

CENTRO UNIVERSITÁRIO BARÃO DE MAUÁ
BIOMEDICINA

ANA LAURA MARTINS VENTURA
RICARDO LEONE ROSSATO
TALITA RAVANELI KASPUTES

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO INIBITÓRIA DE SOLUÇÕES ANTISSÉPTICAS E
DEGERMANTES SOBRE MICROORGANISMOS PATOGÊNICOS E NA LIMPEZA
DE SUPERFÍCIES**

Ribeirão Preto
2020

**ANA LAURA MARTINS VENTURA
RICARDO LEONE ROSSATO
TALITA RAVANELI KASPUTES**

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO INIBITÓRIA DE SOLUÇÕES ANTISSÉPTICAS E
DEGERMANTES SOBRE MICROORGANISMOS PATOGÊNICOS E NA LIMPEZA
DE SUPERFÍCIES**

Trabalho de conclusão de curso de Biomedicina
do Centro Universitário Barão de Mauá para
obtenção do título de bacharel.

Orientadora: Dra. Denissani Ap. Ferrari dos
Santos Lima

Ribeirão Preto

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

A551

Análise in vitro da ação inibitória de soluções antissépticas e degermantes sobre microrganismos patogênicos e na limpeza de superfícies/
Ana Laura Martins Ventura, Ricardo Leone Rossato; Talita Ravaneli Kasputes
- Ribeirão Preto, 2020.

39 p.il

Trabalho de conclusão do curso de Biomedicina do Centro Universitário
Barão de Mauá

Orientador: Dra. Denissani Aparecida Ferrari dos Santos Lima

1. Bactericida 2. Desinfetante 3. Microrganismo I. Ventura, Ana Laura
Martins II. Rossato, Ricardo Leone III. Kasputes, Talita Ravaneli IV. Lima,
Denissani Aparecida Ferrari dos Santos V. Título

CDU 614.48:615.4

Bibliotecária Responsável: Iandra M. H. Fernandes CRB⁸ 9878

**ANA LAURA MARTINS VENTURA
RICARDO LEONE ROSSATO
TALITA RAVANELI KASPUTES**

**ANÁLISE IN VITRO DA AÇÃO INIBITÓRIA DE SOLUÇÕES ANTISSÉPTICAS E
DEGERMANTES SOBRE MICROORGANISMOS PATOGÊNICOS E NA LIMPEZA
DE SUPERFÍCIES**

Trabalho de conclusão de curso de Biomedicina
do Centro Universitário Barão de Mauá para
obtenção do título de bacharel.

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dra. Denissani Ap. Ferrari dos Santos Lima
Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Dra. Adriana Oliveira Afonso
Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Esp. Amadeu Pasqualim Neto
Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Ribeirão Preto

2020

AGRADECIMENTO

À Deus, que nos deu força e coragem para vencer todos os obstáculos e dificuldades enfrentadas durante o curso.

Aos professores que influenciaram na nossa trajetória, em especial a Profa. Dra. Denissani, nossa orientadora, que foi uma fonte inesgotável de conhecimento durante todo o processo.

Aos nossos pais e amigos, com quem compartilhamos a realização deste trabalho que é um dos momentos mais importantes das nossas vidas.

A todos dessa instituição (Centro Universitário Barão de Mauá) que nos permitiram chegar onde estamos principalmente neste período difícil.

Aos nossos amigos, em especial a Jéssica Sanchez Rogério e Gabriela Barros Destri, por todo apoio.

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá”

(Ayrton Senna)

RESUMO

O uso de sabonetes líquidos, álcool 70% gel e clorexidina solução degermante em procedimentos de antissepsia das mãos representa uma prática frequente nas instituições de saúde, assim como a utilização de álcool 70% líquido, biguanida e clorexidina tópica para limpeza de superfícies. Estas práticas são usuais e a observação da eficácia destes compostos é importante para manter as infecções relacionadas à assistência a saúde controlada, assim como a infecção cruzada. Com o objetivo de avaliar estas substâncias, determinamos a ação inibitória utilizando a técnica do gotejamento, macrodiluição em caldo e a atividade bactericida. A avaliação da limpeza de superfícies foi realizada utilizando a técnica de “spray-wipe-spray”. Os resultados observados foram para macrodiluição em caldo e a atividade bactericida, inibição de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* quando utilizados em suas concentrações indicadas, o teste do gotejamento obteve resultado para as soluções de clorexidina e biguanida. O sabonete líquido não foi eficiente na inibição bacteriana. Concluímos que as soluções alcoólicas, compostos de clorexidina e biguanida, quando utilizados de acordo com as informações do fabricante, são eficientes, em relação ao sabonete líquido sua ação é de limpar a sujidade da pele o que não foi possível observar nestes testes. No entanto, entendemos que há necessidade de maiores testes para confirmar nossos resultados.

Palavra chave: Bactericida. Desinfetante. Microrganismo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Resultados da ação inibitória obtidos na macrodiluição em caldo dos produtos frente aos microrganismos testados.....	30
Tabela 2-	Resultados da ação bactericida dos produtos frente aos microrganismos testados.....	31
	..	

LISTA DE SIGLAS

PVPI	Iodopovidona
PHMB	Polihexametileno biguanida
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Esquema da Técnica de Gotejamento.....	23
Figura 2:	Esquema de Higienização de Superfície.....	24
Figura 3:	Esquema do Método de Macrodiluição em Caldo.....	26
Figura 4:	Esquema do Teste da Ação Bactericida.....	26
Figura 5:	Teste do Gotejamento: A- <i>E. coli</i> , B- <i>P. aeruginosa</i> , C- <i>S. aureus</i> e D- <i>E. faecalis</i>	27
Figura 6:	Teste “spray wipe spray” em placa de fórmica utilizando álcool 70% líquido.....	28
Figura 7:	Teste da superfície lisa utilizando biguanida.....	29
Figura 8:	Teste da superfície lisa utilizando biguanida.	29
Figura 9:	Técnica de macrodiluição.	30
Figura 10:	Teste da Ação Bactericida para <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figura 11:	Teste da Ação Bactericida para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
Figura 12:	Teste da Ação Bactericida <i>Enterococcus faecalis</i>	32
Figura 13:	Teste da Ação Bactericida para <i>Escherichia coli</i>	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	123
1.1 Principais produtos utilizados na limpeza de superfícies e na antissepsia da pele	14
1.1.2 Álcool 70% em gel	145
1.1.3 Polihexametileno biguanida.....	156
1.1.4 Gluconato de clorexidina.....	156
1.1.5 Sabonete líquido	17
2	
JUSTIFICATIVA	179
3 OBJETIVO	20
3.1 Objetivos gerais	20
3.2 Objetivos específicos	20
4 MATERIAL E MÉTODO	21
4.1 Características do local e do estudo	21
4.2 Cepas ATCC (American Type Culture Collection) utilizadas	21
4.3 Preparo do inóculo bacteriano	21
4.4 Soluções testadas	21
4.5 Técnica de gotejamento	22
4.6 Técnica de higienização de superfície	23
4.6.1 Superfícies porosas	23
4.6.2 Superfícies lisas	24
4.7 Método de macrodiluição em caldo para antissépticos	25
4.8 Teste da ação bactericida	26
5 RESULTADOS	27
5.1 Técnica de gotejamento	27
5.2 Técnica da superfície	28
5.3 Método de macrodiluição em caldo.....	30
5.4 Teste da ação bactericida	31
6 DISCUSSÃO	34
REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

O uso de desinfetantes é considerado o procedimento mais importante para prevenir a transmissão de infecções nosocomiais. Como os microrganismos exibem uma ampla gama de resistência aos desinfetantes, os tipos de microrganismos conhecidos e as características dos desinfetantes selecionados devem ser considerados (SCOTT, 1996; HOTA, 2004).

