

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO ÁLCOOL COMERCIAL PARA DESINFECÇÃO DE SUPERFÍCIES

Larissa Ferreira Araújo¹, Tatianny Nunes da Luz Melo¹, Jorge Luiz Fortuna²

Este estudo objetivou avaliar a eficiência antimicrobiana do álcool etílico comercial (gel e líquido), usado como desinfetante e vendido em estabelecimentos comerciais no município de Teixeira de Freitas-BA. Foram realizadas análises laboratoriais, onde áreas demarcadas de uma superfície foram previamente esterilizadas, em seguida contaminadas com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e logo depois desinfetadas com diferentes tipos de álcool comercial. As amostras dessas áreas foram coletadas utilizando um suabe estéril e inoculadas em placas de Petri contendo Ágar Nutriente. As placas foram incubadas em estufas microbiológicas a 35-37°C/24-48h. Após a incubação verificou-se que as superfícies desinfetadas com álcool gel não apresentaram crescimento bacteriano, validando a ação deste como desinfetante de superfícies, porém, em uma das amostras que utilizou álcool líquido houve crescimento bacteriano mesmo após o seu uso, apresentando crescimento de *S. aureus*, sendo reprovado como desinfetante de superfícies. Conclui-se que, o potencial microbicida do álcool etílico em gel foi validado como desinfetante de superfícies. Já o álcool etílico líquido vendido no comércio foi reprovado para tal finalidade, pois permitiu o crescimento bacteriano.

Palavras-chave: Álcool. Antissepsia. Contaminação. Desinfecção. Etanol.

This study had the objective to evaluate the antimicrobial efficiency of commercial ethyl alcohol (gel and liquid), used as disinfectant and sold in stores in the city of Teixeira de Freitas-BA. Laboratory analyzes were performed, where demarcated areas of a surface were previously sterilized, then contaminated with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and after disinfected with different types of commercial alcohol. Samples from these areas were collected using a sterile swab and inoculated in Petri dishes containing Nutrient Agar. The plates were incubated in microbiology incubators at 35-37 °C/24-48h. After the incubation, it was verified that the disinfected surfaces with alcohol gel did not show bacterial growth, validating the action of this one as surface disinfectant, however, in one of the samples that used alcohol liquid there was bacterial growth even after its used, showing growth of *S. aureus* being reprovved as a surface disinfectant. It is concluded that the microbicide potential of the ethyl alcohol gel was validated as a surface disinfectant. The liquid ethyl alcohol sold in the trade was rejected for this purpose, because it allowed the bacterial growth.

Keywords: Alcohol. Antisepsis. Contamination. Disinfection. Ethanol.

¹ Pós-graduandas em Microbiologia Integrada de Alta Complexidade, Pelo Núcleo de Pós-Graduação Pesquisa e Extensão - NUPPE - Faculdade do Sul da Bahia - FASB. E-mail: lariss.f.araujo@gmail.com; taty_luz@hotmail.com.

² Professor Adjunto da área de Microbiologia do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Campus X. Laboratório de Microbiologia. Av. Kaikan, s/n - Universitário. Teixeira de Freitas-BA, CEP: 45.992-294. Email: jfortuna@uneb.br.

1. INTRODUÇÃO

Desinfecção é uma estratégia usada na eliminação de microrganismos patogênicos na forma vegetativa, durante procedimentos de higienização e limpeza de superfícies inanimadas. Podem ser usados métodos físicos ou químicos no processo, sendo atribuído o termo "desinfetante" a alguns agentes químicos líquidos, que são classificados de acordo com a eficiência da quantidade de microrganismos que erradicam (GRAZIANO et al, 2013).

A limpeza e a desinfecção de superfícies são elementos que convergem para a sensação de bem-estar, segurança e conforto dos indivíduos que se encontram no ambiente, além de serem estratégias primordiais no controle de infecções, principalmente em ambientes hospitalares; bem como são o "start" para a quebra da cadeia de contaminação cruzada. Corrobora também para o controle das infecções, por garantir um ambiente com superfícies limpas, com redução do número de microrganismos, e apropriadas para a realização das atividades desenvolvidas naquele ambiente (BRASIL, 2010a; BERNARDI; COSTA, 2017).

