácia desse tipo de máscara varia de acordo com o material que foi fabricada. Esses mesmos autores citaram as junções de fibras de algodão e seda, algodão e chiffon ou algodão e flanela como sendo os melhores tecidos para que o indivíduo pudesse obter pelo menos 50% de proteção facial.

As máscaras de tecido, utilizadas nesse estudo, não foram disponibilizadas, visto que não há diretrizes do MS sobre a padronização e eficiência máxima sobre esse tipo de máscara. De acordo com pesquisas na literatura, ainda há poucos estudos clínicos randomizados para avaliar a eficiência das máscaras de tecido com o objetivo de diminuir a contaminação por infecções respiratórias (ARARUNA et al., 2021).

Por isso, os diferentes resultados obtidos no número de UFC variaram de acordo com o tecido que o voluntário estava utilizando na prática da pesquisa. Não houve dificuldades de encontrar voluntários com máscara de tecido no início das coletas, já que ocorreu, por meio do MS (2020), a orientação para produção de máscaras caseiras. Dentre as máscaras utilizadas nessa pesquisa, a única vantagem observada na de tecido, foi o baixo custo e a reutilização das mesmas, uma vez que, a maior parte dos voluntários estavam com máscaras de tecido que já tinham sido lavadas e reutilizadas.

No entanto, quando comparada a coluna do gráfico sem máscara, foi possível verificar a eficiência da máscara de tecido como barreira física para a transmissão de partículas provindas da fala, saliva, tosse e espirro. Esse comparativo pode ser

confirmado, também, pelas pesquisas feitas por Araruna e colaboradores (2021) que relataram que, quando comparado a não utilização de proteção facial, as máscaras de tecidos são eficientes e essa eficiência ocorre até mesmo quando não há utilização e manuseio da máscara cirúrgica e da PFF-2 de maneira correta.

Outro resultado visualizado nas figuras 5 é a redução de maneira significativa das UFC nas placas de manitol que foram utilizadas com máscaras cirúrgicas e PFF-2. Diante desses resultados, as duas máscaras conseguiram limitar o número de micro gotículas ao atingir a placa, e mesmo após 96 horas de incubação, não houve crescimento considerável de colônias. Esses dados corroboram com o estudo feito por Ma e colaboradores (2020) que verificaram, por meio de simulação de infecção viral, a retenção de partículas viriais, no qual foi observado, que os respiradores PFF-2 e similares conseguiram reter aproximadamente 99,98% das partículas, enquanto a máscara cirúrgica obteve retenção de 97,14%.

O menor número de colônias obtidas no meio utilizado com a máscara cirúrgica pode ser explicado devido aos componentes de confecção das máscaras. Essa proteção possui de três a quatro camadas de tecido utilizados no meio odontológico-hospitalar, facilitando o uso e o ajuste no rosto do indivíduo. Além disso, as camadas que compõe as máscaras fazem com que haja uma interação eletrostática entre elas, corroborando com os estudos de Camargos (2020), que tem o objetivo de equilibrar a filtração, a respiração e a resistência da máscara a umidade, seja de micro gotículas ou mesmo de fluídos corporais como o suor.

Quando comparado as três situações anteriores, o respirador PFF-2 foi aquele que menos houve crescimento das UFC nas placas de manitol, esse resultado vai ao encontro dos estudos feitos por Leachi e colaboradores (2020), dos quais, discorrem que esses respiradores foram projetados com um alto desempenho de filtragem e conseguem filtrar com eficiência partículas transportadas pelo ar. Porém, esse resultado só pode ser obtido quando não há alteração nas cargas eletrostáticas que compõe esses respiradores, ou seja, quando o material com que a máscara é confeccionada ainda está apto e em boas condições para o seu uso no rosto.

Ferreira (2018) contribui com essa discussão sobre as cargas eletrostáticas da PFF, relatando que, se essas máscaras acumulam mais partículas do que são capazes, pode haver uma perda máxima de cargas, fazendo com que a pressão da máscara, no rosto do indivíduo que a utiliza, seja menor e seu revestimento perca a eficiência na capacidade de filtragem.

Por meio do resultado da filtração da PFF-2 é possível entender a importância da utilização desses respiradores em ambientes hospitalares, que acontece devido ao excelente desempenho de filtração, reduzindo as chances de infecção por patógenos (FERREIRA, 2018).

Outro resultado obtido nas coletas das amostras foi a fermentação do meio ágar manitol, pois se trata de um meio seletivo para o isolamento de micro-organismos do gênero estafilococos (BANNERMAN et al., 2006). As placas em que houveram maior crescimento das UFC com fermentação do meio ágar manitol, foram observadas na prática sem máscara, como visualizado na figura 5, isso se deve principalmente à inexistência de uma barreira física.

Diante disso, diferentes colônias conseguiram crescer na placa, principalmente, aquelas que fermentaram o meio, levando a produção de ácido, que é detectado pelo indicador vermelho de fenol, que é a cor original do meio de cultura quando estéril.

Na figura 6 é possível verificar o meio ágar manitol quando é fermentado. Os micro-organismos que conseguiram crescer e fermentar o meio, tornam sua cor amarelada e pode indicar espécies do gênero estudado, os estafilococos.

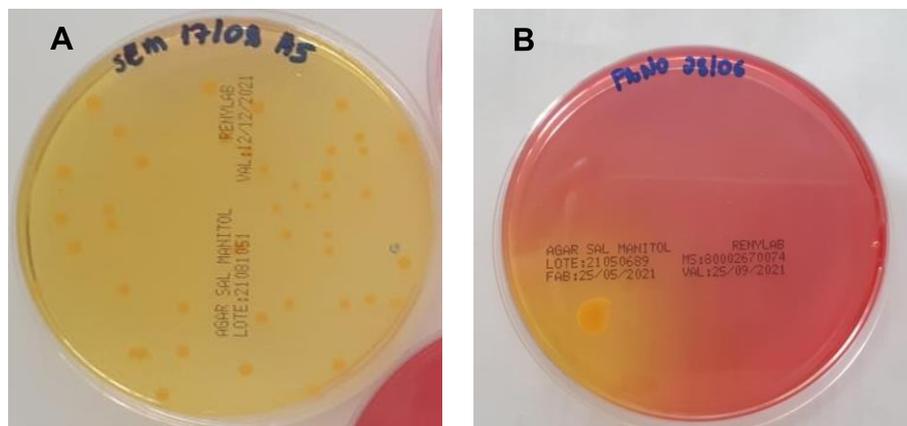


Figura 6: Placa de ágar manitol evidenciando a fermentação do manitol. As fotos A e B retratam as placas de ágar manitol (90x15 mm) que foram utilizadas por dois voluntários, foto A: placa do voluntário que não utilizou máscara; foto B: placa do voluntário que utilizou máscara de tecido.

A seletividade desse meio de cultura é explicada porque ele contém açúcar manitol, quando algumas espécies desse gênero entram em contato com o meio

ocorre a fermentação do manitol, resultando na alteração do pH vermelho de fenol, esse dado é corroborado com Bannerman e colaboradores (2006), quando relata que a concentração de 7,5% de cloreto de sódio nesse meio de cultura, resulta na inibição parcial da maioria das bactérias que não pertencem a esse gênero.

A figura 7 ilustra as unidades formadoras de colônias que fermentaram e não fermentaram o manitol.

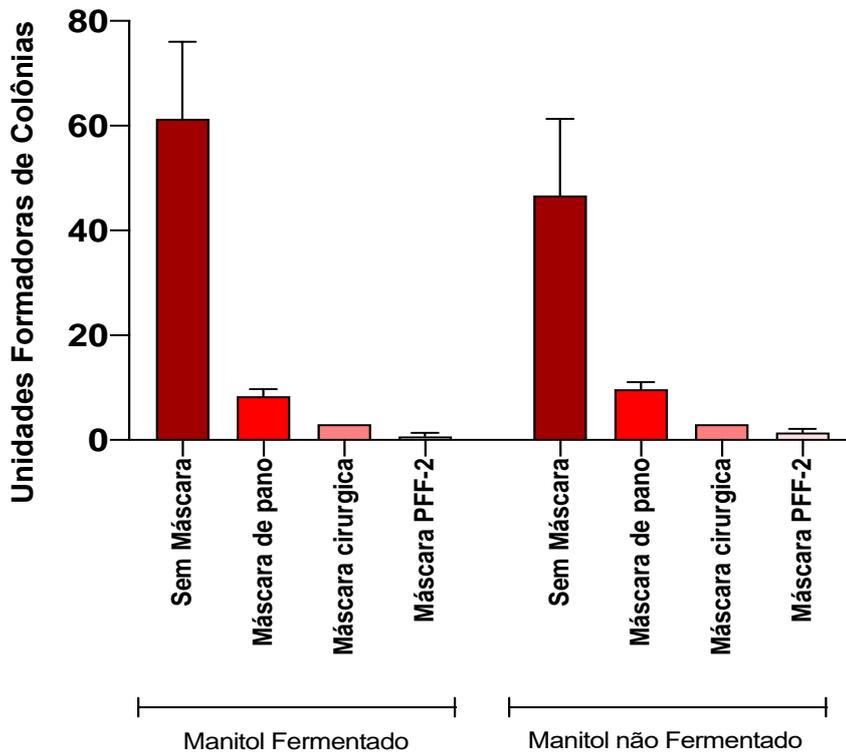


Figura 7: Número de colônias que fermentaram e não fermentaram manitol de acordo com as máscaras utilizadas. O gráfico de barras representa o número de UFC que fermentaram e não fermentaram o manitol, conforme o tipo de máscara utilizada. Os resultados do número total de UFC encontrado nas placas para cada tipo de máscara estão expressos como média e desvio padrão, sendo as barras identificadas por cores do vermelho mais intenso ao menos intenso para os resultados de voluntários sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2, nesta ordem.