Os germicidas são produtos químicos responsáveis por eliminar os germes. A escolha de um produto mais eficiente tem sido uma das preocupações dos profissionais da área da saúde, particularmente, considerando a diversidade de produtos existentes e a grande oferta no mercado, bem como a variabilidade de indicações de uso (ANDRADE *et al.*, 2007).

Outro aspecto refere-se ao controle de qualidade dos germicidas, neste sentido, vários países apresentam entidades ou agências, que se responsabilizam pelas ações de fiscalização, controle, qualidade e de proteção ao consumidor, o que inclui o cumprimento das boas práticas de fabricação, conservação, prazos de validade e utilização dos produtos.

Assim, testes e métodos para avaliação dos germicidas são criteriosamente padronizados, dentre eles a determinação da sua atividade antimicrobiana (ANDRADE *et al.*, 2007).

Os ambientes voltados para área da saúde têm sido uma das maiores preocupações neste sentido, já que se pretende minimizar a disseminação de microrganismos. Segundo Rutala (2004), as superfícies limpas e desinfetadas com produtos específicos conseguem reduzir cerca de 99% o número de microrganismos, enquanto as superfícies que foram apenas limpas os reduzem em 80%.

As superfícies carregam um risco mínimo de transmissão direta de infecção, mas pode contribuir para a contaminação cruzada secundária, por meio das mãos dos profissionais de saúde e de instrumentos ou produtos que poderão ser contaminados ao entrar em contato com essas superfícies e posteriormente, contaminar os pacientes ou outras superfícies (ANSI/AAMI, 2006).

São indicados os antissépticos tópicos, produtos responsáveis por degradar ou inibir a proliferação de microrganismos, pois, além de serem hipoalergênicos, exercem sua função na pele e mucosa, considerando seu princípio ativo, estabilidade, toxicidade e atividade antimicrobiana.

Na assistência à saúde, as principais funções dos antissépticos são: na higienização das mãos e no preparo da pele antecedendo alguns procedimentos onde ocorre o rompimento das barreiras normais de defesa do indivíduo.

Ainda buscando alternativas que inibam ou diminuam a disseminação bacteriana, o desenvolvimento dos antissépticos para o tratamento de feridas tem importante papel em reduzir os riscos e prevenir ou diminuir as infecções hospitalares, estas, que ainda hoje apresentam um grave problema em relação à disponibilidade e acesso quanto ao custo social e econômico.

Os agentes de preparação da pele mais utilizados atualmente são produtos contendo as exigências para aplicação em tecidos vivos, que são: o álcool diluído em água, compostos alcoólicos ou aquosos de iodo e clorexidina.

A partir destas considerações, este trabalho tem como finalidade avaliar a ação dos antissépticos e degermantes comuns utilizados nas diversas áreas da saúde e pelos profissionais, assim como a sua eficácia e efetividade na desinfecção de superfícies e em tecidos vivos contra patógenos.

1.1 Principais produtos utilizados na limpeza de superfícies e na antisepsia da pele

1.1.1 Álcool 70% líquido

Antigamente o vinho era utilizado para assepsia de feridas, com o passar do tempo viu-se a possibilidade do álcool de obter atividade microbicida, os médicos e cirurgiões utilizavam cada vez mais para assepsia da pele e em pré-operatório, começando a ser indicado também para a higienização das mãos, que é a maior responsável pela disseminação de microrganismo e de infecções (ANVISA, 2012).

O álcool é obtido através da destilação de suco de frutas, cana de açúcar, grãos fermentados ou de açúcar. Os álcoois etílico e o isopropílico são os principais desinfetantes utilizados em serviços de saúde, podendo ser aplicado em superfícies ou artigos por meio de fricção (ANVISA, 2012).

Tem como características: bactericida, virucida, fungicida e tuberculocida; não é esporicida. Fácil aplicação e ação imediata. É indicado para limpeza de mobiliário em geral,

cujos mecanismos de ação estão na desnaturação das proteínas que compõem a parede celular dos microrganismos e a concentração de uso deve ser de 60% a 90% em solução de água volume/volume (ANVISA, 2012).

No entanto suas desvantagens são: inflamável, volátil, opacifica o acrílico, resseca plásticos, borrachas e a pele (ANVISA, 2012).

O álcool está entre os antissépticos mais seguros, não só por possuir baixíssima toxicidade, mas também pelo seu efeito microbicida rápido e de fácil aplicação, reduzindo, dessa forma, o tempo de higienização em até quatro vezes. As aplicações de álcool de 15 segundos de duração são eficazes na prevenção de transmissão de bactérias Gram negativas e positivas encontradas nas mãos dos profissionais de saúde (ANVISA, 2012).

Osler apresentou, em 1995, um estudo comparativo da eficácia dos diversos produtos comumente utilizados na prática do procedimento de degermação das mãos, como sabão líquido, PVPI degermante, clorexidina degermante, solução aquosa de PVP-I, álcool a 70% e clorexidina associada a álcool a 79%. Neste estudo, o álcool a 70% apresentou maior eficácia como bactericida em relação ao efeito residual, comparado a outros antissépticos. Quando associado a algum emoliente, o álcool tem sua atividade bactericida prolongada por meio do retardamento da sua evaporação e há também uma diminuição no ressecamento e irritação provocados na pele pelo uso contínuo (OSLER, 1995).

1.1.2 Álcool 70% em gel

Álcool etílico 70% na forma de gel associado a emolientes e outras substâncias químicas, tem o objetivo de adequar a qualidade do álcool às necessidades no uso pessoal, doméstico e institucional, sem os perigos e inconvenientes da forma líquida. O álcool na forma gel facilita a distribuição nas mãos em menor tempo que a lavagem tradicional, porém com eficácia similar, tornando-se recomendado no ambiente hospitalar (HERNANDES, 2004; PRADO, 2014).

Para a higienização das mãos, o Ministério da Saúde recomenda a utilização do álcool gel, preferencialmente, a 70% ou em solução a 70% com 1-3% de glicerina, na quantidade recomendada pelo fabricante e no tempo de aplicação de 20 a 30 segundos, seguindo uma sequência de passos padronizados (ANVISA, 2009).

O álcool gel, também mantém a mesma inflamabilidade do líquido, mas queima por chama, ou seja, não explode, oferecendo maior segurança ao usuário ao transportar e armazenar, sua evaporação é mais lenta, portanto aumenta a sua eficiência, já na economia, possui ótimo custo benefício e é ecologicamente correto (PRADO, 2014).

1.1.3 Polihexametileno Biguanida

O Polihexametileno Biguanida também conhecido como PHMB é utilizada em diversas áreas como antisséptico ou desinfetante por apresentar grande atividade antimicrobiana contra microrganismos Gram positivos e Gram negativos. Além de apresentar ação de amplo espectro, este produto também apresenta baixa toxicidade e grande versatilidade, uma vez que pode ser utilizada desde o tratamento de água e em indústrias de alimentos até na prevenção da disseminação de microrganismos nas superfícies de ambientes de saúde (ANVISA, 2012).

A aplicação da biguanida garante grande otimização e redução do tempo dos profissionais de saúde, pois é um produto de aplicação única. Outra propriedade interessante é que diferentemente de outros agentes desinfetantes, como hipoclorito de sódio, ela não causa oxidação das superfícies metálicas (FRANZIN, 1988; PEREIRA *et al.*, 2015).

1.1.4 Gluconato de clorexidina

Quimicamente classificada como Gluconato de Clorexidina, a solução aquosa atua na permeabilidade da parede celular bacteriana, inativando grupos enzimáticos intracelulares, causando a destruição do microrganismo e rompendo a membrana da célula bacteriana, resultando na perda de constituintes celulares vitais como o ácido nucleico e potássio (JORGE, 1997).