Segundo Rutala e Weber (2008), a desinfecção é um processo capaz de eliminar muitos ou todos os microrganismos de uma superfície inanimada, exceto esporos bacterianos. Para esse processo utiliza-se os produtos denominados desinfetantes. Brasil (2010a) define desinfetantes como produtos destinados a destruir, indiscriminada ou seletivamente, microrganismos, quando aplicados em objetos inanimados ou ambientes.

Dentre os produtos utilizados para o processo de desinfecção, o mais comum é o álcool. Um dos álcoois mais utilizados é o etanol (etílico). A concentração ótima de etanol recomendada é 70%, porém concentrações entre 60 e 95% também parecem destruir microrganismos. O etanol puro é menos efetivo que soluções aquosas (etanol misturado com água), pois a desnaturação requer água (TORTORA et al, 2017).

Andrade et al. (2002) descreve álcoois como compostos químicos, orgânicos, amplamente utilizados nas instituições de saúde, em procedimentos de antisepsia e desinfecção de

artigos ou superfícies, sendo reconhecidos como um importante agente químico antimicrobiano.

De forma geral, a utilização dos desinfetantes, como os álcoois, tanto etílico quanto isopropílico, nas formulações gel ou líquido, adquiridos em estabelecimentos comerciais comuns, tornou-se um procedimento trivial nas práticas de antisepsia das mãos e desinfecção de superfícies, como balcões, mesas, bancadas, etc (SANTOS et al, 2002). O intuito do procedimento é o extermínio dos patógenos, porém tal propósito não se mostra eficiente, pois os endósporos bacterianos e alguns vírus não envelopados não são eliminados por tais substâncias (TORTORA et al, 2017).

A desinfecção de ambientes e a antisepsia das mãos com soluções alcoólicas, sem a necessidade de aplicação prévia de água e sabão, é comumente utilizada em vários países, assumindo a importância e adesão cada vez maior. No Brasil, o álcool é amplamente utilizado como desinfetante, no entanto a ideia de substituir a lavagem das mãos pela antisepsia com álcool, ainda possui resistência (SANTOS et al, 2002).

Para limpeza de mesas e outras superfícies, o recomendado é o álcool líquido. De acordo com Paraná (2009), o produto em gel é mais destinado para uso na pele porque sua textura diminui o risco de incêndios. O problema ao passar sobre a mesa é que, quando o álcool evapora, o gel fica e forma uma camada que acumula sujeiras e bactérias.

Doenças infecciosas, causadas principalmente por microrganismos multirresistentes, têm levado várias pessoas a mudanças de hábitos e a recorrerem, por conta própria, aos métodos antissépticos e desinfetantes, acreditando serem "agentes milagrosos" e exterminadores de qualquer microrganismo patogênico. Tal crença equivocada ainda ocorre. Especificamente se tratando do álcool etílico comercial utilizado, principalmente em ambiente doméstico, onde, na maioria das vezes, não se realiza limpeza prévia da superfície a ser desinfetada pelo produto e, ainda assim espera-se uma desinfecção da mesma (TIMENETSKY, 1990)

Os álcoois são produtos usados para eliminação de microrganismos patológicos. Neste contexto, para Brasil (2010a) e Santos et al (2002),

fica claro que o álcool possibilita a desinfecção de superfícies, possui propriedades microbicidas reconhecidamente eficazes para eliminar os microrganismos mais frequentemente envolvidos em infecções relacionadas aos procedimentos assistenciais, sendo imprescindível na realização de ações simples de prevenção como a antisepsia e desinfecção do ambiente e dos artigos médico-hospitalares; é fácil de usar, é facilmente encontrado no comércio, além de ser adquirido com baixo custo, possuir fácil aplicabilidade e toxicidade reduzida, etc. O mais preocupante, contudo, é constatar que, por ser um desinfetante de nível intermediário, não elimina os esporos bacterianos, e a maioria das pessoas o utilizam como um produto 100% desinfetante.

Evidencia-se assim o uso dos álcoois para desinfecção de bactérias, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, agentes infecciosos que, apesar de comuns na microbiota humana, levam a ocorrências médicas graves como bacteremias e choque séptico, uma condição potencialmente letal (TORTORA et al, 2017).