Dentre as colônias crescidas em ágar manitol, 108 cresceram na placa em que o voluntário não estava utilizando máscara, 76 UFC fermentaram o manitol, sendo que as outras 32 colônias não fermentaram. Dentre as 18 UFC que cresceram na placa utilizando a máscara de tecido, 7 fermentaram o manitol e 11 não fermentaram, já nas placas que utilizaram a máscara cirúrgica houve o crescimento de 6 UFC, sendo que 3 fermentaram o meio e as outras 3 não fermentaram o meio de cultura. Por fim, as placas que foram utilizadas na prática da PFF-2, no qual cresceram 2 colônias, ambas não fermentaram o ágar manitol.

Na maioria das situações, contendo as máscaras de tecido, pode-se observar que o número de colônias, que apresentaram fermentação, é superior ao número de

colônias que não apresentaram fermentação. Esse resultado indica, que os micro-organismos que cresceram no meio, possivelmente, são em grande parte do gênero estafilococos.

Na barra do gráfico da figura 7, que apresenta o resultado da máscara cirúrgica, foi verificado que a quantidade de colônias que fermentaram o ágar está pareada com a quantidade que não fermentou. Isso pode indicar também, que aqueles micro-organismos que conseguiram atravessar a barreira podem ser patogênicos. Além disso, a quantidade de colônias que cresceram nessas placas é menor, quando comparadas com o crescimento das UFC nas placas que não utilizaram as máscaras e naquelas que utilizaram a máscara de tecido.

Conforme a figura 7 a PFF-2 foi a única, na qual, suas colônias não fermentaram o meio contendo o manitol. Apesar de acontecer o crescimento de poucas colônias na placa não houve a diferenciação de cor para amarelo. A baixa quantidade de micro-organismo que cresceram na placa, comprova também, que a peça filtrante PFF-2 tem um excelente desempenho de filtração em relação as demais. A não fermentação das colônias sobre o meio evidencia um possível micro-organismo que não é a espécie *S.aureus*, uma vez que, o gênero estafilococos tem como uma de suas características a fermentação de manitol.

Esses dados podem ser confirmados com as pesquisas de Girardi e colaboradores (2020), assim como Parente e colaboradores (2021), que discorrem sobre a redução de ocorrência de infecções nos profissionais da saúde diante do uso de máscaras cirúrgicas, evidenciando a proteção que essas máscaras oferecem a aqueles que a utilizam como barreira física.

O próximo teste foi realizado em 16 placas com amostras coletadas por meio da coloração de Gram. A coloração foi feita em todas as colônias que cresceram na placa de manitol, independente da fermentação do meio. O resultado pode ser observado na figura 8.

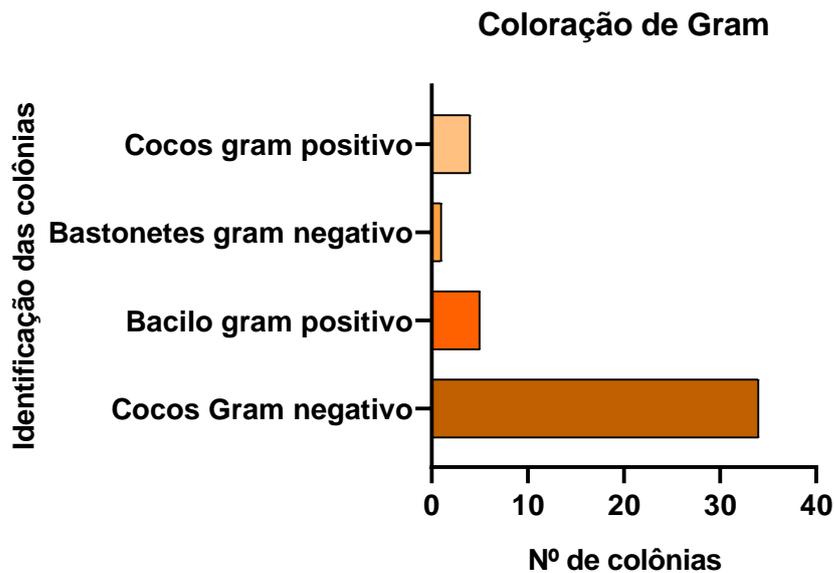


Figura 8: Análise das colônias identificadas na coloração de Gram. As barras dos gráficos identificam o número de colônias que cresceram nas placas de ágar manitol. Os resultados estão expressos por gráfico de barra, sendo as barras identificadas por cores de alaranjado menos intenso aos mais intenso para os resultados da identificação de colônias cocos Gram positivo, bastonetes Gram negativo, bacilo Gram positivo e cocos Gram negativo, nesta ordem.

Conforme a identificação das colônias na figura 8, 5 colônias são de bacilos gram-positivos, 1 colônia foi identificada como bastonetes gram-negativos, 6 colônias de cocos gram-negativos e 34 colônias cresceram no meio e foram identificadas como cocos gram-positivos. Diante disso, a coloração de Gram evidenciou que existe prevalência de cocos gram-positivos nas colônias que foram visualizadas no microscópio. Esse resultado demonstra a prevalência desses micro-organismos na microbiota do indivíduo.

As bactérias gram-positivas retêm o cristal violeta devido à presença de uma espessa camada em suas paredes celulares. Já as bactérias gram-negativas possuem uma parede de peptidoglicano mais fina que não retém o cristal violeta, durante o processo de descoloração, por isso, ficam com a coloração mais avermelhada no final do processo (TORTORA et al., 2017).

A presença de cocos gram-positivos nesses resultados demonstra também a preferência da colonização desses micro-organismos na narina, boca e pele. No caso de *S. aureus*, sua preferência é pela colonização da pele e partes mole, bem como, a

colonização nasofaringe do corpo humano (HORN et al., 2021).

Para todas as colônias que cresceram no manitol, independente de sua fermentação, foi realizado o teste da catalase. As colônias positivas para esse teste apontam a presença da enzima intracelular chamada de catalase, contida nesses micro-organismos. Por isso, por meio dessa enzima, é possível diferenciar os micro-organismos do gênero *Streptococcus* (negativo) dos *Staphylococcus* (positivo), que cresceram no meio ágar manitol (HOLANDA et al., 2017). Isso pode ser observado na figura 9.

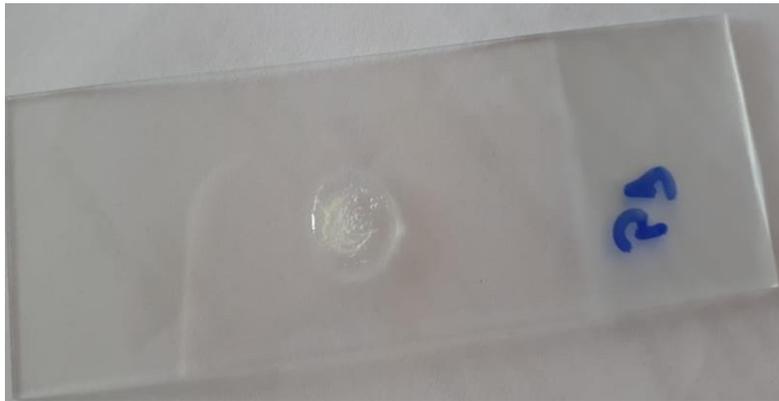


Figura 9: Colônia em lâmina positiva para o teste da catalase. O teste da catalase foi feito em lâmina e sobre ela foi adicionado o peróxido de hidrogênio 3%. A formação de bolhas na lâmina evidencia a presença da enzima catalase na colônia.

As 134 colônias, que cresceram durante toda a coleta de amostras nas placas de ágar manitol, foram submetidas ao teste da catalase. Sendo que, 122 colônias deram positivas para esse teste, e 12 colônias apresentaram a reação negativa para a enzima catalase. Esse resultado está demonstrado na figura 10.