A solução de clorexidina 0,5% apresenta amplo espectro de atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, aeróbios e anaeróbios facultativos, leveduras e alguns vírus lipídicos que possuem envelope, incluindo o HIV (SANTOS *et al.*, 2009). Em contrapartida, apesar de não apresentar atividade contra esporos bacterianos, previne que formas vegetativas esporulem, desta maneira, embora a clorexidina elimine formas vegetativas

de bactérias, não demonstra efetividade contra esporos, exceto em temperaturas elevadas (SIQUEIRA *et al.*, 1998).

A clorexidina apresenta longa sustentação da atividade antibacteriana, é mais resistente à neutralização pelos produtos do sangue do que os compostos de iodo e possui atividade antimicrobiana de amplo espectro, estabilidade no armazenamento, ausência de toxicidade, substantividade, é facilmente encontrado e tem baixo custo.

Clorexidina é muito utilizado na rotina hospitalar. (BELISSIMO RODRIGUES, 2009) verificaram que a aplicação oral de clorexidina em pacientes de UTI retarda a aquisição de infecções respiratórias. (CHAIYAKUNAPRUK *et al.*, 2002) relataram que clorexidina reduz as infecções da corrente sanguínea pela colonização de cateter vascular venoso.

Atualmente, suas aplicações aumentaram, sendo eficaz na higienização de próteses (SESMA *et al.*, 1999), degermação das mãos (SILVA *et al.*, 2000; MAGRO FILHO *et al.*, 2000), redução do número de *Streptococcus mutans* na cavidade bucal e, conseqüentemente, na redução do risco de cárie e doença periodontal (DENARDI, 1994), podendo ser utilizada na forma de gel, dentifrício, colutório, irrigações, chicletes e até mesmo “spray” (DENARDI, 1994). É aplicada de maneira similar ao iodo, utilizado em antissepsia das mãos, antissepsia da pele em procedimentos cirúrgicos, antissepsia vaginal e utilizado como desinfetante.

Este produto também pode ser encontrado na forma de sabonete. A clorexidina em sabonete tem grande poder antisséptico para as mãos, antebraços e braços, isso porque é capaz de destruir os microrganismos. Este se destaca por sua poderosa atividade antiviral e antibacteriana, sendo usada principalmente para impedir a proliferação de microrganismos Gram positivos, Gram negativos, fungos e leveduras responsáveis por causar doenças, como gripes, resfriados e infecções. Além de apresentar baixa toxicidade quando em contato com a pele.

1.1.5 Sabonete líquido

Geralmente, os sabonetes comuns não apresentam agentes antimicrobianos e, se possuírem, estes funcionam na conservação do mesmo. Para o uso nas áreas da saúde, os sabonetes se apresentam de diferentes formas: em barra (uso individual), em espuma e em líquido, sendo essa a mais comum, e recomenda-se que o sabonete seja suscetível ao uso, suave, de fácil enxágue e que não resseque a pele.

O uso do sabonete para a higienização das mãos favorece a remoção de sujeira, de substâncias orgânicas e da microbiota transitória das mãos pela ação mecânica (BOYCE *et al.*, 2002, 2002; WHO, 2006; KAMPF; KRAMER, 2004; ROTTER, 2004), sem causar nenhum efeito sobre a microbiota residente da pele, deixando-as descontaminadas para contatos sociais em geral e para as atividades práticas nos serviços de saúde.

Estudos apontam que o tempo gasto na prática de higienização tem relação direta com a redução da microbiota transitória, porém, depende da técnica para ser eficaz e, como o tempo médio é maior em relação aos outros antissépticos, o sabonete é menos usado. Pesquisas demonstraram que no procedimento de higienização simples das mãos com água e sabonete, por um período de 15 segundos, houve redução bacteriana menor em relação com a realizada durante 30 segundos. Aumentando-se o tempo de higienização das mãos para um minuto, a redução microbiana observada foi ainda maior (ANVISA, 2012).

Entretanto, um estudo revelou que a higienização simples das mãos, com água e sabonete comum, falhou em remover patógenos das mãos dos profissionais de saúde, ocasionando a transmissão de bactérias Gram negativas (EHRENKRANZ; ALFONSO, 1991). Ocasionalmente, os sabonetes não associados à antissépticos podem se contaminar, causando colonização das mãos dos profissionais de saúde com bactérias Gram negativas (SARTOR *et al.*, 2000). O sabonete líquido torna-se passível de contaminação, ainda, caso o seu reservatório seja completado sem esvaziamento e limpeza prévia. Os dispensadores devem ser facilmente removíveis para serem submetidos à limpeza e secagem completa antes de serem preenchidos, quando não forem descartáveis (LARSON, 1996). Contudo, o sabonete líquido tipo refil, sendo realizadas todas as medidas de limpeza necessárias, é a mais recomendada para serviços de saúde.

2 JUSTIFICATIVA

A higienização das mãos é reconhecida, mundialmente, como uma medida primária e muito importante no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde. Por este motivo, tem sido considerada como um dos pilares da prevenção e controle de infecções dentro dos serviços de saúde, incluindo aquelas decorrentes da transmissão cruzada de microrganismos multirresistentes (ANVISA, 2009).

Assim como a higienização das mãos, falhas nos processos de limpeza e desinfecção de superfícies podem ter como consequência a disseminação e transferência de microrganismos nos ambientes dos serviços de saúde, há evidências mostrando que vários patógenos como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, *Enterococos* resistente à vancomicina e outros contaminam superfícies e equipamentos (bombas de infusão, barras protetoras das camas, estetoscópio e outros) mais frequentemente manuseados pelos profissionais e pacientes (ANVISA, 2012).

Portanto a necessidade de se estudar a eficiência de substâncias que sejam capazes de inibir ou eliminar microrganismos causadores de infecção tanto na área da saúde como na comunidade são importantes.

A prevenção da contaminação e da disseminação de vírus e bactérias se torna relevante visto que esses produtos devem ter uma ação adequada contra os agentes microbianos, o presente estudo irá analisar a eficácia dos antissépticos e soluções degermantes, como: polihexametileno biguanida e álcool 70% líquido para superfícies e, além desses, o gluconato de clorexidina tópica e solução degermante, álcool 70% em gel e sabonetes líquidos comuns para uso tópico frente a microrganismos.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivos gerais

Analisar a ação de soluções antissépticas e degermante contra microrganismos e superfícies previamente contaminadas.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a eficácia dos produtos: álcool 70% hidratado, álcool 70% gel, clorexidina tópico, clorexidina solução degermante 0,2%, polihexametileno biguanida + quaternário de amônio 0,4% solução desinfetante e sabonete líquido, através da inibição do crescimento bacteriano.
- Realizar uma análise comparativa da inibição do crescimento bacteriano e a ação bactericida dos produtos testados.
- Avaliar a ação de álcool 70% hidratado e polihexametileno biguanida + quaternário de amônio 0,4% Solução desinfetante na desinfecção de superfícies lisas e porosas.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Características do local e do estudo

Foi realizado um estudo experimental *in vitro*, nas dependências do Centro Universitário Barão de Mauá, no Laboratório de Microbiologia, no qual são ministradas às aulas de Estágio Supervisionado em Patologia Clínica - Bacteriologia (sala 68).

O laboratório possui todas as condições e equipamentos para desenvolver a metodologia empregada, como: estufa bacteriológica, capela de fluxo laminar, alças estéreis, placas de meio de cultura, geladeira, pias e locais para descarte apropriado do material.

4.2 Cepas ATCC (American Type Culture Collection) utilizadas

Utilizamos as cepas padrão de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 2753) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), que foram semeadas em meios enriquecedores e incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas para obtenção de cultura de 24 horas e testes de pureza.

