

Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v. 3, n. 1, p. 002-007, 2016

Avaliação da eficácia *in vitro* de três desinfetantes utilizados na rotina hospitalar veterinária

(*in vitro efficacy assessment of three disinfectants used in veterinary hospital routine*)

GONDIN, Mariana Marréga Rezende¹; PITTA, Agnes Caldas²; SFACIOTTE, Ricardo Antonio Pilegi³; VIGNOTO, Vanessa Kelly Capoa⁴; WOSIACKI, Sheila Rezler^{5*}

¹ Discente nível Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais nos Trópicos, Universidade Federal da Bahia (UFBA). E-mail: marianam_r@hotmail.com;

² Médica Veterinária com graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: agnes_pitta@hotmail.com;

³ Discente nível Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC). E-mail: sfaciotti@hotmail.com

⁴ Discente nível Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Universidade Estadual de Maringá. Técnica do Laboratório de Microbiologia Animal, Campus Regional de Umuarama, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: vanessacapoa@hotmail.com;

⁵ Docente do Departamento de Medicina Veterinária e do Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, Campus Regional de Umuarama, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Umuarama, PR Cx. Postal: 65, CEP: 87501-970, Brasil.

* Autor para correspondência: rwosiacki@uem.br

Artigo enviado em 22/05/2016, aceito para publicação em 06/06/2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v3i1.32028>

RESUMO

O objetivo deste projeto foi de avaliar *in vitro* a eficácia de diferentes protocolos de desinfecção hospitalar na área veterinária. Foram testados três desinfetantes comerciais, com princípios ativos Cloreto de Benzalcônio, Cloreto de alquil dimetil benzil amônio e o-benzil p-clorofenol, sendo este último testado o produto puro (para desinfecção) e na diluição 1:30 (para limpeza geral de superfícies). Para o teste dos desinfetantes foi utilizado um *pool* de bactérias na concentração de 10^5 com as seguintes cepas padrão: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os princípios ativos foram testados nos tempos de 30 segundos, 1 minuto, 2,5 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos e 20 minutos. Avaliando-se a ação dos desinfetantes na presença de matéria orgânica (leite), observou-se que os produtos a base de amônia quaternária apresentaram resultados variáveis. A partir do tempo de 2,5 minutos o cloreto de benzalcônio obteve melhor ação antibacteriana, eliminando todos os micro-organismos. As análises realizadas com o princípio o-benzil p-clorofenol mostraram que o princípio puro mostrou-se eficiente em todos os tempos, não apresentando contagem bacteriana em nenhum teste, resultado diferente do que ocorreu com o princípio diluído, que apresentou contagem de micro-organismos variando de 2,64 log/mL (20 minutos) a 3,21 log/mL (2,5 minutos). A partir dos testes realizados com os diferentes tipos de desinfetantes comerciais, concluiu-se que Cloreto de Benzalcônio e o o-benzil p-clorofenol foram os que apresentaram os melhores resultados quando comparados com os demais. O Cloreto de Benzalcônio apresentou maior eficácia depois do terceiro tempo (5 minutos). O o-benzil p-clorofenol mostrou-se eficaz em todos os tempos alcançando assim seu objetivo, que foi a redução total de todos os micro-organismos.

Palavras-chave: amônia quaternária, cloreto de benzalcônio, cloro-fenol, desinfecção.

