

## **AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS SOBRE SUPERFÍCIES E EFICÁCIA DE SANEANTES<sup>1</sup>**

### *EVALUATION OF THE VIABILITY OF PATHOGENIC BACTERIA ON SURFACES AND THE EFFICACY OF SANITIZERS*

**Cristiane Antunes Teixeira<sup>2</sup> e Ana Paula Becker<sup>3</sup>**

#### **RESUMO**

Esta pesquisa tratou de um tema fundamental para a área de Ciências da Saúde, visto ter abordado a questão da viabilidade de bactérias sobre superfícies e a eficácia de saneantes. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi encontrar novas alternativas eficazes para a desinfecção de superfícies, por meio de testes com produtos para higienização, visto que o produto mais eficaz e amplamente utilizado hoje, o hipoclorito, é tóxico e corrosivo. Para isso, uma suspensão bacteriana com seis bactérias patogênicas foi preparada e exposta a uma superfície com tamanho padronizado. Sobre essa superfície foram aplicados: hipoclorito de sódio, álcool 50%, álcool 70% e detergente. Após a realização da exposição, foi avaliada a viabilidade da bactéria em função do tempo, realizando-se coletas em períodos determinados (10 min, 6h, 12h, 24h, 48h e 96h). Observou-se que quando as bactérias são expostas juntas na superfície, as enterobactérias (*K. pneumoniae* e *E. cloacae*) foram as que permaneceram viáveis por mais tempo 96h, enquanto que *Acinetobacter spp.* e *S. epidermidis* morreram em 24h de exposição e *S. aureus* em 48h de exposição. Além disso, avaliou-se a eficácia dos produtos, álcool 70% e hipoclorito constatando-se que esses foram capazes de exterminar os seis patógenos avaliados, enquanto os produtos álcool 50% e detergente eliminaram metade ou menos que isso. Conclui-se que o álcool 70% pode ser utilizado com segurança em superfícies, sendo tão eficaz quanto o hipoclorito.

**Palavras-chave:** desinfecção, higienização de superfície, micro-organismos, hipoclorito, álcool.

#### **ABSTRACT**

*This research investigated a fundamental theme for the area of Health Sciences, studying the viability of bacteria on surfaces and the effectiveness of sanitizers. Therefore, the objective of the present work was to find new efficient alternatives for the disinfection of surfaces, through tests with products for hygiene, since the most effective and widely used product today, hypochlorite, is toxic and corrosive. For this, a bacterial suspension with six pathogenic bacteria was prepared and exposed to a standard size surface. On this surface, there were applied: sodium hypochlorite, 50% alcohol, 70% alcohol and detergent. After the exposure, the viability of the bacteria was evaluated in relation to time, and the samples were collected at certain periods (10 min, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h and 96 h). It was observed that when the bacteria are exposed together at the surface, the enterobacteria (*K. pneumoniae* and *E. cloacae*) were those that remained viable for the longest 96h, whereas *Acinetobacter spp.* and *S. epidermidis* died within 24 hours of exposure and *S. aureus* within 48 hours of exposure. In addition, the efficacy of the products, 70% alcohol and hypochlorite were evaluated, which were able to exterminate the six pathogens evaluated, while the 50% alcohol and detergent products eliminated half or less. It is concluded that 70% alcohol can be safely used on surfaces, being as effective as hypochlorite.*

**Keywords:** disinfection, surface hygiene, microorganisms, hypochlorite, alcohol.

<sup>1</sup> Trabalho Final de Graduação - TFG.

<sup>2</sup> Acadêmica do curso de Biomedicina - Centro Universitário Franciscano. E-mail: crisanteix@gmail.com

<sup>3</sup> Orientadora. Docente do curso de Biomedicina - Centro Universitário Franciscano. E-mail: anapbecker1@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Por meio de relatos da história, pode-se identificar o avanço do controle das doenças infecciosas, relacionadas à descoberta e uso de potentes agentes antimicrobianos e por técnicas modernas de assistência a doenças complexas (ZANON, 1987). Contudo, ainda convive-se com a difusão de bactérias multirresistentes e a dificuldade de superar seus diferentes mecanismos de resistência e virulência (PELCZAR et al., 1996). Sendo assim, a higienização adequada de mãos e superfícies tem se tornado cada vez mais importante (CERQUEIRA; PELEG, 2011). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na RDC nº 275, de 21/10/2002, o conceito de “limpeza”, se aplica à remoção de terra, resíduos de alimentos, sujidades e/ou outras substâncias indesejáveis; enquanto que “higiene” é um sistema de princípios ou regras necessárias para evitar doenças e conservar a saúde da coletividade (BRASIL, 2001). A partir do estudo realizado pela ANVISA (2010), sabe-se que após ser higienizada, uma superfície reduz aproximadamente 99% a carga microbiana. Já para as superfícies somente limpas há uma redução de cerca de 80% dos micro-organismos.