Após incubação, cada cepa foi verificada quanto a sua pureza e foi semeada em placas com meio de cultura Muller Hinton Agar – Oxoid, Basingstake, Hampshire, UK (MH) e incubadas a 35°C por 24 horas, para serem utilizadas nos testes.

4.3 Preparo do inóculo bacteriano

Decorrido o período de incubação dos microrganismos semeados em Ágar Muller Hinton, foram feitas suspensões bacterianas em soluções fisiológicas a partir destas culturas jovens, com turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, sendo essas suspensões utilizadas para os testes (BrCast, 2017).

4.4 Soluções testadas

- Álcool gel a 70%, álcool líquido a 70% e sabonete líquido, obtidos no Centro Universitário Barão de Mauá, a partir de frascos fechados.
- Clorexidina tópico e clorexidina solução degermantes 0,2% adquiridas em farmácia.
- Polihexametileno biguanida + quaternário de amônio 0,4% solução desinfetante cedida por um hospital.

Para verificação da esterilidade dos antissépticos e desinfetantes analisados, 1,0 ml de cada produto foi colocado em 4 ml de Tryptic Soy Broth (TSB-OXOID) e incubados por 24 horas a 35°C.

Após este período foram semeados em Ágar Sangue 5% e Ágar MacConkey (OXOID) e incubados por 24 horas a 35°C em estufa bacteriológica. A leitura das placas foi realizada após o período de incubação.

4.5 Técnica de gotejamento

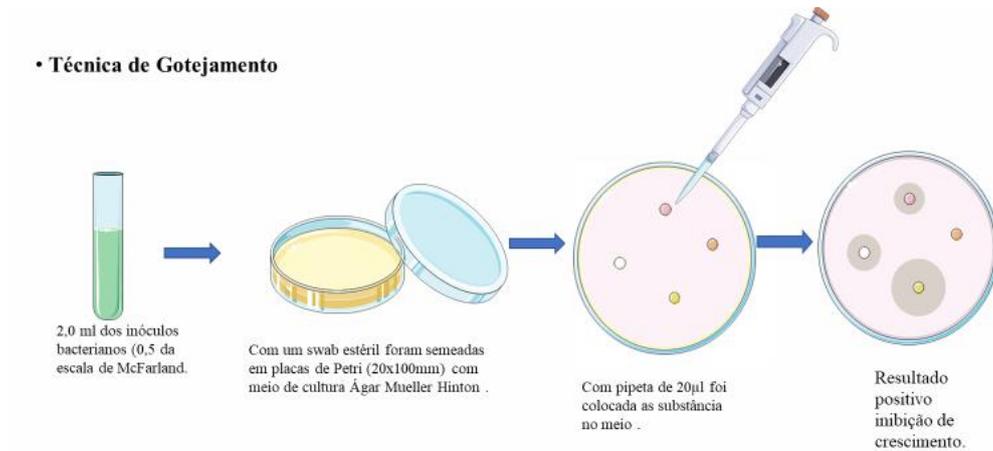
Alíquotas de 2,0 ml dos inóculos bacterianos (0,5 da escala de McFarland) foram semeadas em placas de Petri (20x100mm) com meio de cultura Ágar Mueller Hinton, com o auxílio de um swab estéril. A superfície do meio de cultura foi seca após abertura das placas em fluxo laminar por 15 minutos.

As soluções testadas foram gotejadas na superfície dos meios de cultura utilizando ponteiros estéreis. Em cada placa foi gotejada 6 amostras, cada uma delas a cerca de 2,0 cm da borda da placa e no vértice de um pentágono regular.

O gotejamento foi realizado com auxílio de uma pipeta de 20 microlitros e foi incubado a 35°C por 24 horas.

A leitura dos resultados da atividade inibitória bacteriana foi considerada positiva quando se observou uma área de inibição de crescimento bacteriano no local onde foram gotejadas as soluções.

Figura 1 - Esquema da Técnica de gotejamento



Fonte: Autoria própria.

4.6 Técnica de higienização de superfície

Para esta técnica utilizamos 2 tipos de superfície, uma porosa e outra lisa e os produtos testados foram o polihexametileno biguanida e álcool 70% líquido.

4.6.1 Superfícies porosas

Foram utilizadas para o experimento dois quadrados de fórmica de 5 cm para cada microrganismo, um para análise antes da desinfecção (controle) e outra para a análise após a desinfecção.

As superfícies foram contaminadas, em ambiente asséptico, com 0,1 mL de cada suspensão bacteriana e espalhadas com auxílio de um swab umedecido com o microrganismo. Trinta minutos após a contaminação a fórmica do grupo controle (sem desinfecção) foi semeada por imprint na superfície de placas de Ágar sangue 5% e Ágar Mueller Hinton, as placas de fórmica foram deixadas em contato com a superfície por 30 segundos.

Logo após, cada superfície foi submetida ao processo de desinfecção pela técnica “spray wipe spray” para cada solução, e cada superfície recebeu a aplicação do desinfetante com auxílio de um borrifador que em seguida foi removido por fricção com gaze esterilizada e foi novamente aplicado o desinfetante que permaneceu na superfície por aproximadamente 30 segundos, sendo, este processo, realizado por mais 2 vezes (BAMBACE, 2003).

Após o período de desinfecção, as placas de fórmica foram colocadas em contato com placas de Ágar sangue por 30 segundos. As placas, controle e pós-desinfecção, foram incubadas a 35°C por 24 horas em estufa bacteriológica, sendo realizadas leituras após este período. Foi realizada a contagem do número de colônias após a desinfecção.

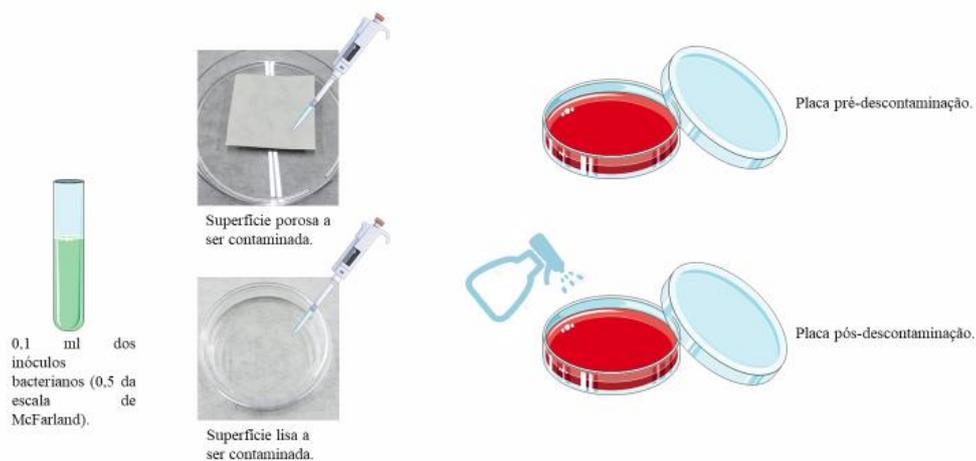
A cada experimento as superfícies foram submetidas à descontaminação com hipoclorito de sódio (2,0 a 2,5%) por 30 minutos, lavadas com água e sabão e esterilizada em autoclave 121°C por 20 minutos.

4.6.2 Superfícies lisas

Da mesma forma, utilizamos a técnica anterior, mas, neste caso, com superfícies lisas de placa de Petri (J. Prolab) de 60x15mm e sem fricção. As superfícies das placas foram contaminadas, descontaminadas e feito um print em placas de Ágar Mueller Hinton. As placas, controle e pós-desinfecção, foram incubadas a 35°C por 24 horas em estufa bacteriológica, sendo realizadas leituras após este período. Foi realizada a contagem do número de colônias após a desinfecção.