Inúmeros autores corroboram a relevância do uso de técnicas antissépticas e desinfetantes no combate a microrganismos indesejáveis, e evidenciam a importância de conhecer os tipos de produtos, sua composição e o uso das técnicas adequadas para atingir todo o potencial antimicrobiano dos mesmos. É imprescindível que a contaminação microbiana das superfícies onde as mãos tocam, seja eliminada por métodos seguros (GRAZIANO et al, 2013). Tortora et al. (2017) afirmam a necessidade de se avaliar a efetividade dos desinfetantes e antissépticos.

Para tanto, faz-se necessário conhecer o potencial microbicida do álcool etílico comercial usado habitualmente, pois o mesmo é utilizado, muitas vezes, de forma inadequada, comprometendo seu mecanismo de ação e o distanciando da finalidade desejada (BERNARDI; COSTA, 2017; TORTORA et al, 2017). Em certas circunstâncias, tal potencial é superestimado. Equivocadamente atribui-lhe uma ação esterilizante, comprometendo o processo de eliminação e de controle de bactéria (BRASIL, 2010).

De acordo com o descrito, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia antibacteriana do

álcool etílico comercial, usado como agente desinfetante, em uma superfície propositalmente contaminada por duas espécies de bactérias (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*) da microbiota natural humana, após desinfecção prévia, em ambiente controlado.

2. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa experimental com análise qualitativa para avaliar a eficácia da desinfecção de álcoois em superfícies propositalmente contaminadas com cepas padrão de *Escherichia coli* ATCC 10536 (INCQS 00031) e *Staphylococcus aureus* ATCC 14458 (INCQS 00005), doados pela Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária (CRMVS) do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). As cepas foram reativadas e mantidas no Laboratório de Microbiologia da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) Campus X.

Foram utilizadas quatro amostras comerciais de álcool, sendo duas na formulação de gel (marcas A e B) e duas na formulação líquida (marcas X e Y), adquiridas em estabelecimentos comerciais do município de Teixeira de Freitas-BA. Os produtos foram identificados por letras, sem a necessidade de revelar suas marcas. Os mesmos possuíam características físico-químicas (descritas conforme o fabricante) similares.

Os testes ocorreram em superfície de granito, com esterilização prévia, feita com álcool 70% utilizado no Laboratório de Microbiologia do Campus X da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), em Teixeira de Freitas-BA, onde foram feitos os experimentos. As chamas dos bicos de Bunsen permaneceram acesas ao redor da superfície a fim de reduzir as chances de contaminação indesejada.

Para cada um dos microrganismos (*E. coli* e *S. aureus*) respectivamente testados, foram divididas seis áreas de 100 cm² (10x10 cm). Para cada teste realizado nas áreas delimitadas, duas foram desinfetadas com álcool gel e duas com álcool líquido, as duas restantes foram o controle positivo (área que permaneceu contaminada, sem haver a desinfecção) e o controle negativo (área sem contaminação) (**Figura 1**).

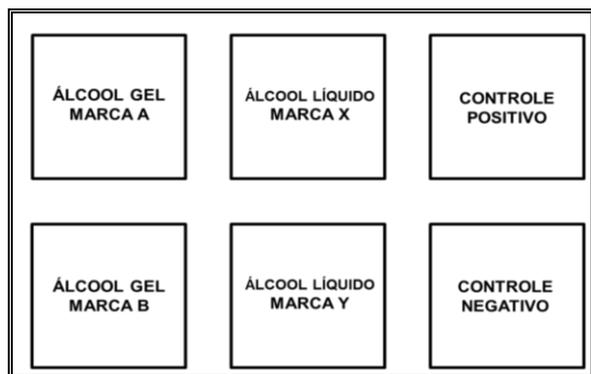


Figura 1. Esquema de distribuição das superfícies para análise utilizando os microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

A contaminação ocorreu com uso de suabe estéril sendo mergulhado em tubo de ensaio contendo o microrganismo suspenso em 10 mL de solução salina à 0,9% esterilizada. A turvação da solução contaminada pelo microrganismo foi de 0,5 de Mcfarland, que corresponde a aproximadamente 10^8 Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

Foi feito um esfregão com o suabe contaminado em toda a superfície desejada com realização de movimentos de estrias (zig-zag). Após o estriamento com o inóculo, esperou-se a secagem da superfície (cerca de 2-3 minutos) para a coleta microbiológica, também feita com suabe estéril. O material coletado foi transferido para a metade de uma placa de Petri contendo Ágar Nutriente. Em seguida foi realizada a desinfecção com o álcool predefinido, utilizando-se de gaze esterilizada, com fricção em movimentos circulares, distribuindo-o por toda superfície contaminada. Ocorrida a secagem do álcool, em temperatura ambiente, houve outra coleta com suabe estéril, que foi estriado na outra metade da mesma placa de Petri (Figura 2). Nas áreas de controle houve a passagem do suabe estéril para uma placa de Petri com Ágar Nutriente, sendo que um lado da placa foi estriado o suabe que foi passado na superfície de controle positivo (área contaminada previamente) e no outro lado da placa estriou-se o suabe da superfície do controle negativo (área sem contaminação prévia).