O tipo de limpeza se dará de acordo com o ambiente, frequência e objetivos a serem alcançados no setor de saúde (YAMAUSHI; LACERDA; GABRIELLONI, 2000) e, apesar do avanço da tecnologia e do surgimento de novos produtos para desinfecção, o hipoclorito de sódio é o saneante mais utilizado na desinfecção de superfícies e para garantir a boa qualidade da água e dos alimentos. Isso ocorre, devido a sua capacidade antimicrobiana, que quando comparado aos demais desinfetantes, torna-se aceito pelo baixo custo e fácil disponibilidade no mercado, entretanto com alta toxicidade aos tecidos e poder corrosivo (ANDRADE; MACEDO, 1996).

Tem-se como objetivo geral desse trabalho, avaliar a eficácia de saneantes já utilizados no processo de desinfecção de superfícies, por intermédio de testes com produtos para higienização, além de analisar a viabilidade desses micro-organismos em superfície (por quanto tempo permanecem vivos).

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho, foram escolhidas as seguintes bactérias para a verificação dos testes: *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. As bactérias foram obtidas a partir de uma coleção de cultura do laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Franciscano, oriundas de isolados clínicos. Após o crescimento *overnight* em estufa a 37°C, foram preparadas suspensões de aproximadamente  $3,0 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia/mL (UFC/mL) alcançadas pela leitura da turbidez em espectrofotômetro (600 nm e absorbância (Abs) de 0,150). Essa quantidade é o dobro da escala padrão de Mc Farland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) utilizada para ensaios que mimetizam infecções humanas e é bem aceita para trabalhos com superfícies. Para os testes de viabilidade foram

pré-higienizadas as superfícies com hipoclorito de sódio e demarcadas seis áreas, cada uma com 20 cm x 20 cm. Em seguida, a suspensão com as 6 bactérias patogênicas citadas foi despejada sobre a superfície. Cada superfície demarcada foi higienizada com os seguintes produtos: hipoclorito de sódio (marca RIO 2,5%), álcool 70% (marca Ciclofarma), álcool 50% (levou-se em consideração a volatilidade do álcool 70%, quando exposto em bancada) e detergente neutro (marca Hipersul). O produto ficou agindo por 10 minutos e então foi realizada coleta com swab para avaliação da eficácia. Para teste de eficácia de produto, a higienização foi testada de duas formas: (1) embebendo o produto a ser testado em papel toalha e (2) derramando o produto diretamente sobre a superfície. Em ambos os casos, foram coletados swabs pré e pós-limpeza.

Além disso, a mesma suspensão foi despejada sobre outra superfície para avaliação da viabilidade das bactérias sem adição de produto e os seguintes tempos foram coletados: 10 minutos (min), 6 horas (h), 12h, 24h, 48h, 96h.

Os swabs (de avaliação de eficácia e de viabilidade em todos os tempos) foram inoculados em caldo *brain heart infusion* (BHI) por incubação *overnight* e, após, semeados em meios de cultura adequados para identificação (ágar sangue e Mac Conkey). Os bacilos Gram-negativos foram identificados pelos testes de fermentação da glicose, urease e motilidade e os cocos Gram-positivos pelos testes de catalase e coagulase.

## RESULTADOS

A partir dos testes realizados, foi possível chegar aos resultados que serão apresentados a seguir. Primeiramente, no teste que avaliou a viabilidade das bactérias, observou-se o crescimento dos três bacilos Gram-negativos testados: *Acinetobacter spp.*, *K. pneumoniae* e *E. cloacae*, em até 24h. Já no período compreendido entre 48h e 96h, verificou-se apenas o crescimento dos micro-organismos *E. cloacae* e *K. pneumoniae*.

Quanto aos cocos Gram-positivos, constatou-se que houve crescimento dos três micro-organismos testados: *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis* em até 12h. No tempo até 24h ocorreu o crescimento de *S. aureus* e *S. epidermidis*. Já em 48h houve crescimento apenas do *S. aureus*. E por fim, em 96h não houve crescimento de nenhum coco Gram-positivo. O resultado do crescimento dos bacilos gram-negativos e cocos gram-positivos de acordo com o tempo de viabilidade pode ser verificado na tabela 1.

