

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA EFICÁCIA BACTERICIDA DE DESINFETANTES DE USO GERAL FRENTE A AMOSTRAS DE *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli*

SILVIA MARA SANTOS BRAGA; VERA CRISTINA DE SOUZA FURTADO; CÁSSIA MARIA FURLAN
Centro Universitário de Itajubá - Universitas, Itajubá-MG
silviasbraga@gmail.com

RESUMO

Os desinfetantes de uso geral são agentes químicos utilizados em objetos inanimados para o controle microbiano. São amplamente utilizados em ambientes domésticos e, se forem eficazes, previnem patologias que podem ser decorrentes de bactérias comuns. O sucesso na desinfecção depende de vários fatores, que geralmente constam no rótulo do fabricante do desinfetante, como modo de uso, concentração ideal, sobre quais micro-organismos atua, tempo de ação e natureza do material a ser desinfetado. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia bactericida de desinfetantes de uso geral adquiridos comercialmente, sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Cinco diferentes amostras, cuja substância ativa era composta por derivados fenólicos ou por quaternários de amônio, foram analisadas através do método de diluição em tubos e contagem de tempo de ação de 5, 10, 15 e 20 minutos, com posterior incubação por 48 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Todas as amostras foram testadas frente a concentrações pré-determinadas de *S. aureus* e de *E. coli*. Observou-se, após o tempo de incubação, que nenhum tubo apresentou crescimento dos micro-organismos testados, representado pela ausência de turvação dos meios, nos tempos de contato avaliados. Conclui-se, portanto, que todas as amostras de desinfetantes testadas foram eficazes contra *S. aureus* e *E. coli*, na concentração usual de uso, em um tempo mínimo de contato de 5 minutos.

Palavras chave: Eficácia bactericida; desinfetantes de uso geral; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

1. Introdução

No mercado atual, existem vários desinfetantes de uso geral, com diferentes princípios ativos em sua composição. Os desinfetantes de uso geral são agentes químicos utilizados em objetos inanimados para o controle microbiano. O sucesso na desinfecção depende de vários fatores, que geralmente constam no rótulo do fabricante do desinfetante, como modo de uso, concentração ideal, quais micro-organismos o desinfetante atua, tempo de ação e a natureza do material a ser desinfetado. O sucesso no controle bacteriano no ambiente doméstico evita a contaminação de alimentos e também atua sobre o controle de patologias provocadas pelos micro-organismos comuns no ambiente ⁽¹⁾.

Staphylococcus aureus e *Escherichia coli* são micro-organismos patogênicos frequentemente presentes no ambiente doméstico. *Staphylococcus aureus* são bactérias comuns na pele e mucosa humana, crescem em forma de cachos de uva, são gram positivas e conseguem crescer bem sob condições de alta pressão osmótica e pouca umidade, possibilitando seu desenvolvimento em alimentos como presunto e carnes curtidas. Produzem toxinas que podem causar infecções de pele ou de regiões mais profundas. Podem causar infecções hospitalares e adquirir resistência a antibióticos. Quando ingeridas, podem causar intoxicação alimentar devido a sua enteroxina ^(1,3,9,10). A *Escherichia coli* é uma bactéria em forma

de bastonetes gram negativos, pertencente ao grupo dos coliformes. São bactérias que habitam o trato intestinal de homens e outros animais, podendo causar infecções do trato urinário e algumas podem produzir enterotoxinas causadoras de diarreia e doenças de origem alimentar. Por serem micro-organismos de origem intestinal, são indicativos de falta de higiene, quando encontradas em um ambiente ^(1,2,9).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), desinfetante é um produto que mata todos os micro-organismos patogênicos, mas não necessariamente todas as formas microbianas esporuladas, em objetos e superfícies inanimadas. Desinfetantes de uso geral são produtos para uso domiciliar e em ambientes públicos, destinados exclusivamente a desodorização, sanitização e desinfecção de pisos, paredes, mobiliários e outras superfícies, ambientes, sanitários e utensílios que não entrem em contato com alimentos. O tempo recomendado de contato para desinfetantes de uso geral é de 10 minutos. Os princípios ativos permitidos para uso com ação antimicrobiana devem ser substâncias comprovadamente aceitas pela EPA (*Environmental Protection Agency*), FDA (*Food and Drug Administration*) ou Comunidade Européia ⁽⁴⁾.