Todas as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a uma temperatura de $36^{\circ}\text{C}/48\text{ h}$.

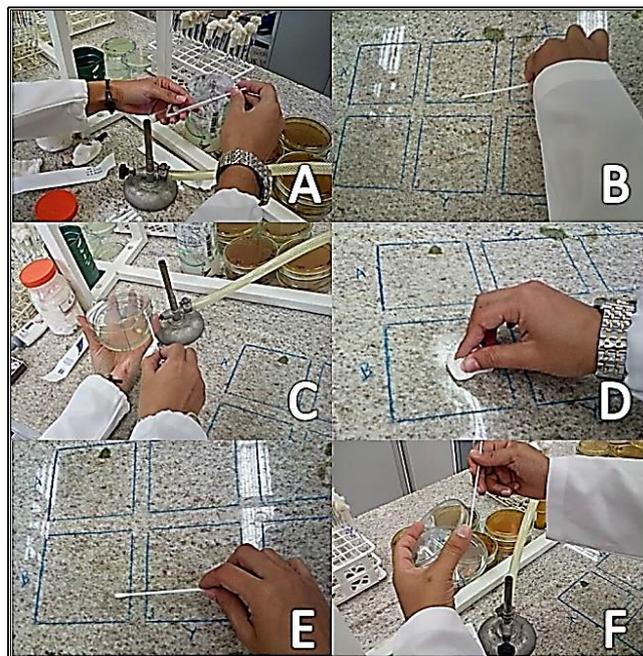


Figura 2. (A) Suabe estéril sendo mergulhado em tubo de ensaio contendo microrganismo suspenso em solução salina. (B) Esfregão com o suabe contaminado em toda a superfície. Após a secagem é feita coleta de material da superfície utilizando um novo suabe estéril. (C) Material coletado foi transferido para a metade de uma placa de Petri contendo Ágar Nutriente. (D) Desinfecção com o álcool predefinido, utilizando-se de gaze esterilizada. (E) Nova coleta com outro suabe estéril, que foi estriado (F) na outra metade da mesma placa de Petri.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a incubação das placas de controle por 48 h, tempo necessário para o possível crescimento dos microrganismos (*E. coli* e *S. aureus*), observou-se que o lado das placas de controle positivo apresentava crescimento de UFC e no lado do controle negativo não havia crescimento de UFC, tal como era esperado (Figura 3).

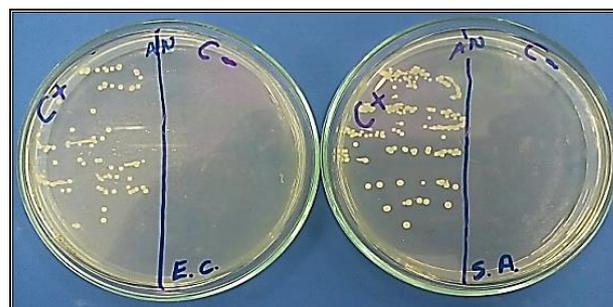


Figura 3. Placas de controle positivo e negativo.

Em relação ao microrganismo *Escherichia coli*, os resultados obtidos das análises microbiológicas referentes aos quatro diferentes tipos de álcool, nas formulações gel (marca A e marca B) e líquida (marca X e marca Y), adquiridas em estabelecimentos comerciais, demonstraram-se totalmente eficazes quanto à eliminação desta espécie, já que após a desinfecção das superfícies testadas com os diferentes tipos de álcool, não houve crescimento dos microrganismos. Porém, em relação ao microrganismo *Staphylococcus aureus* exceto o álcool na forma líquida (marca Y) não apresentou ação desinfetante, havendo crescimento da bactéria mesmo depois da desinfecção (Figura 4) (Tabela 1).