ABSTRACT

The objective of this project was to evaluate *in vitro* efficacy of different hospital disinfection protocols in the veterinary field. three commercial disinfectants were tested with active ingredients Benzalkonium chloride, alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride and benzyl-p-chlorophenol, the latter being tested pure product (for disinfection) and diluted 1:30 (for general cleaning of surfaces). To test the disinfectant was used a pool of bacteria at a concentration of 10^5 with the following standard strains: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). The active principles have been tested on times of 30 seconds, 1 minute, 2.5 minutes, 5 minutes, 10 minutes, 15 minutes and 20 minutes. Evaluating the action of the disinfectant in the presence of organic matter (milk), it was observed that the products quaternary ammonium base gave variable results. From time 2.5 minutes to benzalkonium chloride obtained a better antibacterial action, eliminating all microorganisms. The analyzes with the principle the benzyl-p-chlorophenol showed that pure principle was efficient at all times, showing no bacterial counts in any test result different from what happened with the diluted first that presented micro- count organisms ranging from 2.64 logs/ml (20 min) at 3.21 logs/ml (2.5 minutes). From the tests carried out with four types of commercial disinfectants, it was found that benzalkonium chloride and the benzyl p-chlorophenol were those with the best results when compared with others. The benzalkonium chloride was more efficient after the third time (5 minutes). The o-benzyl-p-chlorophenol was effective at all times thus achieving its goal, which was the total reduction of all micro-organisms.

Key-words: quaternary ammonium, benzalkonium chloride, chloro-phenol, disinfection.

INTRODUÇÃO

O combate de microrganismos causadores de infecções sempre foi preocupação do ser humano. A observação de microrganismos e suas ações potenciais, principalmente os mais infecciosos, é uma preocupação que estende-se a diversos setores, inclusive à Medicina Veterinária (BERNARDI et al., 1998).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2007), desinfetante é um produto que elimina todos os micro-organismos patogênicos. A destruição ou inativação de organismos patogênicos, capazes de produzir doenças, ou de outros organismos indesejáveis, é o objetivo dos processos de desinfecção (CUBILLOS, 1981).

Existem dois métodos de desinfecção, sendo eles a desinfecção física e a desinfecção química. A desinfecção física consiste em expor o material a agentes físicos como variações de temperaturas (calor e frio), exposição à radiação (raios ionizantes e não-ionizantes), alteração da pressão osmótica e dessecação. O método de desinfecção química utiliza produtos químico-desinfetantes (BARTANN, 2010).

Segundo Kich et al. (2004) a detecção de um produto desinfetante eficaz deve ser a primeira etapa do protocolo de controle de doenças, pois aspectos que se relacionam à limpeza, desinfecção e a biossegurança estão entre os principais elementos nos programas de controle da infecção por microrganismos.

Os agentes desinfetantes podem destruir os microrganismos patogênicos por diferentes mecanismos, sendo os principais a destruição da estrutura celular, interferência no metabolismo induzindo à inativação de enzimas e interferência na biossíntese e crescimento celular (MURRAY et al., 2006).

Os desinfetantes são classificados em níveis: alto, intermediário e baixo. A atividade dos desinfetantes de alto nível é considerada semelhante à esterilização, já que tem ação esporocida. Os desinfetantes de nível intermediário têm ação

tuberculocida e sobre vírus não envelopados, já os desinfetantes de baixo nível não possuem atividade contra bactérias esporuladas, vírus não envelopados e bacilos da tuberculose. (MURRAY et al., 2006; KRITSKI et al, 1988).

Os desinfetantes, utilizados em hospitais para a desinfecção de superfícies e instrumentos, devem apresentar algumas características como: não ser de origem irritativa nem corrosiva; apresentar potência e seletividade; amplo espectro; ação rápida e sustentada; estabilidade química; ausência de cor e odor; compatibilidade com sabões e outras substâncias químicas; hipoalergenicidade; ausência de toxicidade para pele ou tecidos; atividade na presença de matéria orgânica; e preço acessível.

No plano de limpeza e desinfecção devem ser considerados alguns parâmetros, tais como: superfícies e volumes a serem limpas e desinfetadas; tipo, diluição e tempo de atuação do desinfetante a ser utilizado; intervalos e frequência de desinfecção; programação do rodízio de desinfetantes; determinação da sequência para limpeza; e treinamento dos operadores que realizarão a desinfecção (BERNARDI et al., 1998; SLATTER, 2007; SANTOS et al., 2007). Para iniciar um processo seguro de desinfecção é necessário conhecer os produtos químicos a serem empregados, seus mecanismos de ação, toxicidade e ação deletéria em diferentes locais (HEIT e RIVIERE, 1995).