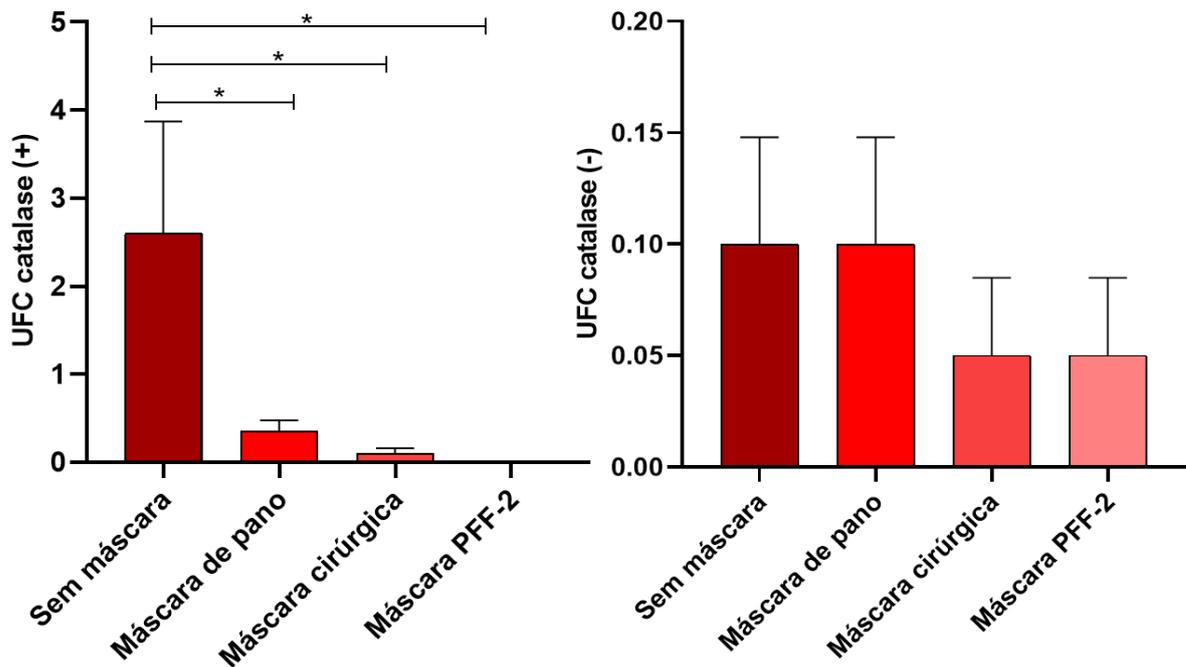


Figura 10: Número de UFC catalase positiva (+) e catalase negativa (-) de acordo com as máscaras utilizadas. O gráfico de barras apresenta o número de UFC que apresentaram a enzima catalase, sendo representado no gráfico por Catalase (+) e as colônias que não apresentaram a enzima, sendo essas Catalase (-). Os resultados dos números de colônias estão expressos por gráficos de barra com média e desvio padrão, sendo as barras identificadas por cores do vermelho mais intenso ao menos intenso para os resultados de voluntários sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2, nesta ordem. Barras conectoras e o símbolo * identificam diferenças estatisticamente significativas com $p < 0,05$.

Foram verificadas diferenças estatísticas em três situações no gráfico em que as colônias apresentaram a enzima catalase: entre o voluntário sem máscara e com a máscara de tecido; entre o voluntário sem máscara e com a máscara cirúrgica e entre o voluntário sem máscara e com a máscara PFF-2. As colônias que cresceram na placa em que não foi utilizada a máscara, e deram catalase positiva, somam no total 104 UFC, e 4 UFC não continham a enzima catalase. Na prática em que foi utilizada máscara de tecido, 14 colônias positivaram nesse teste e 4 deram catalase negativa. Na prática utilizando máscara cirúrgica se obteve 4 UFC positivas para catalase e 2 UFC negativas. Por fim, a PFF-2 evidenciou 2 colônias catalase negativa apenas.

Diante disso, a primeira barra do gráfico ilustrado na figura 10, apresenta o maior crescimento de UFC dos voluntários que não estavam utilizando a máscara, justamente por não haver barreira física para conter as micro gotículas de chegarem até a placa contendo o meio de cultura.

Em seguida, a barra do gráfico que corresponde a máscara de tecido exposta na figura 10 evidencia as colônias catalase positiva. Isso pode ser explicado, devido ao maior número de colônias que cresceram no manitol com as máscaras de tecido.

A máscara cirúrgica indicou um nível baixo de colônias catalase positiva, devido ao menor número de colônias que cresceram no ágar manitol.

O resultado do gráfico da figura 10, sobre as máscaras de tecido, corrobora com as pesquisas de MacIntyre e colaboradores (2015), que observaram que as máscaras de tecido, que foram compostas por duas camadas de malha ou algodão, obtiveram um baixo potencial de filtração, principalmente, quando eram reutilizadas por profissionais de saúde, aumentando o risco de contaminação dentro de hospitais. O potencial de filtração das máscaras caseiras poderá ser determinado com mais estudos, pois como já citado, sua eficiência dependente de diversos fatores que integram a máscara.

Além de não ter obtido o crescimento de muitas colônias no manitol, a PFF-2 foi o único respirador do qual não houve crescimento de colônias catalase positivo. Esses dados corroboram com os estudos de Rodrigues (2022) quando discorre sobre *S. aureus* e *E. coli* serem um dos modelos mais utilizados para testar a eficácia de respiradores, como é o caso do PFF-2, devido à abundância e estabilidade desse micro-organismo na microbiota residente do ser humano.

Dentre as colônias totais obtidas, foi realizado o teste da DNase Azul de Toluidina. Esse teste evidencia a presença de atividade da enzima DNase que atua sobre o ácido desoxirribonucleico.

Quando *S. aureus* entra em contato com o meio DNase azul de toluidina, após algumas horas, um halo cor de rosa é o resultado da existência da enzima desoxirribonuclease em contato com esse meio de cultura, conforme evidenciado nas setas na figura 11.

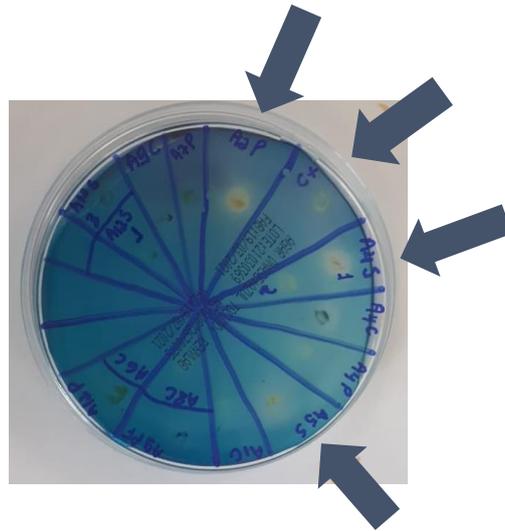


Figura 11: Semeadura das colônias no meio DNase azul de toluidina. O meio de cultura DNase azul de toluidina (90x15 mm) foi dividido em linhas na cor azul, de acordo com as colônias semeadas. As 4 setas na cor laranja evidenciam os halos rosa claro que se formaram no meio de cultura após 24h do semeio da bactéria. A formação do halo cor de rosa indica que o micro-organismo possui a enzima desoxirribonuclease, conseguindo hidrolisar o DNA contido na placa.

A figura 12 evidencia o resultado das colônias que deram positiva para esse teste. Dentre as 27 colônias totais positivas: 19 colônias são das amostras que não utilizaram as máscaras, 6 são colônias das práticas que utilizaram a máscara de tecido, e por fim, apenas 2 colônias são das práticas que utilizaram a máscara cirúrgica. Diante disso, é averiguada a presença de possíveis colônias de *S. aureus* patogênicas nos voluntários desse estudo.

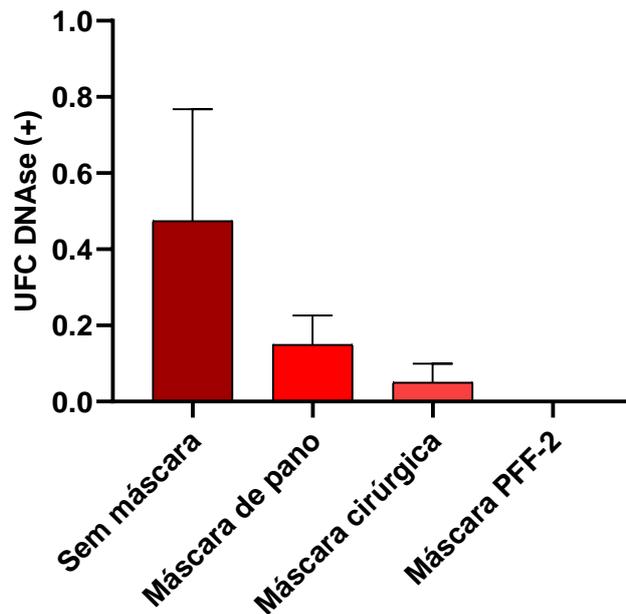


Figura 12: Análise das UFC que hidrolisaram o meio de cultura DNase. Quantidade de colônias que hidrolisaram o meio DNase azul de toluidina (90x15 mm) em quatro situações: sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2. Os resultados dos números de colônias estão expressos por gráficos de barra com média e desvio padrão, sendo as barras identificadas por cores do vermelho mais intenso ao menos intenso para os resultados de voluntários sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2, nesta ordem.