Os desinfetantes analisados foram compostos por ativos de derivados fenólicos ou por quaternários de amônio. Os compostos quaternários

de amônio, entre os quais se encontra o alquil dimetil benzil amônio, são detergentes catiônicos sintéticos que possuem atividade antimicrobiana. São solúveis em água, tem toxicidade relativamente baixa e boa estabilidade⁽⁶⁾. Seu mecanismo de ação se dá através de ação bactericida, graças à inativação de enzimas relacionadas aos processos de transformação de energia, à desnaturação de proteínas celulares e à ruptura da membrana celular⁽¹⁾. Os derivados fenólicos são compostos por uma molécula de fenol (ácido carbólico), que foi quimicamente alterada para reduzir o efeito irritante e também para aumentar sua atividade antibacteriana. Atuam lesando as membranas plasmáticas, inativando enzimas e desnaturando proteínas⁽⁵⁾. Esses compostos permanecem ativos em presença de compostos orgânicos, são estáveis e persistem por longos períodos após a aplicação. Um exemplo de fenol sintético frequentemente usado em ambientes hospitalares e domésticos é o *O*-benzil *p*-clorofenol^(1,6,11).

O objetivo deste trabalho foi testar a eficácia bactericida de cinco desinfetantes de uso geral, adquiridos comercialmente e compostos por diferentes princípios ativos, frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

2. Materiais e Métodos

As análises foram realizadas nos laboratórios de Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos e no de Análises Clínicas, do Centro Universitário de Itajubá – Universitas.

Seleção e preparo das amostras

Foram adquiridas amostras de cinco diferentes desinfetantes nos supermercados da cidade de Itajubá-MG, selecionando marcas comumente encontradas no mercado nacional, com diferentes agentes bactericidas e dentro do prazo de validade, conforme quadros abaixo.

Quadro 1: Composição química dos desinfetantes avaliados.

Produto	Princípio ativo e concentração
Desinfetante A	Cloreto de N-decil dimetil amônio 0,35%
Desinfetante B	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio 0,4%
Desinfetante C	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio 1,2%
Desinfetante D	<i>O</i> -benzil <i>p</i> -clorofenol 0,9%
Desinfetante E	Cloreto de Alquil Dimetil Benzil Amônio 0,3%

Quadro 2: Características de fabricação dos desinfetantes testados.

Produto	Data de fabricação	Data de validade	Lote
Desinfetante A	29/06/09	06/11	044
Desinfetante B	16/03/08	03/11	148
Desinfetante C	07/10/08	10/11	4478992
Desinfetante D	19/09/09	09/11	BR1013
Desinfetante E	10/09	10/11	09/301

Para o ensaio da eficácia, as amostras adquiridas foram preparadas conforme instruções constantes do rótulo, nas reais condições de uso.

Seleção e preparo dos inóculos de micro-organismos

A escolha dos micro-organismos se baseou no espectro de ação constante nos rótulos dos desinfetantes, selecionando aqueles de ocorrência mais comum no ambiente doméstico e de acordo com a sua importância patogênica, sendo um de característica gram positiva e outro gram negativa.

Os micro-organismos selecionados, de acordo com os critérios acima expostos, foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Para os ensaios, foram utilizadas cepas padrão, ATCC 25923 e ATCC 25922, respectivamente.

O meio de cultura utilizado para cultivo dos micro-organismos foi Agar Tryptic Soy Agar - TSA (Fabricante: HIMEDIA®, Lote: 51499). Cada cepa foi repicada em meio TSA em tubo inclinado, 24 horas antes do teste de eficácia, para obtenção de colônias com crescimento recente.