Figura 2 - Esquema de higienização de superfície

•Técnica de higienização de superfície porosa e lisa



Fonte: Autoria própria.

4.7 Método de macrodiluição em caldo para antissépticos

O método de macrodiluição em caldo foi adaptado segundo as recomendações do Brcast, 2016, para antimicrobianos. Os antissépticos foram armazenados em temperatura ambiente e diluídos no dia do experimento, sendo eles: polihexametileno biguanida + quaternário de amônio 0,4% solução desinfetante, digluconato de clorexidina a 2% solução degermante, digluconato de clorexidina solução tópica a 0,2%, álcool 70% líquido e em gel e sabonete líquido.

Na preparação do inóculo bacteriano, foram utilizadas 3 a 4 colônias isoladas da bactéria transferidas para um tubo contendo 3 ml de solução salina 0,9% estéril, e ajustada a turvação equivalente a 0,5 da Escala de McFarland. Preparado o inóculo bacteriano, foi feita a inoculação das bactérias nos tubos previamente preparados de acordo com a descrição abaixo.

Utilizamos a macrodiluição com tubos estéreis, foram adicionados, com uma pipeta, 500 µl de caldo infuso de cérebro e coração (BHI) em todos os tubos estéreis. Logo após foram adicionados 250 µl de cada antisséptico a ser testado e 25 µl da suspensão bacteriana.

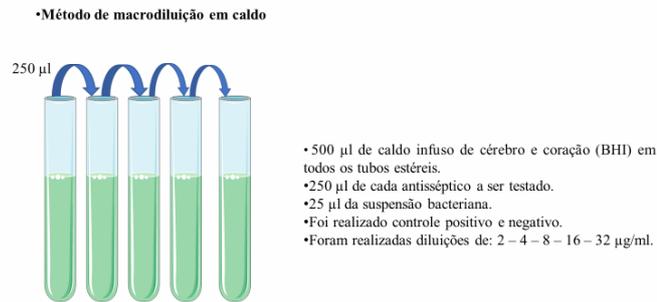
Foi realizado controle positivo da bactéria, adicionando-se 500 µl de caldo infuso de cérebro e coração (BHI), 250 µl de água destilada e 25 µl da suspensão bacteriana.

Foi realizado controle negativo da bactéria, adicionando-se 500 µl de caldo infuso de cérebro e coração (BHI), 250 µl do produto e 25 µl de água destilada.

As distribuições das concentrações dos antissépticos testados foram:

- Polihexametileno biguanida + quaternário de amônio 0,4% Solução desinfetante: 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg/ml
- Solução de álcool 70% líquido: 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg/ml.
- Solução de álcool 70% gel: 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg/ml.
- Solução degermante de digluconato de clorexidina 0,2%: 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg/ml.
- Solução de digluconato de clorexidina tópico: 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg/ml.
- Solução de Sabonete líquido: 2 – 4 – 8 – 16 – 32 µg/ml.

Figura 3 - Esquema do Método de macrodiluição em caldo



Fonte: Autoria própria.

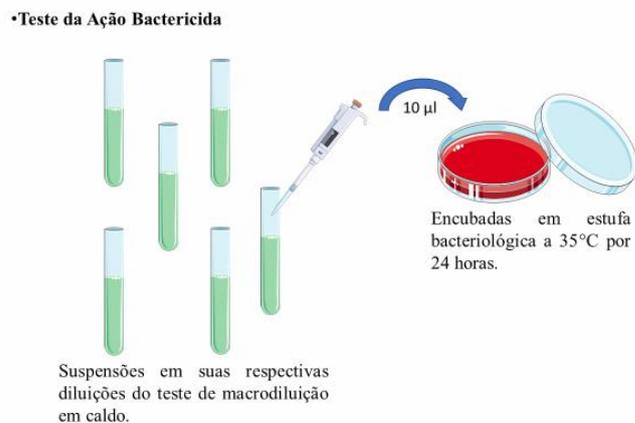
4.8 Teste da ação bactericida

Para visualizar a ação bacteriana da substância testada, semeamos cada suspensão testada em suas respectivas diluições após a incubação do teste de macrodiluição em caldo, como descrito abaixo.

Foram semeadas 10 microlitros de cada diluição em placas de Ágar sangue e encubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas, a fim de verificar a atividade bactericida da substância testada.

O resultado foi considerado quando houve crescimento da bactéria do respectivo tubo e marcado a concentração inibitória correspondente. A concentração mínima bactericida foi considerada como a menor concentração do antisséptico que inibiu o crescimento bacteriano em relação ao controle positivo.

Figura 4 - Esquema do Teste da ação bactericida



Fonte: Autoria própria.

5 RESULTADOS

Todos os testes realizados foram feitos em triplicata.

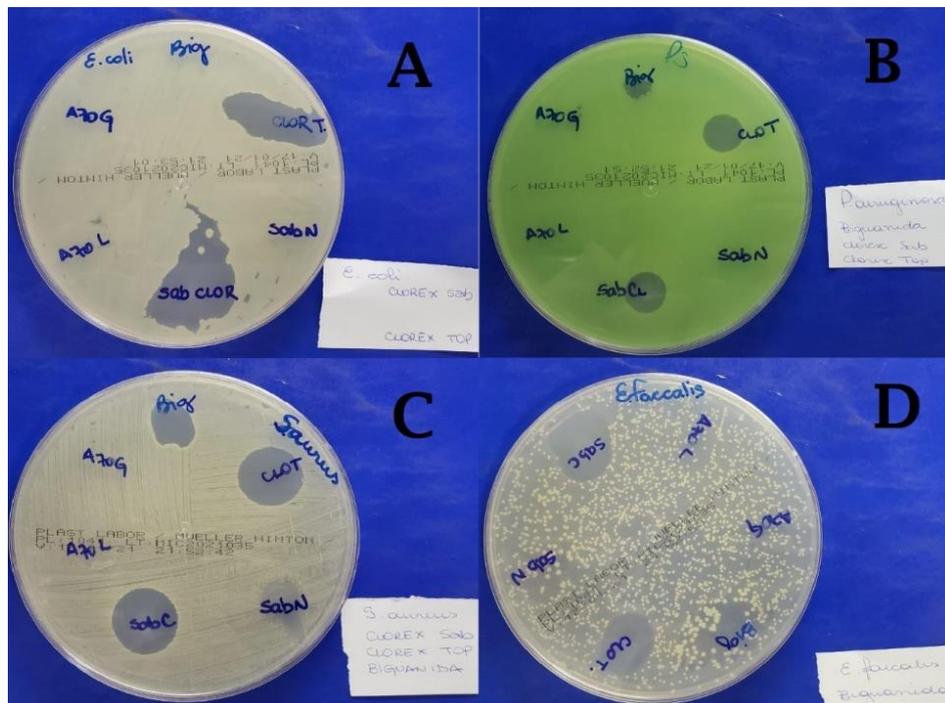
5.1 Técnica de Gotejamento

Dentre as soluções testadas, somente clorexidina tópica e clorexidina solução degermante apresentaram inibição do crescimento bacteriano para *E. coli* (figura 1: A). Foi observado para *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. faecalis*, inibição para biguanida além de clorexidina tópica e clorexidina solução degermante (figura 1: B, C e D).

As soluções alcoólicas e o sabonete líquido não apresentaram inibição bacteriana para os microrganismos testados, como mostra a figura 1.

Não podemos afirmar que o halo apresentado nos testes é indicativo de uma inibição total do microrganismo por não termos dados comparativos na literatura, necessitando de outros testes para confirmar.