Não foram verificadas diferenças estatísticas entre as análises das colônias que deram positivas para o teste da DNase. Das 134 colônias totais que foram semeadas no meio DNase azul de toluidina, apenas 27 colônias apresentaram-se positivas nesse meio, e 107 colônias deram negativas.

Apesar da maior parte das colônias terem se mostrado positivas nos testes bioquímicos anteriores, devido a intensa seletividade do meio utilizado nessa etapa, poucas colônias tornaram-se positiva no DNase azul de toluidina.

A detecção dessa atividade enzimática, contida em *S. aureus*, é importante quando pretendemos identificar espécies patogênicas. Gelli e Martins (1986) conseguiram comprovar, em seus experimentos, a presença de colônias de *S. aureus* em alimentos industrializados e comercializados que provocavam intoxicação alimentar em seus consumidores e isso era decorrente da produção das atividades enzimáticas da DNase e TNase.

Em concordância com esses dados, Citak e colaboradores (2003) relatam que

por meio da enzima DNase é possível distinguir estafilococos patogênicos dos não patogênicos, sendo um complemento juntamente com outras provas bioquímicas como a coagulase.

Diversos autores citam esses micro-organismos como residentes da microbiota da nasofaringe de pessoas saudáveis, mas se houver desequilíbrio nessa microbiota, ou mesmo se o indivíduo estiver imunocomprometido, a infecção por *S. aureus* pode acarretar diversas doenças (NEOPANE et al., 2018; RODRIGUES, 2022).

Carvalho e colaboradores (2016) e Horn e colaboradores (2021) também contribuem com esses dados quando relatam que *S. aureus* coloniza, pelo menos, um terço da população em geral, tendo sua prevalência na nasofaringe do ser humano. Esses dados vão de encontro com os resultados obtidos nesse estudo, já que os voluntários que não utilizaram nenhum método de proteção ao falar na placa contendo o meio de cultura, facilitou a dispersão e crescimento de diversos outros micro-organismos contidos em sua nasofaringe.

Karimzadeh e colaboradores (2022) contribuem com os dados expostos aqui, quando relatam que na última década o principal agente causador de infecções nasocomial foi o *S. aureus*, principalmente, em pacientes e profissionais da saúde.

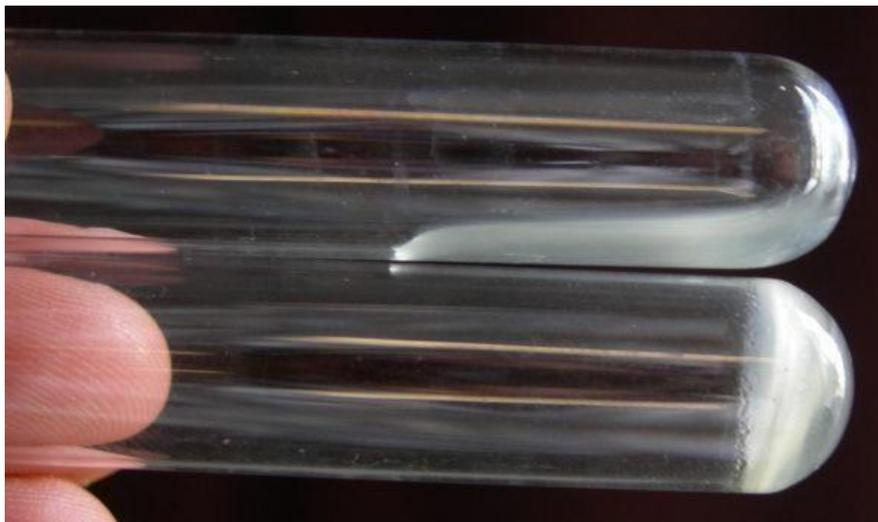


Figura 13: Coágulo formado no plasma de coelho. As colônias foram submergidas em tubo de ensaio contendo 500 microlitros de plasma de coelho. O tubo superior evidencia a não coagulação do plasma, indicando que a colônia não contém a enzima coagulase; o tubo inferior evidencia a coagulação do plasma.

Além disso, quando há a presença desses micro-organismos nas fossas

nasais do indivíduo, pode ocorrer a contaminação de mãos, olhos, pele e estão propensos a serem veículo de contaminação.

O resultado desse teste também ilustra, mais uma vez, a importância da utilização de máscaras e respiradores de proteção, que servem como obstáculo para diversos micro-organismos alcançarem e colonizarem fossas nasais e cavidade bucal do ser humano, corroborando com os estudos de Neopane e colaboradores (2018) que identificou as máscaras de proteção facial, como um mecanismo de barreira física para bloquear micro gotículas contendo agentes patogênicos de causarem infecções. Dando continuidade com os testes bioquímicos, foi executado o teste da coagulase com plasma de coelho liofilizado. As colônias que formaram os halos nomeio DNase azul de toluidina foram inseridas no tubo de ensaio contendo a solução do plasma de Coelho. Quando esse micro-organismo entra em contato com plasma, é formado um complexo que atua no fibrinogênio do plasma de coelho, formando a fibrina (QUINN et al., 2005), conforme evidenciado na figura 13.

O teste da coagulase foi realizado com o número total de colônias que se apresentaram positivas no teste da DNase, como pode ser observado na figura 14.

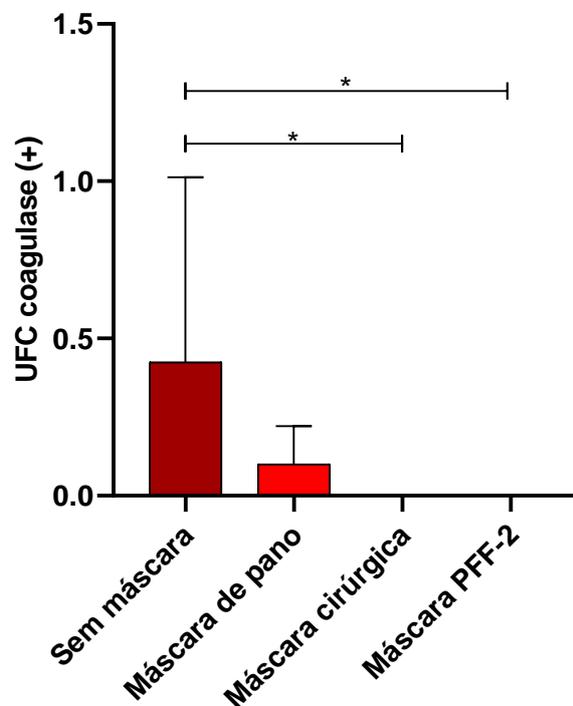


Figura 14: Análise das UFC no teste da coagulase. O gráfico de barras representa o número de UFC que coagularam o plasma, sendo representado no gráfico por coagulase positiva (+) em quatro situações: sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2. Os resultados dos números de colônias estão expressos por gráficos de barra

com média e desvio padrão, sendo as barras identificadas por cores do vermelho mais intenso ao menos intenso para os resultados de voluntários sem máscara; máscara de tecido, máscara cirúrgica e máscara PFF-2, nesta ordem. Barras conectoras e o símbolo * identificam diferenças estatisticamente significativas com $p < 0,05$.

Foram verificadas diferenças estatísticas em duas situações: entre o voluntário sem máscara e com a máscara cirúrgica e entre o voluntário sem máscara e com a máscara PFF-2. Dentre as 27 colônias que deram positivas no teste de DNase, apenas 6 colônias deram negativas, e as demais foram positivas. Dentre as 21 colônias positivas, 17 colônias foram das placas, das quais, os voluntários não estavam utilizando a máscara como proteção facial, e 4 colônias foram das placas em que os voluntários estavam utilizando máscara de tecido. A máscara cirúrgica e a PFF-2 não participaram do teste, pois ambas se mostraram negativas no teste de DNase.

O resultado desse teste traz maior confiabilidade sobre as etapas das provas bioquímicas. Conforme as atuações dos testes sobre as enzimas específicas da espécie estudada, foi observado a redução sobre o número de colônias que deram positiva desde o teste da catalase até o teste da coagulase.

Conforme Cussolim e colaboradores (2021) a coagulase é uma proteína que reage com a protrombina e forma a estafilo-trombina, que converte o fibrinogênio em fibrina, fazendo com que haja a coagulação do plasma, como é verificado em *S. aureus*, que produz essa enzima extracelular.

Sobre as colônias que se mostraram negativa na formação do coágulo no plasma, Whitener e colaboradores (1993) observaram que existem colônias de *Staphylococcus* produtoras de hemólise que são coagulase negativa, no entanto, elas são importantes na formação de biofilmes em instrumentos cirúrgicos e em algumas partes do corpo do indivíduo. Sua sensibilidade a antibióticos é semelhante aos do *S. aureus*.