Para obtenção da suspensão dos micro-organismos, as colônias acima foram submetidas a diluições seriadas até 10^{-9} , utilizando-se solução fisiológica estéril. Em seguida, esta diluição foi submetida à contagem das colônias através do método de Pour Plate, em placas contendo o meio TSA.

Os meios de cultura foram preparados conforme instruções do fabricante e esterilizados em autoclave vertical Fabbe, modelo 103, onde também foram esterilizados todos os materiais utilizados.

Técnica da diluição em tubos

Para determinação da eficácia dos desinfetantes foi utilizada a técnica de diluição em tubos, contendo caldo nutriente estéril, representado pelo Caldo Tryptic Soy Broth - TSB (Fabricante: HIMEDIA®, Lote: 52221).

Para o ensaio, distribuiu-se 5 mL de cada amostra do desinfetante em um tubo de ensaio esterilizado. Adicionou-se a esse tubo 0,1 mL de suspensão de *Staphylococcus aureus*. Imediatamente após o contato do inóculo com o desinfetante, teve início a contagem do tempo. Em intervalos de tempo de 5, 10, 15 e 20 minutos, foi transferida uma alíquota de 1 mL do tubo contendo

o desinfetante mais o micro-organismo, para outros tubos contendo 5 mL de caldo nutriente estéril (TSB). Os tubos inoculados foram incubados por 48 horas a $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa Quimis Q316 M2 e, em seguida, examinados quanto ao crescimento microbiano, caracterizado pela turvação do caldo. Repetiu-se o mesmo ensaio, para cada amostra, utilizando a suspensão de *Escherichia coli*. Se o caldo permanecer límpido, indica que não houve crescimento bacteriano e que o desinfetante foi

capaz de matar o micro-organismo no período de tempo em que foi exposto ⁽⁶⁾.

3. Resultados

A avaliação da eficácia bactericida frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, em diferentes períodos de contato, estão representadas nos quadros 3 e 4.

Quadro 3: Resultado do teste de eficácia bactericida dos desinfetantes de uso geral testados, frente a *S. aureus*.

Tempo de contato (min)	Desinfetante A	Desinfetante B	Desinfetante C	Desinfetante D	Desinfetante E
5	Ausência de turvação				
10	Ausência de turvação				
15	Ausência de turvação				
20	Ausência de turvação				

Quadro 4: Resultado do teste de eficácia bactericida dos desinfetantes de uso geral testados, frente a *E. coli*.

Tempo de contato (min)	Desinfetante A	Desinfetante B	Desinfetante C	Desinfetante D	Desinfetante E
5	Ausência de turvação				
10	Ausência de turvação				
15	Ausência de turvação				
20	Ausência de turvação				

4. Discussão e Conclusão

Diante da facilidade de obtenção e preço acessível, os desinfetantes de uso geral são amplamente utilizados na limpeza de ambientes domésticos. É comum o consumidor escolher o produto pelo odor agradável e pelo baixo custo, o que muitas vezes contribui para a sua utilização de forma incorreta e pela escolha de produtos de má qualidade. A fim de obter uma adequada ação antimicrobiana de um desinfetante, é importante que o consumidor o empregue de modo correto, obedecendo as instruções do fabricante quanto à diluição adequada e o tempo de ação. Avaliando a ação bactericida de desinfetantes domésticos contra o vibrião da cólera, Timenetsky (1992) concluiu que os agentes químicos com atividade bactericida utilizados para desinfecção podem não ser eficazes

se as superfícies a serem descontaminadas não forem previamente lavadas com água e/ou sabão ⁽⁸⁾.

Os fabricantes de desinfetantes de uso geral, para obtenção do registro e comercialização do produto, devem obedecer a vários critérios estabelecidos pela ANVISA, como a composição química, eficácia bactericida, toxicidade, modo de uso, critérios de embalagem e rotulagem.