A avaliação da eficácia dos sanitizantes, desenvolvida de duas formas (impregnado em papel toalha e aplicação direta) mostrou os seguintes resultados: na análise com hipoclorito de sódio não houve crescimento bacteriano, quando impregnado em papel toalha, o mesmo resultado foi obtido quando utilizada a técnica de aplicação direta na superfície no tempo de 10 min. Já no procedimento em que foi utilizado o detergente, foi observado o crescimento das seguintes bactérias: *K. pneumoniae*, *E. cloacae*,

*Acinetobacter spp.*, *S. aureus* e *S. epidermidis*, na técnica utilizando o papel toalha. Enquanto que na aplicação direta na superfície, no tempo de 10 min, houve crescimento somente de *K. pneumoniae*, *E. cloacae* e *Acinetobacter spp.* Resultados semelhantes foram encontrados utilizando o saneante álcool 50%, sendo observado o crescimento das bactérias: *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus* e *S. epidermidis*, quando a superfície foi higienizada com papel toalha impregnado pelo álcool. Quando o produto foi aplicado diretamente na superfície, agindo por 10 min, constatou-se a presença somente de: *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Acinetobacter spp.* e *S. aureus*. Na higienização com álcool 70%, utilizando a técnica de impregnação do produto no papel toalha, observou-se o crescimento de *K. pneumoniae*, diferente do resultado encontrado na técnica de aplicação direta sobre superfície no tempo de 10 min, onde não foram encontrados micro-organismos. Isso pode ser observado na tabela 2.

**Tabela 1** - Resultado da viabilidade bacteriana em função do tempo sem aplicação de desinfetante. As bactérias foram aplicadas sobre a superfície no tempo zero. Já nos tempos indicados na primeira coluna, foi coletado material para análise da viabilidade (morte natural por falta de nutriente).

Tempo	Bacilos			Cocos		
	Gram-negativos			Gram-positivos		
<b>10min</b>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecalis</i>
<b>6h</b>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecalis</i>
<b>12h</b>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecalis</i>
<b>24h</b>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	X
<b>48h</b>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	X	<i>S. aureus</i>	X	X
<b>96h</b>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	X	X	X	X

Fonte: autoria própria.

X representa a inexistência de micro-organismos.

**Tabela 2** - Aplicação de desinfetante/antisséptico sobre as superfícies. Uma suspensão das 6 bactérias foi aplicada em área pré-determinada sobre uma superfície e os saneantes descritos na primeira coluna foram utilizados sobre a superfície de duas maneiras diferentes (descritas na segunda e terceira coluna), a fim de verificar quais das 6 (seis) bactérias permaneciam vivas após a aplicação do produto.

Saneantes	Bactérias viáveis impregnando papel toalha	Bactérias viáveis com aplicação direta na superfície e agindo por 10 min
Hipoclorito de sódio	X	X
Detergente	<i>K. pneumoniae</i> <i>E. cloacae</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>E. cloacae</i> <i>Acinetobacter spp.</i>
Álcool 50%	<i>K. pneumoniae</i> <i>E. cloacae</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>E. cloacae</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>S. aureus</i>
Álcool 70%	<i>K. pneumoniae</i>	X

Fonte: autoria própria.

X equivale à inexistência de micro-organismos.

## DISCUSSÃO

Estudos apontam que a transmissão de patógenos se dá pelas mãos dos profissionais de saúde. Marchaim et al. (2007), por exemplo, demonstram uma variação de 25% a 40% de colonização de micro-organismos nas mãos desses profissionais. Os resultados obtidos nessa pesquisa estão de acordo com os ensinamentos dos autores Venturelli et al. (2009) que, por meio de análises microbiológicas, verificaram a contaminação de diferentes tipos de alicates ortodônticos com bactérias presentes nas mãos dos ortodontistas e essas bactérias permaneceram nos alicates, mesmo após lavagem com água e sabão, e fricção de álcool 70% por 1 minuto, concluindo que somente a desinfecção não é suficiente.

Silva (2009) relatou atenção especial às Infecções Adquiridas nos Cuidados de Saúde (IACS) pelo *Acinetobacter spp.* como um micro-organismo com crescente manifestação hospitalar nos últimos anos. A capacidade de persistência à adaptação e as muitas manifestações clínicas o torna um agente infeccioso problemático, sendo essencial utilizar um sanitizante com capacidade de removê-lo de superfícies para evitar a transmissão aos pacientes (VIEIRA; PICOLI, 2015).