Burton e colaboradores (2012) também corroboram com esses dados quando relatam que a formação de biofilmes é um preocupante fator de virulência estabelecido por *Staphylococcus*, pois após formarem uma comunidade bacteriana, pode desencadear o surgimento de infecções estafilocócicas como otite, endocardite e infecções de urina.

As 21 colônias que deram positivas no teste da coagulase são de seis voluntários no total, por isso, o antibiograma foi realizado apenas com uma das

colônias desses seis voluntários que deram positiva em todos os testes bioquímicos anteriores (figura 15).



Figura 15: Placas de ágar MH contendo os antimicrobianos. A figura evidencia o resultado dos halos dos antibióticos após a incubação da placa de antibiograma. O antibiograma foi feito em placa com meio de cultura MH (140x15 mm) contendo suspensão bacteriana de aproximadamente 10^8 microrganismos/mL que foi semeada com *swab* em todos os sentidos da placa, conforme descrito na metodologia. Os antimicrobianos foram adicionados no sentido horário na seguinte ordem: oxacilina, eritromicina, cefoxitina, tetraciclina, novobiocina, ampicilina e por fim, no meio da placa, gentamicina.

As colônias dos três voluntários que não utilizaram máscara, e de outros três voluntários que utilizaram apenas a máscara de tecido foram isoladas e testadas contra os antimicrobianos no antibiograma como visualizado na figura 16.

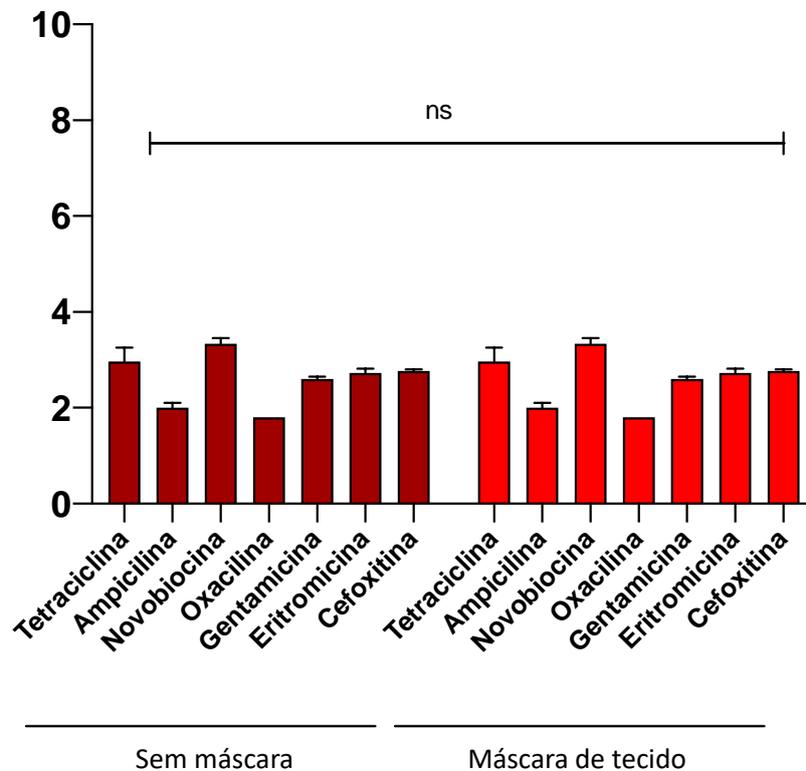


Figura 16: Análise dos halos dos antibiogramas dos voluntários sem a utilização de máscara e com máscara de tecido. Os gráficos de barra expressam os valores dos halos gerados pelos antimicrobianos, utilizados nas colônias que cresceram na prática sem a utilização da máscara e com máscara de tecido. O gráfico na barra de cor vermelho intenso expressa os halos das colônias na qual o voluntário não estava utilizando máscara, e as barras dos antimicrobianos na cor vermelho claro evidenciam os halos das colônias, nos quais, o voluntário estava utilizando a máscara de tecido. Os antimicrobianos utilizados foram: tetraciclina, ampicilina, novobiocina, oxacilina, gentamicina, eritromicina e cefoxitina. Os resultados dos números de colônias estão expressos por gráficos de barra com média e desvio padrão. Barras conectoras e o símbolo ns identificam que não houve diferenças estatisticamente significativas.

A análise dos resultados não mostrou diferença no perfil de susceptibilidade de resistência a antimicrobianos em amostras de indivíduos utilizando ou não máscaras. Após observar as análises de resultados até aqui, pode-se observar que a maior quantidade de colônias que cresceram nas placas foi aquela dos indivíduos que não utilizaram proteção e aqueles que utilizaram as máscaras de tecido como proteção facial.

O fato de não haver diferença nos halos dos antibiogramas dos indivíduos que utilizaram a máscara de tecido como barreira contra os micro-organismos, vai de encontro à análise de MacIntyre e colaboradores (2011), quando discorre sobre o tamanho dos micro-organismos e das micro gotículas, que conseguem ultrapassar o mecanismo de filtragem do tecido que é utilizado na máscara de tecido.

As máscaras de tecido, utilizadas pelos voluntários desse estudo, não passaram por uma análise criteriosa sobre a reutilização, a quantidade de lavagens, a descontaminação e verificação do tecido que foi feita a máscara, e são esses fatores que determinaram o potencial de filtração da máscara de tecido que foi utilizada.

O resultado da figura 16, também evidenciou que o uso da máscara de tecido, nas colônias dos indivíduos que foi realizado o antibiograma, não interferiu na susceptibilidade ou resistência dos antimicrobianos.

Luna e colaboradores (2010) verificaram que inúmeras colônias de *S. aureus* são resistentes aos antimicrobianos como eritromicina, ciprofloxacina, gentamicina, clindamicina rifampicina, além dos beta-lactâmicos em geral, por isso, a utilização de máscaras que se adequem ao rosto, que tenham um alto potencial de filtração e que sejam manuseadas corretamente, são essenciais para barrar a passagem desses micro-organismos.

Os dados obtidos nesse teste, vão de encontro aos resultados obtidos por Davies e colaboradores (2013), em seus estudos de avaliação das máscaras caseiras, no qual, ele observou que a máscara cirúrgica obteve três vezes mais eficácia no bloqueio da transmissão desses micro-organismos do que a máscara caseira.

É válido observar também que esse perfil de susceptibilidade e resistência está sendo avaliado em indivíduos hígidos. Por isso, a resistência aos antimicrobianos não é esperado, espera-se apenas um perfil de susceptibilidade, porque são da microbiota de indivíduos saudáveis.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho buscou analisar a eficiência das máscaras de tecido, cirúrgicas e PFF-2, que foram utilizadas na pandemia do COVID-19, usando como modelo de estudo a bactéria *S. aureus*. Por meio dos resultados e discussões apresentados nesse estudo, foi observado que a utilização de máscara, mesmo que seja de tecido, é mais eficaz como barreira de proteção contra diferentes micro-organismos patogênicos, do que não utilizar nenhuma máscara ou peça filtrante.

Houve diferença significativa na filtragem dos três modelos utilizados pelos voluntários desse estudo, sendo que a máscara de tecido foi a que menos filtrou as micro gotículas emitidas pelos voluntários nas placas. As placas de ágar manitol que foram utilizadas na prática com os voluntários utilizando a máscara de tecido, ficaram com o segundo maior número de colônias.

A prática na qual os voluntários não utilizaram nenhum tipo de máscara, foi aquela onde houve o maior número de UFC, bem como o maior número de colônias que se se mostraram positivas nos testes bioquímicos realizados para a identificação presuntiva de *S. aureus*.

A máscara cirúrgica se mostrou uma barreira eficaz, filtrando a maior parte das micro gotículas e resultando em um nível baixo de colônias crescidas nas placas. E, por fim, a PFF-2 se mostrou uma excelente barreira frente às micro gotículas, filtrando e bloqueando os possíveis micro-organismos patogênicos que foram expelidos pelos voluntários.