Os cinco desinfetantes testados descreveram no rótulo a indicação do preparo de diluições definidas para desinfecção, desodorização ou limpeza e o tempo de contato mínimo para ação. Alguns também indicaram quais micro-organismos eram eficazes, incluindo o *Vibrio cholerae*.

De acordo com Timenetsky (1990), após testes realizados para registro e comercialização, alguns desinfetantes de uso hospitalar foram desqualificados e então, os fabricantes de desinfetantes de uso hospitalar e de uso geral

começaram a alterar a formulação e embalagem para atender as novas exigências. Através de metodologia diferente, Timenetsky (1990) mostrou que alguns desinfetantes de uso geral foram desqualificados e outros mostraram excelentes resultados quando testados em amostras de *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*.

Andrade e Furlan (2009), ao testar a ação de desinfetante à base de hipoclorito de sódio, também verificaram e comprovaram a eficácia desse agente químico frente a cepas de *S. aureus* e de *E. coli* ⁽²⁾.

A técnica de diluição em tubos para avaliação da eficácia utilizada neste trabalho foi escolhida por sua facilidade de execução e baixo custo. Observou-se que não houve turvação em nenhum dos tubos, com nenhum dos microorganismos utilizados e nos tempos de contato testados, mostrando que os cinco desinfetantes exerceram a sua ação bactericida antes do tempo estabelecido de dez minutos de contato.

Sendo assim, fica clara a importância da avaliação da eficácia bactericida dos desinfetantes de uso geral, para garantir segurança e confiabilidade ao consumidor.

5. Referências

- [1] TORTORA, G.J. *et al.* **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.
- [2] ANDRADE, D.C.C.; FURLAN, C.M. Avaliação da estabilidade físico-química da solução de hipoclorito de sódio a 0,5% utilizada pela FARMAUSCS e de sua eficácia bactericida sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. Publicação do Centro de Saúde USCS. Universidade São Caetano do Sul – Ano VII nº 21, jul/set 2009 – São Caetano do Sul (SP): USCS, 2009.
- [3] MEDEIROS, Elizabeth Sampaio de *et al.* Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-*dipping* frente a amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 1, jan. 2009. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100736X2009000100011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 15 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100-736X2009000100011.
- [4] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 14**, de 28 de fevereiro de 2007, Regulamento Técnico Para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana. Disponível em <<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=25959>>. Acesso em 16 fev. 2010.
- [5] MOLINA, Paulo Duran dos Santos. **Eficácia de desinfetantes frente a bactérias sobreviventes a higienização de equipamentos em matadouro-**

frigorífico de bovinos. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/16140/000696739.pdf?sequence=1>>. Acesso em 26 mar. 2010.

[6] PELCZAR, M. *et al.* **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. Volume I.

[7] TIMENETSKY, Jorge. Avaliação microbiológica de desinfetantes químicos de uso doméstico. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 24, n. 1, fev. 1990. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489101990000100008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 1 fev. 2010. doi: 10.1590/S0034-89101990000100008.

[8] TIMENETSKY, Jorge; YANAGUITA, Roberto Mítio; SILVA, Luzinete Alves. Avaliação de desinfetantes químicos de uso doméstico contra *Vibrio cholerae* EL TOR (amostra não toxigênica). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 5, Out. 1992. Disponível em <http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489101992000500005&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 26 mar. 2010. doi: 10.1590/S0034-89101992000500005.

[9] BURTON, G.R.W. e ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia para as Ciências da Saúde**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2005.

[10] BROOKS, G.F. *et al.* **Microbiologia Médica**. 22.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda, 2001.

[11] TIMENETSKY, Jorge; ALTERTHUM, Flávio. Coeficiente fenólico na avaliação microbiológica de desinfetantes de uso hospitalar e doméstico. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 23, n. 2, abr. 1989. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101989000200011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 08 abr. 2010. doi: 10.1590/S0034-89101989000200011.