Figura 4. Análises microbiológicas referentes aos quatro diferentes tipos de álcool, antes e depois da desinfecção. (A) Álcool em gel (marca A). (B) Álcool em gel (marca B). (C) Álcool líquido (marca X). (D) Álcool líquido (marca Y).

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas das superfícies contaminadas e desinfetadas com diferentes tipos de álcool etílico.

Tipo de Álcool	Desinfecção	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Gel Marca A	Antes	positivo	positivo
	Depois	negativo	negativo
Gel Marca B	Antes	positivo	positivo
	Depois	negativo	negativo
Líquido Marca X	Antes	positivo	positivo
	Depois	negativo	negativo
Líquido Marca Y	Antes	positivo	positivo
	Depois	positivo	negativo

Fonte. Dados da Pesquisa

Diversos fatores podem ter contribuído para o crescimento de colônias de *S. aureus* na amostra do álcool marca Y, no entanto, os mais prováveis estão relacionados à sua volatilidade e a

concentração alcoólica em relação à água na composição (concentração de 46°INPM ou 54°GL), sendo as concentrações mais distantes de 70% menos eficientes como antimicrobianos. Como confirmam Andrade et al (2007), ao destacar que a eficiência desinfetante do álcool etílico e sua atividade antimicrobiana estão diretamente ligadas a quantidade de água em sua composição, pois facilita a desnaturação e o rompimento de sua membrana plasmática. Concentrações abaixo de 50% e acima de 70% são menos eficientes, sendo 70% a concentração adequada. Nesse mesmo trabalho, os autores afirmam ser a consistência do álcool em gel e sua concentração, fatores determinantes para melhor eficiência do que o álcool líquido, além disso, este apresenta menor tempo de contato com a superfície e microrganismos, por ter evaporação mais rápida comparada à formulação em gel. O tempo de contato do gel com a superfície contaminada é maior devido sua consistência residual e, portanto, a forma de evaporação é lenta, potencializando sua ação desinfetante. As amostras gel utilizadas possuíam concentração de 65°INPM (marca A) e 62,4°INPM (marca B), todas aproximadas da concentração ideal para desinfecção.

A resistência do *S. aureus* à desinfecção com álcool, também foi verificada no trabalho de Bernardi et al (2017). Os autores afirmam que o fato do álcool ser menos efetivo para *S. aureus* pode estar relacionada à parede celular do microrganismo, que possui uma espessa camada de peptidoglicano, podendo dificultar a penetração do álcool.

Na pesquisa desenvolvida por Genz et al (2017), houve crescimento de microrganismos (*S. aureus*, *Staphylococcus Coagulase Negativa* (SCN) e *Corynebacterium* spp.) em 50% das placas, mesmo após desinfecção com álcool 70% (não há especificação da formulação utilizada). Ainda nesse estudo afirmou-se que, embora as bactérias isoladas façam parte da microbiota natural humana, podem levar ao desenvolvimento de focos infecciosos e apresentar diversos fatores de virulência que podem causar sérios agravos à saúde humana, quando ocorrem condições favoráveis.

Segundo Simões et al (2003) e Oliveira et al (2016) processos de desinfecção insuficientes levam a

seleção de microrganismos resistentes. Como também é demonstrado por Stinear et al (2018), que avaliaram a resistência do *Enterococcus faecium* ao álcool isopropílico num período de 18 anos. Ao final das análises perceberam aumento da tolerância ao álcool entre os isolados hospitalares ao longo do tempo. Observaram considerável diversidade genética entre a população de *E. faecium* nesse período com variação da tolerância ao álcool na população. Um dos isolados de *E. faecium* em 2014 possui maior tolerância do que os isolados obtidos em 1998. Sugeriram que à medida que a tolerância aumenta, possivelmente há superfícies da pele em contato com álcool, ou superfícies inanimadas em contato com agentes de limpeza à base de álcool que não recebem a concentração de biocida correta ou o tempo de contato necessário para a morte bacteriana eficaz; fazendo com que as bactérias estejam respondendo ao aumento da exposição à alcoóis.