Diante disso, é possível concluir que a utilização da máscara, seja ela PFF-2, cirúrgica e até mesmo de tecido, é importante e eficaz como proteção facial contra os micro-organismos, em especial *S. aureus*. Verificou-se também que mesmo a utilização da máscara de tecido é melhor do que não utilizar máscara ou proteção facial nenhuma, entretanto são necessários mais estudos, já que a eficácia dessa máscara depende de vários fatores como: o tecido que a máscara é produzida, o correto manuseio da máscara sem contaminar a parte de dentro, onde está em contato com a boca e o nariz do indivíduo; a boa cobertura da máscara e adaptação sobre o formato do rosto; a correta higienização da máscara; e por fim, a quantidade de vezes que ela foi lavada e utilizada, pois o tecido pode perder sua propriedade de barreira e absorção conforme o tempo de uso.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, A. C., COSTA, M. M., JUNIOR, J. W. P., & MOTA, R. A. (2017). Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, v.11, p. 252- 269.
- ANVISA. Agência nacional de vigilância sanitária (2020). ORIENTAÇÕES GERAIS. Máscaras faciais de uso não profissional. Brasília, 03 de abril de 2020, p. 11.
- ANVISA. Agência nacional de vigilância sanitária (2020). Nota técnica GVIMS/GGTES/ANVISA nº 04/2020: orientações para serviços de saúde: medidas de prevenção e controle que devem ser adotadas durante a assistência aos casos suspeitos ou confirmados de infecção pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Brasília, 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA nº 04/2020. Orientações para serviços de saúde: medidas de prevenção e controle que devem ser adotadas durante a assistência aos casos suspeitos ou confirmados de infecção pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2020.
- AUBRY-DAMON, H., LEGRAND, P., BRUN-BUISSON, C., ASTIER, A., SOUSSY, C. J., & LECLERCQ, R. (1997). Reemergence of gentamicin-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: roles of an infection control program and changes in aminoglycoside use. *Clinical infectious diseases*, v.25, p. 647-653.
- ARARUNA, F. O. S., MORAES, M. B. C., ARARUNA, F. B., LUZ, T. R. S. A., SEREJO, A. P. M., DO AMARAL, F. M. M., & COUTINHO, D. F. (2021). Máscaras de tecido na prevenção da COVID-19: expectativa ou realidade? *Revista de Saúde Coletiva da UEFS*, v.11, e. 5929-5929.
- BANNERMAN, T. L., & PEACOCK, S. J. (2006). *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci. *Manual of clinical microbiology: V. 1*, p.390-411.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Coronavirus Brasil. Painel de casos de doença pelo coronavírus 2019 (COVID-19) no Brasil pelo Ministério da Saúde. Publicado em 25/12/2021.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico Nº 93 - Boletim COE Coronavirus. Publicado em 01/01/2021.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota informativa nº 3/2020-CGGAP/DESF/SAPS/MS. Publicado em 24/03/2020.
- CAMARGO, M. C. D., MARTINEZ-SILVEIRA, M. S., LIMA, A. A., BASTOS, B. P., SANTOS, D. L. D., MOTA, S. E. D. C., & TOLEDO, I. P. D. (2020). Eficácia da máscara facial (TNT) na população para a prevenção de infecções por coronavírus: revisão sistemática. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 25, p. 3365-3376.
- CAPONE, D., CAPONE, R., PEREIRA, A., BRUNO, L., VISCONTI, N. R. G. R., &

JANSEN, J. (2020). Diagnóstico por imagem na pneumonia por COVID-19. *Pulmão RJ, Brasil*, v. 29, p. 22-27.

CARVALHO, M. S. M., ANDRADE, D. F. R. D., SOUSA, Á. F. L. D., VALLE, A. R. M. D. C., FREITAS, D. R. J., NASCIMENTO, G. C., & WATANABE, E. (2016). Colonização nasal por *staphylococcus aureus* entre estudantes de enfermagem: subsídios para monitorização. *Revista brasileira de enfermagem*, v.69, p.1046-1051.

CITAK S., VARLIK O., & GUNDOGAN N. (2003). Slime production and DNase activity of staphylococci isolated from raw milk. *Journal of food safety*, 23(4), 281-288.

CUSSOLIM, P. A., & JUNIOR, A. S. (2021). Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. *Revista faculdades do saber*, v. 6, p.831-843.

CLARKE, S.R.; & FOSTER S.J. (2006) Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Advances in Microbial Physiology*, v.51, p.187-224.

DAVIES, A., THOMPSON, K. A., GIRI, K., KAFATOS, G., WALKER, J., & BENNETT, A. (2013). Testing the efficacy of homemade masks: would they protect in an influenza pandemic? *Disaster medicine and public health preparedness*, v.7, p.413-418.

DINGES, M. M., ORWIN, P. M., & SCHLIEVERT, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews*, v.13, p.16-34.

EVANGELISTA, S. S., & OLIVEIRA, A. C. (2015) *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido na comunidade: um problema mundial. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v.68, p.136-143.

ESTELLITA, M. C. A., PASCOAL, S. C. D., LIMA, K. E. R., DA CUNHA QUEIROZ, E., & MENDES, T. A. D. (2020). Análise do coronavírus SARS-CoV-2/COVID-19 no cenário atual da pandemia mundial: revisão de literatura/Analysis of the coronavirus SARS-CoV-2/COVID-19 in the current world pandemic scenario: literature review, *Brazilian Journal of Health Review*, v.3, ed. 3, p.7058-7072.

BURTON, G. R. W.; & ENGELKIRK, P. G. Microbiologia para as Ciências da Saúde. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

FELDMAN, C., & ANDERSON, R. (2021). The role of co-infections and secondary infections in patients with COVID-19. *Pneumonia*, v.13, p.1-15.

FERREIRA, R. P. (2018). Desenvolvimento de uma máscara facial para filtragem de partículas finas. Tese de mestrado integrado, Engenharia da Energia e Ambiente, Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, 2018.

FREITAS, A. C. S.; BENZ, C. F., & NETO, O. C. (2021). Infecções sanguíneas em ambiente hospitalar e a resistência bacteriana. *Unesc em Revista*, v.5, n.1, p.16-24.
 FREER, J.; & BIRKBECK, T. (1982). Possible conformation of delta-lysin, a membrane-damaging peptide of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Theoretical Biology*, v. 94, p. 535-540.

GIRARDI, J. M.; ANDRADE, A. M.; & SILVA, E. T. Informe técnico. O uso de máscaras para a prevenção e controle da COVID-19. Brasília: Fiocruz Brasília, p.1-8, agosto de 2020.

GELLI, D. S., & MARTINS, M. C. (1986). *Staphylococcus aureus* produtor de termonuclease em alimentos. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, v.46, p.103–109.

HARDY, B. L., BANSAL, G., HEWLETT, K. H., ARORA, A., SCHAFFER, S. D., KAMAU, E., & MERRELL, D. S. (2020). Antimicrobial activity of clinically isolated bacterial species against *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in microbiology*, v.10, p.2977.

HEIMBUCH, B. K., KINNEY, K., LUMLEY, A. E., HARNISH, D. A., BERGMAN, M., & WANDER, J. D. (2014). Cleaning of filtering facepiece respirators contaminated with mucin and *Staphylococcus aureus*. *American journal of infection control*, v.42, ed.3, p.265-270.

HUSEBY, M., SHI, K., BROWN, C.K., DIGRE, J., MENGISTU, F., SEO, K.S., BOHACH, G.A., SCHLIEVERT, P.M., OHLENDORF, D.H., & EARHART, C.A. (2007) Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, v. 189, ed. 23, p.8719-8726.

HORN, C.M., & KIELIAN, T. (2021). Crosstalk Between *Staphylococcus aureus* and Innate Immunity: Focus on Immunometabolism. *Frontiers in Immunology*, v.11, article. 621750.

HOUVÈSSOU, G. M., SOUZA, T. P. D., & SILVEIRA, M. F. D. (2021). Medidas de contenção de tipo lockdown para prevenção e controle da COVID-19: estudo ecológico descritivo, com dados da África do Sul, Alemanha, Brasil, Espanha, Estados Unidos, Itália e Nova Zelândia. *Epidemiologia e serviços de saúde*, v.30.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES: ICTV. Genus: Betacoronavirus.

ISENBERG, H. D. (1998). Essential procedures for clinical microbiology. Washington, DC, p. 2016-221.

KARIMZADEH, R., & GHASSAB, R. K. (2022). Identification of nuc nuclease and sea enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates from nasal mucosa of burn hospital staff: a cross-sectional study. *New Microbes and New Infections*, v.47, e100992.

KUCHARSKI, A. J., RUSSELL, T. W., DIAMOND, C., LIU, Y., EDMUNDS, J., FUNK, S., & FLASCHE, S. (2020). Early dynamics of transmission and control of COVID-19: a mathematical modelling study. *The lancet infectious diseases*, v.20, ed.5, p.553-558.

LEACHI, H., F., I.; & RIBEIRO, R. P. (2020) Máscaras utilizadas pelos profissionais de saúde: o que é recomendado?, *Advances in Nursing and Health*, v. 2, p. 2-7.

LEVINSON, W. *Microbiologia Médica e Imunologia*. 13ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2016.

LEE, A. S., DE LENCASTRE, H., GARAU, J., KLUYTMANS, J., MALHOTRA-KUMAR, S., PESCHEL, A., & HARBARTH, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Nature reviews Disease primers*, v.4, ed.1, p.1-23.

LUNA, C. M., RODRÍGUEZ-NORIEGA, E., BAVESTRELLO, L., & GOTUZZO, E. (2010). Tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.14, p.119-127.

NAVARRE, W.; & SCHNEEWIND, O. Proteolytic cleavage and cell wall anchoring at the LPXTG motif of surface proteins in Gram-positive bacteria. (1994). *Molecular Microbiology*, v.14, p.115-121.