O objetivo deste projeto foi de avaliar *in vitro* e a eficácia de diferentes desinfetantes utilizados na rotina hospitalar na área veterinária.

MATERIAL E MÉTODOS

O Experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia Animal, da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Campus Regional de Umuarama (CAU). Foram testados três desinfetantes comerciais, com princípios ativos Cloreto de Benzalcônio, Cloreto de alquil dimetil benzil amônio e o-benzil p-clorofenol, sendo este último testado o produto puro (para desinfecção) e na diluição 1:30 (para limpeza geral de superfícies). Para o teste dos desinfetantes foi utilizado *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v. 1, n. 1, p. 002-007, 2014

um *pool* de bactérias na concentração de 10^5 com as seguintes cepas padrão: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Em cada tubo de ensaio, foram colocados 9 mL de desinfetante testado, mais 1mL de leite UHT integral utilizado como fonte de matéria orgânica para as bactérias e mais 500 microlitros do *pool*, deixando-os agir, nos tempos de 30 segundos, 1 minuto, 2,5 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos e 20 minutos. Após respeitado o tempo de contato, foram inoculados 100 microlitros de cada tubo em placas de Petri contendo PCA, todos realizados em duplicata e então incubados por 24/48 horas em estufa á 36° C. As colônias visíveis foram contadas e o fator de correção acrescido para um resultado final em log de UFC/mL. Os testes foram realizados em duplicata em três tempos (3 dias diferentes). Os valores encontrados são representativos das médias simples das duplicatas.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva para cálculo das frequências absoluta e relativa (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por ser considerado um ambiente de alto risco para infecções hospitalares, os Hospitais Veterinários devem ser submetidos à desinfecção e esterilização eficaz (OLIVAES, 2004; SANTOS et al., 2007). A desinfecção do ambiente hospitalar é realizada pelo uso de desinfetantes nas superfícies e instrumentos, não podendo ser de origem irritativa, tanto para os pacientes atendidos posteriormente quanto para os

médicos veterinários e enfermeiros, e também não podem ficar acumulados para evitar possíveis irritações ou corrosões. Deve-se levar em consideração ainda o uso apropriado com recomendação de tipo de superfície e localização a ser desinfetada e concentrações utilizadas (BERNARDI et al., 1998; SANTOS et al., 2007). Devido a isso, o presente trabalho utilizou desinfetantes com princípio ativo à base de amônia quaternária, que apresenta atividade antimicrobiana de amplo espectro, eliminando até mesmo microrganismos produtores de biofilmes.

Diversos protocolos de desinfecção devem ser considerados para os diferentes ambientes encontrados em hospitais veterinários, levando em consideração o fluxo de animais e pessoas, tempo de permanência destes animais nos locais e tipo de procedimento a ser realizado no local.

Os programas apropriados de desinfecção não podem ser postos em prática somente nos centros cirúrgicos, devendo ser considerados todos os locais de circulação dos animais, assim como os locais de circulação apenas de pessoas envolvidas no trabalho hospitalar. Ambientes de ambulatório, internamento e isolamento do animais devem também ser cuidadosamente avaliados e monitorados quanto a infecções hospitalares, visto que os pacientes hospitalares são mais suscetíveis a infecções tanto oportunistas quanto primariamente patogênicas.

Frente a isso, os resultados encontrados neste estudo, apresentados nas tabelas 1 a 3, corroboram para a implantação e melhoria dos protocolos de desinfecção para os diversos ambientes hospitalares.