Figura 5 - Teste do Gotejamento: A- *E. coli*, B- *P. aeruginosa*, C- *S. aureus* e D- *E. faecalis*.



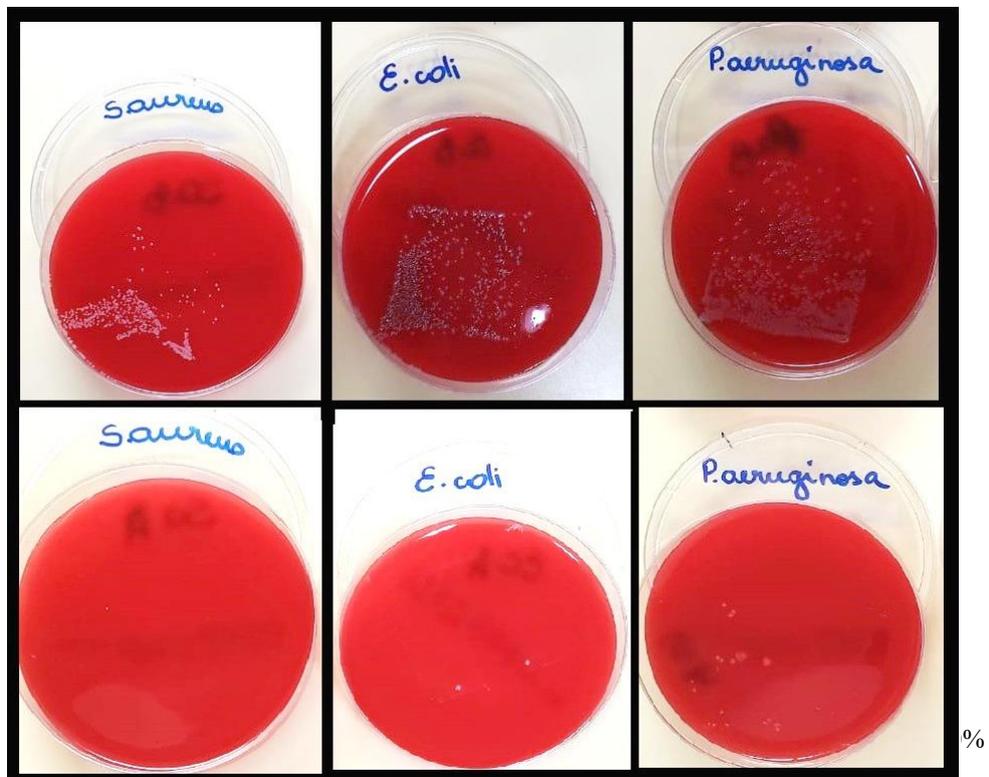
Fonte: Autoria própria.

5.2 Técnica da superfície

Em relação aos produtos utilizados para higienização de superfície porosa, o álcool 70% líquido (Figura 2) apresentou diminuição no número de microrganismos na placa após a higienização por “spray wipe spray” nas superfícies.

Podemos observar que após a higienização, a placa de *S. aureus* não apresentou crescimento bacteriano, *E. coli* apresentou apenas duas colônias e *P. aeruginosa* poucas colônias, indicando que a técnica de fricção de superfície foi eficiente.

Figura 6 - Teste “spray wipe spray” em placa de fórmica utilizando álcool 70% líquido.

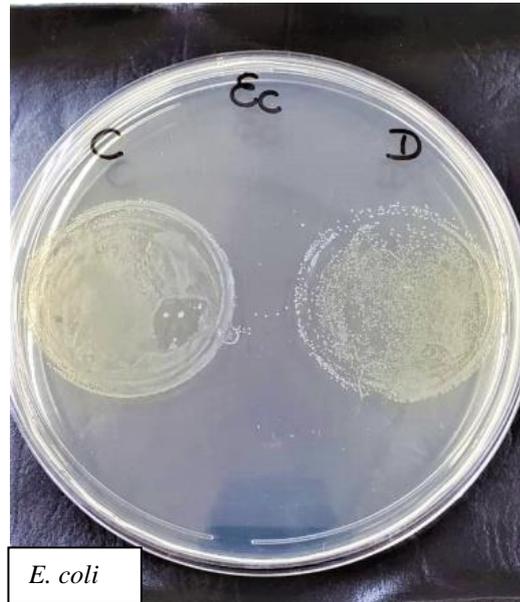


Fileira superior - “print” da placa de fórmica contaminada. Fileira inferior - “print” da placa de fórmica contaminada

Fonte: Autoria própria.

Em relação aos resultados obtidos utilizando superfícies lisas, houve um crescimento considerável de *E.coli* após a higienização pela biguanida (Figura 3), como observado também no teste do gotejamento.

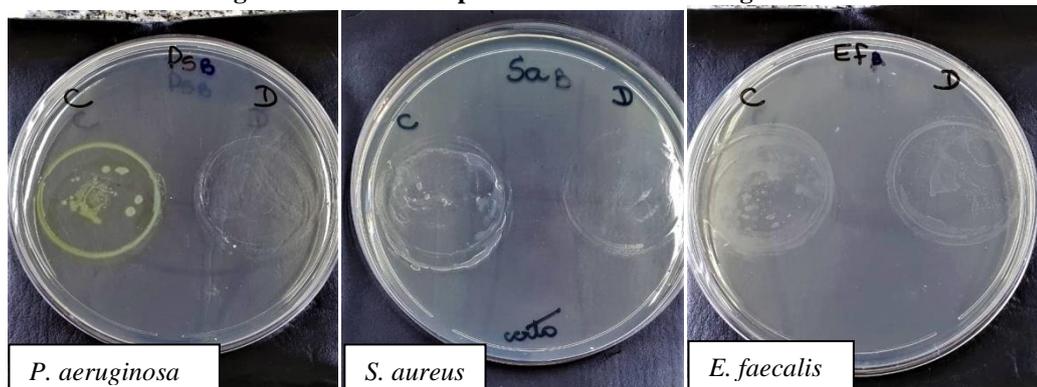
Figura 7 - Teste da superfície lisa utilizando biguanida.



Fonte: Autoria própria (C= antes desinfecção e D= após desinfecção)

Em relação aos outros microrganismos *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. faecalis*, houve pouco crescimento bacteriano, como observado na figura 8, sendo C – antes desinfecção e D – após desisfecção.

Figura 8 - Teste da superfície lisa utilizando biguanida.



Fonte: Autoria própria (C= antes desinfecção e D= após desisfecção).

5.3 Método de macrodiluição em caldo

O resultado obtido na macrodiluição em caldo mostrou que as soluções testadas, quando em suas concentrações padronizadas, ou seja, 0,4% para biguanida, 2% para clorexidina degermante, 0,2% para clorexidina tópica, 70% para álcool líquido e gel e *in natura* para sabonete líquido, apresentam inibição bacteriana, como mostra a tabela a seguir.

Tabela 1 - Resultados da ação inibitória obtidos na macrodiluição em caldo dos produtos frente aos microrganismos testados (resultado visual).

Microrganismo testado	Biguanida	Clorexidina Degermante	Sabonete Líquido	Álcool 70% Líquido	Álcool 70% em Gel	Clorexidina Tópica
<i>S. aureus</i>	Total	Total	Total	70%	Diluição 1, 2 e 3	Total
<i>P. aeruginosa</i>	Diluição 1, 2 e 3	Total	Crescimento	Diluição 1 e 2	Diluição 1, 2, 3 e 4	Total
<i>E. coli</i>	Diluição 1, 2, 3 e 4	Total	Crescimento	Diluição 1 e 2	Diluição 1 e 2	Total
<i>E. faecalis</i>	Total	Total	Total	70%	Diluição 1, 2 e 3	Total

Fonte: autoria própria

Figura 9 - Técnica de macrodiluição em caldo.