NEVES, G. B. C., PAIVA, A. C., VITURINO, M. G. DA S. C., SANTOS, J. L. S. DOS., FERREIRA, D. H. DA S., SILVA, A. C. A. V. DA., LOPES, L. R. ., PINA JUNIOR , H. S. ., PORTUGAL, W. M. ., & SILVA , M. DA C. L. B. E . (2022). Microorganisms from N95 masks were reused for 36h and then decontaminated by heat which we learned from the COVID-19 pandemic. *Research, Society and Development*, v.1,1 ed.8, e17311830230.

NEOPANE, P., NEPAL, H. P., SHRESTHA, R., UEHARA, O., & ABIKO, Y. (2018). In vitro biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *International journal of general medicine*, p.25-32.

MA, Q. X., SHAN, H., ZHANG, H. L., LI, G. M., YANG, R. M., & CHEN, J. M. (2020). Potential utilities of mask-wearing and instant hand hygiene for fighting SARS-CoV-*Journal of medical virology*, v.92, ed.9, p.1567-1571.

MACINTYRE, C. R., SEALE, H., DUNG, T. C., HIEN, N. T., NGA, P. T., CHUGHTAI, A. A., & WANG, Q. (2015). A cluster randomised trial of cloth masks compared with medical masks in healthcare workers. *BMJ open*, v.5, ed.4, e006577.

MORAIS, F. G., SAKANO, V. K., LIMA, L. N. D., FRANCO, M. A., REIS, D. C., ZANCHETTA, L. M., & ARTAXO, P. (2021). Filtration efficiency of a large set of COVID-19 face masks commonly used in Brazil. *Aerosol Science and Technology*, v.55, ed. 9, p.1028-1041.

LAKHUNDI, S.; & ZHANG, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 31, n. 4, p.12-32.

MARTÍNEZ-AGUILAR, G., HAMMERMAN, W. A., MASON JR, E. O., & KAPLAN, S. L. (2003). Clindamycin treatment of invasive infections caused by community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in children. *The Pediatric infectious disease journal*, v.22, ed.7, p.593-599.

MIMICA, M. J.; & MENDES, Caio M.F. (2007). Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.43, p.399-406.

MCDONALD, C. L., & CHAPIN, K. (1995). Rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture bottles by a classic 2-hour tube coagulase test. *Journal of Clinical Microbiology*, v.33, ed.1, p.50-52.

PASCOE, M. J., ROBERTSON, A., CRAYFORD, A., DURAND, E., STEER, J., CASTELLI, A., & MAILLARD, J. Y. (2020). Dry heat and microwave-generated steam protocols for the rapid decontamination of respiratory personal protective equipment in response to COVID-19-related shortages. *Journal of Hospital Infection*, v.106, n.1, p.10-19.

PARENTE, J. S., FONSECA, A. S. C., PINHEIRO, A. C. M., CALDAS, E. M., NEVES, J. L., COSTA, M. P. DOS S. S. B., RODRIGUES, R. DE S., & SOUZA, T. N. DE. (2021). The nurse's role in preventing SARS-CoV2 infections in the operating room during the COVID-19 pandemic. *Research, Society and Development*, v.10, ed.8, e35410817065.

PASTORE, O. D. A., & IRAMINA, W. S. (2009). A influência da temperatura na eficiência de filtros com carga eletrostática usados na proteção respiratória. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v.34, p.28-39.

PEACOCK, S.J., MOORE, C.E., JUSTICE, A., KANTZANOU, M., STORY, L., MACKIE, K., O'NEILL, G., & DAY, N.P. (2002) Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity*, v.70, ed.9, p.4987-4996.

PREVOST, G.; CRIBIER, B.; COUPPIE, P.; PETIAU, P.; SUPERSAC, G.; FINCK-BARBANCON, V.; MONTEIL, H.; & PIEMONT, Y. (1995). Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infection and Immunity*, v.63, ed.10, p.4121-4129.

PEREIRA-MAIA, E. C., SILVA, P. P., ALMEIDA, W. B. D., SANTOS, H. F. D., MARCIAL, B. L., RUGGIERO, R., & GUERRA, W. (2010). Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. *Química nova*, v.33, p.700-706.

QUINN, P. J., MARKEY, B. K., CARTER, M. E., DONNELLY, W. J., & LEONARD, F. C. (2005). *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Artmed Editora.

RODRIGUES, E. T. Desinfecção de máscaras PFF2 empregando névoa de peróxido de hidrogênio ativada por plasma não-térmico. Dissertação de mestrado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2022.

RODRÍGUEZ-NORIEGA, E., LEÓN-GARNICA, G., PETERSEN-MORFÍN, S., PÉREZ-GÓMEZ, H. R., GONZÁLEZ-DÍAZ, E., & MORFÍN-OTERO, R. (2014). La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*, v.34, p.181-190.

RODRIGUES, F., COELHO, P. (2020). Profissionais de saúde e *staphylococcus aureus* resistente à meticilina: uma revisão da literatura. *HIGEIA: Revista Científica da Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias*, v.4, n.2, p. 9-16.

SILVA, D. P. Colonização por *Staphylococcus aureus* da pele e mucosas de recém-nascidos prematuros hospitalizados em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Trabalho de Conclusão de Curso. Bacharelado em Enfermagem. Escola de Enfermagem, Curso de Enfermagem. Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.

SILVA, L. L. S. D., LIMA, A. F. R., POLLI, D. A., RAZIA, P. F. S., PAVÃO, L. F. A., CAVALCANTI, M. A. F. D. H., & TOSCANO, C. M. (2020). Medidas de distanciamento social para o enfrentamento da COVID-19 no Brasil: caracterização e análise epidemiológica por estado. *Cadernos de Saúde Pública*, v.36.

Schreier, J. B. (1969). Modification of deoxyribo-nuclease test medium for rapid identification of *Serratia marcescens*. *American Journal of Clinical Pathology*, v.51, ed. 6, p.711-16. SOUZA, A. S. R., AMORIM, M. M. R., MELO, A. S. D. O., DELGADO, A. M., FLORÊNCIO, A. C. M. C. D., OLIVEIRA, T. V. D. & KATZ, L. (2021). Aspectos gerais da pandemia de COVID-19. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, v.21, p.29-45.

STRASSER, B. J.; SCHLICH, T. (2020). A history of the medical mask and the rise of throwaway culture. *The Lancet*, v.396, n.10243, p.19-20.

STAMFORD, T. L. M., SILVA, C. G. M. D., MOTA, R. A., & CUNHA NETO, A. D. (2006). Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus spp.* isolados de leite in natura. *Food Science and Technology*, v.26, p.41-45.

STANGANELLI, N., RIBEIRO, R., CLAUDIO, C., MARTINS, J., RIBEIRO, P., & RIBEIRO, B. (2015). A utilização de equipamentos de proteção individual entre trabalhadores de enfermagem de um hospital público. *Cogitare Enfermagem*, v.20, ed.2, p. 345-351.

SZUMOWSKI, J. D., COHEN, D. E., KANAYA, F., & MAYER, K. H. (2007). Treatment and outcomes of infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at an ambulatory clinic. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v.51, ed.2, p.423-428.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE – OPAS. COVID-19: OMS atualiza guia com recomendações sobre uso de máscaras. Washington: Organização Panamericana de Saúde; 2020.

SICKBERT-BENNETT, E. E., SAMET, J. M., CLAPP, P. W., CHEN, H., BERNTSEN, J., ZEMAN, K. L., BENNETT, W. D. (2020). Filtration efficiency of hospital face mask alternatives available for use during the COVID-19 pandemic. *JAMA Internal Medicine*, v.180, n.12, p.1607-1612.

SPEZIALE, P., PIETROCOLA, G., RINDI, S., PROVENZANO, M., PROVENZA, G.,

DI, POTO A., VISAI, L., ARCIOLA, C.R. (2009). Structural and functional role of *Staphylococcus aureus* surface components recognizing adhesive matrix molecules of the host. *Future Microbiology*, v.4, ed.10, p.1337- 1352.

TANG, X., WU, C., LI, X., SONG, Y., YAO, X., WU, X. & LU, J. (2020). On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National science review*, v.7, ed.6, p.1012-1023.

THAMMAVONGSA, V., KIM, H. K., MISSIAKAS, D., & SCHNEEWIND, O. (2015). Staphylococcal manipulation of host immune responses. *Nature Reviews Microbiology*, v.13, ed.9, p.529-543.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 12 Porto Alegre: Artmed, 2017, p.935.

PROTOCOLO: Máscara de proteção respiratória (n95/pff2 ou equivalente sem válvula) protocolo de uso. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São Paulo, 2021.

OLIVEIRA, A. C. D., LUCAS, T. C., & IQUIAPAZA, R. A. (2020). What has the covid-19 pandemic taught us about adopting preventive measures?. *Texto & contexto-enfermagem*, v.29, e20200106.

OTTO, M. (2010). Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Annual review of microbiology*, v.64, p.143-162.

OTERO R. D.; MORATO D.L. (2020). Influência dos fatores ambientais no uso de máscaras não profissionais utilizadas na prevenção da transmissão da Covid-19. *Revista Cereus*, v.12, n.4, p.133-145.