Corroborando com a presente pesquisa, os doutrinadores Ferreira et al. (2011) realizaram um estudo em uma Unidade de Terapia Intensiva, onde por 14 dias foram realizadas avaliações de superfícies. Após o processo de limpeza, com pano embebido em álcool 70%, foi realizada cultura e, por meio do método de inspeção visual, 20% das amostras acusaram presença de *S. aureus*/MRSA, sendo reprovadas.

Um fato constatado na presente pesquisa foi que, quando a superfície foi exposta ao álcool 70%, não foi observado crescimento para a cepa de *Acinetobacter spp.*, enquanto que a *Klebsiella pneumoniae* apresentou crescimento. A maioria das análises demonstra que *Acinetobacter spp.* é uma bactéria resistente à desinfecção, tanto que é um problema em surtos de infecções hospitalares. Neste estudo essa bactéria não permaneceu viável após aplicação de álcool 70%, no entanto, a bactéria *Klebsiella pneumoniae* permaneceu viável. Justifica-se a presença de *K. pneumoniae* e a ausência de *Acinetobacter spp.* pois a taxa de crescimento de *K. pneumoniae* e outras enterobactérias é maior (MEDEIROS, 1997) e ambas foram colocadas no mesmo momento na superfície (na mesma suspensão bacteriana). É possível que se *Acinetobacter spp.* não tivesse competindo com outras bactérias para crescimento sobre a superfície, permanecesse viável por mais tempo (RADCLIFFE et al., 2004).

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam a total eficácia do álcool 70% para higienização de superfícies com os patógenos testados sendo uma alternativa ao hipoclorito quando a superfície não suporta produto corrosivo.

## CONCLUSÃO

Levando-se em consideração todo o exposto no presente trabalho, é possível chegar a algumas conclusões: quando expostas juntas, as bactérias gram-negativas permanecem viáveis por mais

tempo em uma superfície, comparadas às gram-positivas. Dentre as gram-negativas, *K. pneumoniae* permaneceu viável por mais tempo, podendo representar um problema na remoção em superfícies contaminadas com fluídos humanos.

Quanto ao efeito dos saneantes, primeiro, constatou-se que após a higienização com saneantes, confirmou-se a eficácia do hipoclorito de sódio como um desinfetante potente na mortalidade de micro-organismos, bem como o álcool 70%, quando derramado diretamente na superfície tornando-se o último uma alternativa comprovadamente eficaz. Em contrapartida, visto que álcool é um produto volátil, é necessário cuidar a forma de armazenamento do frasco em uso, pois o álcool 50% não pode substituir o efeito saneante do hipoclorito de sódio e do álcool 70%.

## REFERÊNCIAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies**. Brasília: ANVISA, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/adb7uq>>. Acesso em: 27 abr. 2016.

ANDRADE, N. J.; MACÊDO, A. B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.

CERQUEIRA, G. M.; PELEG, A. Y. **Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity**. 2011. Disponível em: <<https://goo.gl/sprUUh>>. Acesso em: 22 jun. 2017.

FERREIRA, A. M. et al. Condições de limpeza de superfícies próximas ao paciente, em uma unidade de terapia intensiva. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 19, p. 1-8, 2011.

MARCHAIM, D. et al. Surveillance cultures and duration of carriage of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 5, p. 1551-1555, 2007.

MEDEIROS, A. A. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, Suppl.1, p. 19-45, 1997.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. São Paulo: Makron Books, 1996.

RADCLIFFE, C. E. et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. **International Endodontic Journal**, v. 37, p. 438-46, 2004.

SILVA, R. N. P. **A Importância do *Acinetobacter baumannii* na Infecção Adquirida nos Cuidados de Saúde**. 2009. 21f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) - Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/J29WBp>>. Acesso em: 23 jun. 2017.

VENTURELLI, C. et al. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. **Dental Press Ortodontia Ortopedia Facial**, v. 14, n. 4, p. 43-52, 2009.

VIEIRA, P. B.; PICOLI, S. U. *Acinetobacter baumannii* Multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Clinical and Epidemiological Aspects. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 19, n. 2, p. 155, 2015.

YAMAUSHI, N. I.; LACERDA, R. A.; GABRIELLONI, M. C. Limpeza hospitalar. In: FERNANDES, A. T. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 1141-1155.

ZANON, U. N. J. Aderência e colonização. In: ZANON, U.; NEVES, J. **Infecções hospitalares: prevenção, diagnóstico e tratamento**. Rio de Janeiro: MEDSI, 1987.