Fonte: autoria própria.

Os resultados obtidos foram através da observação a olho nu da turvação dos frascos, contudo, podemos observar que alguns produtos, como clorexidina tópica, clorexidina degermante e biguanida, apresentaram turvação no primeiro tubo. Essa turvação ocorreu

quando o produto foi pipetado no caldo BHI, podendo ser alguma interferência na composição do produto.

5.4 Teste da ação bactericida

Observamos que a concentração da atividade bactericida dos produtos testados apresentou crescimento em concentrações maiores que as observadas na macrodiluição em caldo.

Tabela 2 - Resultados da ação bactericida dos produtos frente aos microrganismos testados.

Microrganismo testado	Biguanida	Clorexidina Degermante	Sabonete Líquido	Álcool 70% Líquido	Álcool 70% em Gel	Clorexidina Tópica
<i>S. aureus</i>	Total	Total	Crescimento	70%	Diluição 1 e 2	Total
<i>P. aeruginosa</i>	Diluição 1, 2 e 3	Total	Crescimento	70%	Diluição 1, 2 e 3	Total
<i>E. coli</i>	Diluição 1, 2, 3 e 4	Total	Crescimento	70%	Diluição 1 e 2	Total
<i>E. faecalis</i>	Diluição 1, 2 e 3	Total	Crescimento	70%	70%	Total

Fonte: autoria própria.

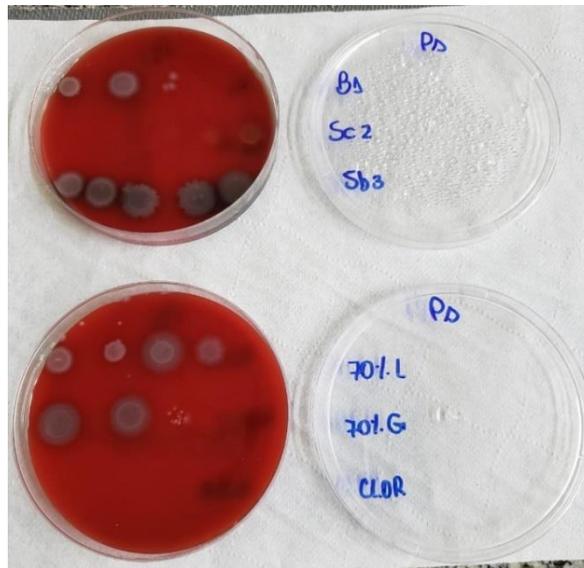
A solução de clorexidina tópica e degermante apresentaram ausência de crescimento total dos microrganismos testados (Figura 5).

Figura 10 - Teste da Ação Bactericida para *Staphylococcus aureus*.



Fonte: autoria própria.

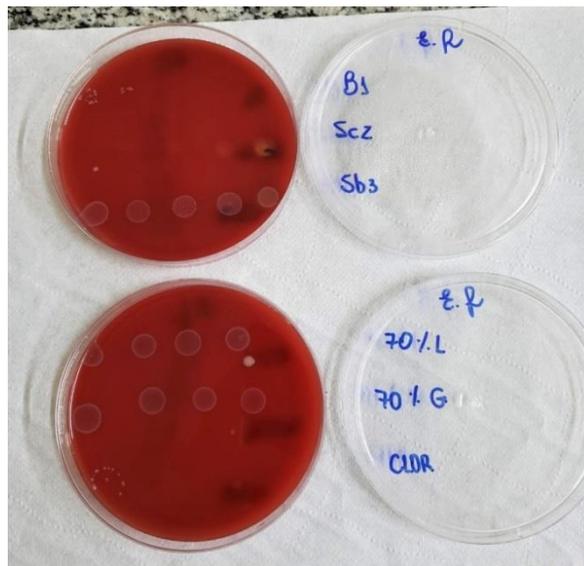
Figura 11 - Teste da Ação Bactericida para *Pseudomonas aeruginosa*.



Fonte: autoria própria.

Em relação ao álcool 70% líquido, a ação bactericida foi observada para todos os microrganismos na concentração padrão de fábrica, ou seja, 70%, como é indicada para o uso, já o álcool 70% em gel demonstrou atividade, quando diluído, para *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, obtendo resultados nas diluições de 70% e 35%, este resultado não foi observado para *E. faecalis*. (Figuras 10,11,12 e 13)

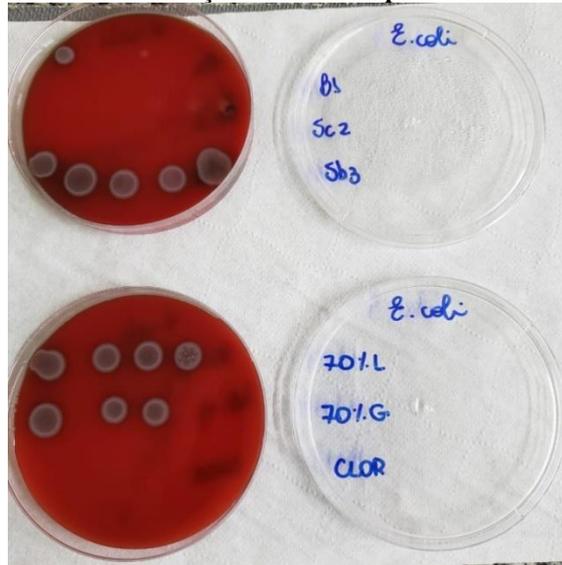
Figura 12 - Teste da Ação Bactericida *Enterococcus faecalis*



Fonte: autoria própria.

A solução de biguanida apresentou ação bactericida para todas as bactérias testadas quando utilizada em sua concentração comercial, no entanto houve ação bactericida em concentrações menores para *P. aeruginosa*, *E. faecalis* e *E. coli*. (Figuras 10,11,12 e 13)

Figura 13 - Teste da Ação Bactericida para *Escherichia coli*.



Fonte: autoria própria.

Em relação ao Sabonete líquido não apresentou ação bactericida em nenhum dos microrganismos testados, havendo crescimento em todas as áreas semeadas. (Figuras 10,11,12 e 13).

Foi realizado controle positivo e negativo em todos os testes, assim como controle dos produtos testado quanto à presença de bactérias.

6 DISCUSSÃO

A limpeza e a desinfecção de superfícies são elementos que convergem para a sensação de bem-estar, segurança e conforto dos pacientes, profissionais e familiares nos serviços de saúde. Corroboram também para o controle das infecções relacionadas à assistência à saúde, por garantir um ambiente com superfícies limpas, com redução do número de microrganismos, e apropriadas para a realização das atividades desenvolvidas nesses serviços.

Lembramos também que atualmente a higienização das mãos é um assunto discutido diariamente, apresentando as seguintes finalidades (BOYCE *et al.*, 2002): remoção de sujidade, suor, oleosidade, pelos, células descamativas e microbiota da pele, interrompendo a transmissão de infecções veiculadas ao contato e contribuindo na prevenção e redução das infecções causadas pelas transmissões cruzadas.

Em nosso estudo buscamos observar a ação de alguns produtos indicados para higienização das mãos e para a limpeza e desinfecção de superfícies, utilizados atualmente com o propósito de avaliar sua eficácia.

Os sabões e detergentes, de uma maneira geral, têm pouca atividade antisséptica, como verificamos em nosso trabalho, mas são eficazes na remoção da microbiota transitória, além de eliminar impurezas depositadas na pele, quando combinado com fricção mecânica. (LOWBURY *et al.*, 1964; AYLIFFE *et al.*, 1975; BARLEY *et al.*, 1981; ALTEMEIER *et al.*, 1984).