OPLUSTIL, C. P., ZOCCOLI, C. M., TOBOUTI, N. R., & SINTO, S. I. (2004). Procedimentos básicos em microbiologia clínica. *São Paulo: Sarvier*, 544.

VAN DER SANDE, M., TEUNIS, P., & SABEL, R. (2008). Professional and home-made face masks reduce exposure to respiratory infections among the general population. *PloS one*, v.3, n.7, e2618.

YAM, J. Y. L., & ANDY C. K. N. G. Basics of face masks and respirators. *Anaesthesia*, 2020.

WALSH, T. R., & HOWE, R. A. (2002). The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Reviews in Microbiology*, v.56, n.1, p.657-675.

WANG, L., WANG, Y., YE, D., & LIU, Q. (2020). Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence, *International journal of antimicrobial agents*, v.55, n.6, e105948.

WECKMAN, B. G., & CATLIN, B. W. (1957). Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources. *Journal of Bacteriology*, v.73, n.6, p.747-753.

WHITENER, C., CAPUTO, G. M., WEITEKAMP, M. R., & KARCHMER, A. W. (1993). Endocarditis due to coagulase-negative staphylococci: Microbiologic, Epidemiologic, and Clinical Considerations. *Infectious disease clinics of North America*, v.7, n.1, 81-96.

WU, Y. C., CHEN, C. S., & CHAN, Y. J. (2020). The outbreak of COVID-19: An overview. *Journal of the Chinese medical association*, v.83, n.3, p.217.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2020) Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Acesso em: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>

ZHAO, M., LIAO, L., XIAO, W., YU, X., WANG, H., WANG, Q., & CUI, Y. (2020). Household materials selection for homemade cloth face coverings and their filtration efficiency enhancement with triboelectric charging. *Nano letters*, v.20, n.7, p.5544-5552.

ZHU, N., ZHANG, D., WANG, W., LI, X., YANG, B., SONG, J., & TAN, W. (2020). China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*, v.382, n.8, p.727-733.

Zhong, N. S., Zheng, B. J., Li, Y. M., Poon, L. L. M., Xie, Z. H., Chan, K. H., & Guan, Y. (2003). Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*, v.362, n.9393, p.1353-1358.

8. ANEXOS

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Tema: Estudo da eficácia de medidas de prevenção e controle adotados na pandemia de SARS-CoV-2 em uma faculdade privada de Belo Horizonte–MG.

Nome dos Responsáveis: Dra. Cristiane Rodrigues Corrêa e Gabrielle Cristina.

Nós estamos convidando você para participar como voluntário da pesquisa “Estudo da eficácia de medidas de prevenção e controle adotados na pandemia de SARS-CoV-2 em uma faculdade privada de Belo Horizonte–MG.”

Este documento tem o objetivo de lhe dar informações sobre a pesquisa e de assegurar seus direitos como participante da pesquisa. Por favor, antes de decidir participar da pesquisa, leia este Termo com calma e atenção, use o tempo que precisar. Se você tiver dúvidas pode perguntar a qualquer momento. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares, amigos ou outras pessoas antes de decidir participar da pesquisa.

Primeiro nós queremos que você saiba que sua participação nesta pesquisa é opcional. Você pode decidir não participar da pesquisa ou, caso decida participar, você pode sair dela a qualquer momento, sem penalização ou prejuízo para você. Você pode fazer perguntas a qualquer momento.

Depois que você entender a pesquisa e concordar em participar, nós iremos te pedir para assinar ou colocar a sua impressão digital neste documento. Este documento será elaborado em duas vias, uma será dada para você guardar e outra

via será arquivada pelo pesquisador. As duas vias serão assinadas por você e pelo responsável da pesquisa.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Por que estamos fazendo esta pesquisa?

A pesquisa objetiva avaliar a eficácia dos métodos de controle microbiano por meio da prática de lavagem e higienização das mãos e pela utilização de diferentes modelos de máscaras de proteção.

Por que estamos convidando você para fazer parte desta pesquisa?

Para realizarmos nossa pesquisa precisamos de voluntários que cursam a disciplina de Microbiologia Aplicada à Medicina na Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais, FCMMG.

PROCEDIMENTOS

Como será sua participação nesta pesquisa?

Se você concordar em participar desta pesquisa você irá responder um questionário sobre os diferentes métodos de assepsia das mãos e o uso de diferentes tipos de máscaras, e qual sua percepção sobre essas medidas preventivas. Logo depois, você irá participar também de quatro práticas diferentes dentro de sala de aula, a primeira será repousar sua mão no meio de cultura ágar sangue, para que possamos verificar se há crescimento de micro-organismos e quais são eles. A segunda, com as mãos lavadas e higienizadas, você irá repousá-la novamente sobre

outra placa com meio de cultura, para que possamos comparar o crescimento de micro-organismos entre as duas práticas.

A terceira e quarta aula prática se aplica sobre o uso de diferentes tipos de máscaras. Na primeira prática, enquanto seus colegas de turma se mantêm a uma distância mínima de 1,5 metros de você, você irá retirar suas máscaras e falar e tossir sobre a placa *Petri* com meio de cultura. Logo depois, esta mesma prática irá ocorrer utilizando a máscara que você optar, N95, caseira ou cirúrgica, para que possamos comparar o crescimento de micro-organismos entre as duas práticas.

Essas práticas serão aplicadas dentro de sala de aula, com o auxílio dos professores e dos técnicos de laboratório, com a segurança e segundo as diretrizes da Organização Mundial de Saúde.

DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS

Existe algum desconforto ou risco para você por participar desta pesquisa?

A participação neste estudo pode gerar um risco em relação ao tempo de exposição sem a máscara facial para execução do experimento, que são considerados mínimos. Pois nesse período que você estiver sem a máscara será respeitado o distanciamento de segurança de 1,5 metros.

Existe algum benefício para você por participar desta pesquisa?

Não existe nenhum benefício direto ao participante. No entanto, você poderá

acompanhar de perto a execução da pesquisa e verificar o resultado da mesma, podendo chegar à conclusão de qual método e qual produto utilizado é mais eficaz

para proteger e precaver você no combate a diferentes patógenos transmissíveis por meio das mãos e gotículas de saliva.

ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA

Para a execução dessa pesquisa você receberá assistência dos professores da disciplina, assim como das pesquisadoras responsáveis, durante a realização dos procedimentos necessários. A equipe estará à disposição para sanar quaisquer dúvidas que por ventura possam surgir durante o procedimento.

RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO

Você receberá pagamento por participar desta pesquisa?

Você não receberá nenhum pagamento, em dinheiro ou em outra forma, por participar desta pesquisa.

Você terá algum custo participando desta pesquisa?

A sua participação nesta pesquisa não acarretará custos a você.

O que acontece se eu tiver algum dano por causa desta pesquisa?

Se você sofrer algum dano decorrente desta pesquisa, você tem direito à

assistência integral e gratuita sem qualquer restrição ou condicionante, assim como o direito a indenização.

GARANTIA DE SIGILO E PRIVACIDADE

Seus dados e suas informações serão mantidos em segredo?

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e que nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Na divulgação dos resultados dessa pesquisa, seu nome não será citado.

CONTATO

Quem você poderá contatar se tiver perguntas?

Você pode fazer perguntas ou solicitar novas informações em qualquer momento da pesquisa aos pesquisadores responsáveis.

PARA ESCLARECER DÚVIDAS SOBRE A PESQUISA você deve entrar em contato com o pesquisador e sua equipe.

Dra. Cristiane Rodrigues Corrêa (31)971757815; Gabrielle Cristina (31) 971637283.

PARA ESCLARECER DÚVIDAS SOBRE OS SEUS DIREITOS COMO PARTICIPANTE DA PESQUISA você deve entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa das Ciências Médicas (CEPCM-MG). O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado composto por pessoas voluntárias, com o objetivo de defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. O CEPCM-MG é diretamente vinculado à Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais e outros institutos mantidos pela Fundação Educacional Lucas Machado. Você também pode fazer denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo.

Comitê de Ética em Pesquisa das Ciências Médicas (CEPCM-MG):

Endereço: Alameda Ezequiel Dias, nº 275, Bairro Centro. CEP: 30130-110 - Belo Horizonte /MG

Telefone: (31) 3248-7155

Horário de funcionamento: 08:00 às 17:00

E-mail: cep@feluma.org.br

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Após ter lido, discutido e entendido este Termo de Consentimento; após ter recebido esclarecimentos sobre o motivo da pesquisa, seus objetivos, procedimentos, benefício, potenciais riscos e incômodos que esta possa acarretar a você; após todas as suas dúvidas serem esclarecidas, se aceitar participar da pesquisa, por gentileza, preencha os campos abaixo.

Será fornecido a você uma via original deste documento assinada pelo pesquisador e por você, tendo todas as folhas por nós rubricadas.

Nome Legível do participante:

Nome Legível do responsável legal do participante, quando necessário:

Contato telefônico: _____

E-mail(opcional): _____

Data: ____/____/____.

Assinatura do participante ou Responsável legal