4. CONCLUSÃO

A partir das análises das amostras de superfícies previamente contaminadas e depois desinfetadas com álcool etílico comercial (líquido e gel), em diferentes concentrações alcoólicas, conclui-se que, o potencial microbicida do álcool etílico em gel foi validado como desinfetante de superfícies. Já o álcool etílico líquido vendido no comércio foi reprovado para tal finalidade, pois permitiu o crescimento bacteriano. O estudo sugere que se estabeleça controle e sejam revistos os procedimentos corretos de utilização, contribuindo para que o produto continue a ser uma ferramenta eficaz no controle das infecções bacterianas. Torna-se prudente otimizar a adesão aos protocolos de higiene para garantir tempos de exposição adequados e uso de volumes suficientes de diferentes tipos de álcool, bem como sua concentração adequada, toda vez que estes forem utilizados para a limpeza e desinfecção de superfícies.

5. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, D.; BERALDO, C. C.; WATANABE, E.; OLIVEIRA, B. A.; ITO, I. Y. Atividade antimicrobiana in vitro do álcool gel a 70% frente às bactérias hospitalares e da comunidade. *Medicina Ribeirão Preto*. v. 40, n. 2, p. 250-254, 2007.
- ANDRADE, D.; SANTOS, L. S.; OLIVEIRA, B. A.; BERALDO, C. C. Alcoóis: a produção do conhecimento com ênfase na sua atividade antimicrobiana. *Medicina Ribeirão Preto*. v. 35, n. 1, p. 7-13, 2002.
- BERNARDI, G. A.; COSTA, T. C. M. Avaliação da atividade antimicrobiana do álcool 70% em superfícies contaminadas. *Journal of Infection Control*. v. 6, n. 4, p. 1-11, 2017.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Segurança do Paciente em Serviços de Saúde: Limpeza e Desinfecção de Superfícies. Brasília, [s.n.]. 2010a. 116 p.
- GRAZIANO, M. U.; GRAZIANO, K. U.; PINTO, F. M. G.; BRUNA, C. Q. M.; SOUZA, R. Q.; LASCALA, C. A. Eficácia da desinfecção com álcool 70% (p/v) de superfícies contaminadas sem limpeza prévia. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. v. 21, n. 2., p. 1-6, 2013.
- GENZ, T. B.; CALLAI, T. SCHLESENER, V. R. F.; OLIVEIRA, C. F.; RENNERT, J. D. P. Eficácia antibacteriana de agentes de limpeza na desinfecção de superfícies de consultórios odontológicos. *Revista da Faculdade de Odontologia*. v. 22, p. 162-166, 2017.
- OLIVEIRA, A. D. N.; ANDRADE, K.; MENDES, L. G.; KOHLER, L. M. Análise da ação antibacteriana de desinfetantes de uso doméstico e desafios no uso correto: uma revisão. *Revista Educação, Meio Ambiente e Saúde*. v. 6, n. 1, p. 22-31, 2016.
- PARANÁ. Secretaria de Estado da Educação do Paraná (SEEP). Álcool gel deve ter registro e não é indicado para a limpeza de superfícies. Redescola. Curitiba-PR. 24 de agosto de 2009. Disponível em: <<http://www.mrherondomingues.seed.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=210>> Acesso em 31 de março de 2018.
- RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2008. 158 p. Disponível em: <<https://stacks.cdc.gov/view/cdc/47378>> Acesso em 06 de abril de 2018.

SANTOS, A. A. M.; VEROTTI, M. P.; SANMARTIM, E. R. A. B. M. Importância do álcool no controle de infecções em serviços de saúde. *Revista de Administração em Saúde*. v. 4, n. 16, p. 7-14, 2002.

SIMÕES, M.; PEREIRA, M. O.; VIEIRA, M. J. Monitoring the effects of biocide treatment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms formed under different flow regimes. *Water Science and Technology*. v. 47, n. 5, p. 217-223, 2003.

STINEAR, T. P.; PIDOT, S. J.; LAM, M. M. C.; BALLARD, S. A.; GRAYSON, M. L.; MAHONY, A. A.; GRABSCH, E. A.; COOMBS, G. W.; ROBINSON, J. O.; HOWDEN, B. P.; JOHNSON, P. D. R. Increasing tolerance of hospital *Enterococcus faecium* to hand-rub alcohols. *Science Translational Medicine*. v. 10, n. 452, 2018.

TIMENETSKY, J.; ALTERTHUM, F. Determinação da atividade antimicrobiana de desinfetantes domésticos. *Revista de Microbiologia*. v. 19, n. 1, p. 46-51, 1990.

TORTORA, J.; CASE, ; FUNKE, R. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed. 2017.