O álcool etílico é recomendado na prática hospitalar no Brasil para a lavagem higiênica das mãos devido à sua eficácia e baixo custo, sua principal desvantagem está no efeito de ressecamento da pele, desta forma foi desenvolvida a forma em gel a qual foi muito bem aceita e sua eficácia e aceitação foram confirmadas. (Brasil, 1989; Larson, 1995).

Em nosso trabalho observamos que o álcool 70% líquido, álcool 70% em gel, a clorexidina tópica e degermantes apresentaram eficácia inibindo o crescimento bacteriano, quando analisado a técnica da macrodiluição em caldo, assim como Hernandes (2004) em sua pesquisa de higienização das mãos. Estes produtos foram mais eficazes do que o sabão líquido não medicamentoso na remoção da *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, das mãos, como verificamos em nossos resultados (HERNANDES, 2004).

Em um estudo realizado por Andrade e colaboradores (2007), utilizando a técnica do gotejamento, observaram inibição bacteriana para *E. coli* e *P. aeruginosa* quando utilizado

álcool 70% em gel, o que não foi observado em nosso estudo. Esses achados apontam à necessidade de mais estudos que possam validar novas técnicas microbiológicas para avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de álcool géis (ANDRADE *et al.*, 2007).

Graziano e colaboradores (2013) estudaram a ação de álcool líquido 70% em superfícies e observaram que foi eficiente tanto com limpeza prévia ou não, nossos resultados estão de acordo com os observados por eles, a limpeza de superfície com fricção foi eficaz aos microrganismos testados, em especial ao *S. aureus*.

Em um estudo com superfícies de equipamentos odontológicos, foi observado que a solução alcóolica de clorexidina foi eficiente na eliminação de microrganismos, o que sugere o mesmo observado em nosso estudo com o digluconato de clorexidina que apresentou resultados positivos nos testes realizados neste estudo (SILVA, 2002).

Bambace *et al.* (2003), observou que todas as soluções desinfetantes testadas em Cepas de *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Klebsiella pneumoniae*, demonstraram eficácia na desinfecção de superfícies em couro, fórmica e aço inoxidável, considerando-se a ausência ou pequeno crescimento de ufc/placa quando comparado ao grupo controle, este resultado foi observado em nosso teste com fórmica confirmando nossos dados.

Bim (2019) observou que a utilização da biguanida em superfícies inanimadas demonstrou atividade antibactericida contra as cepas de *P. aeruginosa* e *S. aureus* após procedimento de desinfecção. Nossos resultados condizem com os observados por ele, além de apresentar ação inibitória para outras bactérias testadas.

7 CONCLUSÃO

O teste do gotejamento mostrou que, para os produtos que possuem indicação de limpeza por fricção, como as soluções alcoólicas, não apresentou resultado satisfatório, no entanto apresentou inibição bacteriana para digluconato de clorexidina e biguanida.

A macrodiluição em caldo confirmou a ação dos produtos testados quando em sua concentração indicada pelo fabricante e, para alguns microrganismos, foi observada a inibição do crescimento bacteriano em concentrações ainda menores. No entanto devemos ressaltar que os resultados vistos a olho nu podem sugerir falsos negativos.

Em relação à ação bactericida, assim como visto na macrodiluição em caldo, testes demonstraram que todos os produtos testados em sua concentração usual são eficazes.

Em relação ao sabonete líquido, podemos observar que sua eficácia é em remover sujidade de superfícies ou da pele, pois em nenhum dos testes realizados foi observada a inibição bacteriana.

Entretanto os resultados obtidos necessitam de maiores estudos e outros testes para serem melhores analisados.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, D. *et al.*. 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. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/323>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- BAMBACE, A. M. J. *et al.*. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Revista biociência Taubaté**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 73-81, 1 abr. 2003. Disponível em: <http://periodicos.unitau.br/ojs/index.php/biociencias/article/view/108/0>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- BELLISSIMO-RODRIGUES F. *et al.* Eficácia do enxágue oral com clorexidina na prevenção de infecções do trato respiratório nosocomial em pacientes de Unidade de Terapia Intensiva. **Infect Control Hosp Epidemiol.**, [s.l.], v. 30, p. 952–8, 2009. Disponível em:
- BIM, L. L. **Desinfecção com biguanida polimérica e as implicações na manutenção da segurança ambiental**. 2019. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Enfermagem, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/22/22132/tde-20112019-203959/pt-br.php>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- BOYCE, J. M. *et al.*. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. **MMWR Recomm Rep.**, Atlanta, v. 51, n. RR-16, p. 1-45, 2002. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/PDF/rr/rr5116.pdf>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- DENARDI, B. B. O. Uso da Clorexidina na Prática Odontológica. **Revista da APCD**, [s.l.], p. 1279- 1284, 1994.
- HERNANDES, S. E. D. *et al.* . The effectiveness of alcohol gel and other hand-cleansing agents against important nosocomial pathogens. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 35, n. 1-2, p. 33-39, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/tnqb6Pz3Rfy4PQJXrFRp4BS/?lang=en>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- HERNANDES, S. E. D. *et al.*. The effectiveness of alcohol gel and other hand-cleansing agents against important nosocomial pathogens. **Braz. J. Microbiol.**, [s.l.], v.35, n.1-2 p.33-392004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151783822004000100005&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 03 nov. 2020.
- KAMPF, G. *et al.*. Evaluation of two methods of determining the efficacies of two alcohol based hand rubs for surgical hand antisepsis. **Appl. Environ. Microbiol.**, [s.l.], v. 72, n. 6, p. 3856-61, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16751489/>. Acesso em: 03 nov. 2020.

LARSON, E. APIC guidelines for handwashing and hand antisepsis in health care settings. **Am. J. Infect. Control.**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 251-269, 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7503437/>. Acesso em: 03 nov. 2020.

LARSON, E. L. A causal link between handwashing and risk of infection? Examination of the evidence. **Infect Control.**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 28-36, 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3276640/>. Acesso em: 03 nov. 2020.

MAGRO FILHO, O. *et al.*. Lavagem das maos com solucoes de PVP-I, clorexidina e sabao liquido: estudo microbiologico. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas.**, [s.l.], v. 54, n. 1, p. 25-8, 2000. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-271403>. Acesso em: 03 nov. 2020.

MCDONNELL G.; RUSSELL A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clin Microbiol ver.**, [s.l.], v. 12, n. 1, p. 147-179, 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88911/>. Acesso em: 03 nov. 2020.

OKAMOTO, T. O. *et al.*. Influência da antissepsia com PVPI-I sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de poliéster. Estudo microbiológico e histológico em ratos. **Arq. Ciênc. Saúde.** [s.l.], v.6, n. 2, p. 93-97, 2002. Disponível em: <https://www.revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/1162>. Acesso em: 03 nov. 2020.

PRADO, M. F.; MARAN, E. Desafio ao uso das preparações alcoólicas para higienização das mãos nos serviços de saúde. **Esc. Anna. Nery**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 544-547, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ean/a/gqfknXVbqbRtTDspqf5b8KM/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 03 nov. 2020.

RUTALA, W. A., WEBER, D. J., HICPAC. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008 Disponível em: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/disinfection_nov_2008.pdf.

SANTOS, A. A. M. *et al.*. Importância do álcool no controle de infecções em serviços de saúde. **Revista administração saúde**, [s.l.], v. 4, n. 16, p. 7-14, 1 jul. 2002. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlo/controlo_alcool.pdf. Acesso em: 03 nov. 2020.

SILVA C. R. G.; JORGE A. O. C. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em Odontologia. **Pesqui. Odontol. Bras.**; [s.l.], v.16, n. 2, p. 107-114, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pob/a/dF37t537FPpkGHvgh9FWfvN/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 03 nov. 2020.