Tabela 1. Resultados encontrados do primeiro teste *in vitro* de desinfetantes frente a cepas bacterianas padrão, conforme o princípio ativo e tempo de ação (log de UFC/mL)

Desinfetante	cloreto de benzalcônio	cloreto de amônio	o- Benzil p – clorofenol puro	o- Benzil p – clorofenol diluído
Tempo				
30 segundos	2,56	3,45	0	3,11
1 minuto	2,23	3,42	0	3,18
2,5 minutos	0	3,13	0	3,21
5 minutos	0	3,45	0	3,02
10 minutos	0	3,39	0	2,90
15 minutos	0	3,37	0	2,92
20 minutos	0	3,36	0	2,64

Tabela 2. Resultados encontrados do segundo teste *in vitro* de desinfetantes frente a cepas bacterianas padrão, conforme o princípio ativo e tempo de ação (log de UFC/mL)

Desinfetante	cloreto de benzalcônio	cloreto de amônio	o- Benzil p – clorofenol puro	o- Benzil p – clorofenol diluído
Tempo				
1 minuto	3,39	2,37	0	3,67
2,5 minutos	3,13	3,37	0	3,68
5 minutos	-	2,23	-	3,65
10 minutos	-	3,21	-	3,68
15 minutos	-	3,41	-	3,71
20 minutos	-	3,43	-	3,69
Controle	0	0	0	0

- não realizado

Tabela 3. Resultados encontrados do terceiro teste *in vitro* de desinfetantes frente a cepas bacterianas padrão, conforme o princípio ativo e tempo de ação (log de UFC/mL)

Desinfetante	cloreto de benzalcônio	cloreto de amônio	o- Benzil p – clorofenol puro	o- Benzil p – clorofenol diluído
Tempo				
30 segundos	-	-	0	3,11
1 minuto	2,23	3,42	0	3,18
2,5 minutos	0	3,13	0	3,20
5 minutos	0	3,45	0	3,02
10 minutos	0	3,38	0	2,89
15 minutos	0	0	0	2,91
20 minutos	-	-	0	2,64
controle	0	3,23	0	1,60

- não realizado

Avaliando-se a ação dos desinfetantes na presença de matéria orgânica, observou-se que os produtos a base de amônia quaternária apresentaram resultados variáveis. A partir do tempo de 2,5 minutos o cloreto de benzalcônio obteve melhor ação antibacteriana, eliminando todos os micro-organismos, esses resultados estão de acordo com Grezzi (2006) que relatou a eficiência de desinfetantes à base de amônia quaternária em matéria orgânica. Entretanto o princípio ativo o-benzil p-clorofenol também um composto a base de amônia quaternária, não foi tão eficaz quanto, com contagens entre 3,13 log/mL (2,5 minutos) a 3,45 log/mL (5 minutos).

O o-benzil p-clorofenol mostrou-se eficaz em todos os tempos alcançando assim seu objetivo, que é a redução total de todos os micro-organismos, visto que é utilizado para desinfecção. Já o Cloreto de Benzalcônio apresentou maior eficácia depois do terceiro tempo (5 minutos), quando alcançou contagem bacteriana nula. É importante ressaltar que a eficiência de um bom desinfetante deve ser observada em um

período curto, pois seu tempo de ação deve ser o mínimo possível visto que normalmente estes produtos são utilizados várias vezes necessitando ter boa ação entre as aplicações.

As análises realizadas com o princípio o-benzil p-clorofenol mostraram que o princípio puro é mais eficiente em todos os tempos, não apresentando contagem bacteriana em nenhum teste, resultado diferente do que ocorreu com o princípio diluído, que apresentou contagem de micro-organismos variando de 2,64 log/mL (20 minutos) a 3,21 log/mL (2,5 minutos).

Alguns fatores importantes que influem na desinfecção e, assim, no tipo de tratamento a ser empregado, são: espécie e concentração do organismo a ser destruído; espécie e concentração do desinfetante; tempo de contato; características químicas e físicas da água e grau de dispersão do desinfetante na água (LAUBUSH, 1971).

Estes resultados demonstram que este princípio ativo, quando utilizado de forma pura obteve sua finalidade quando utilizado para desinfecção, *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v. 1, n. 1, p. 002-007, 2014

eliminando assim 100% dos microrganismos, ao passo que diluído, é utilizado apenas para limpeza, não produzindo assim a redução total das bactérias. Resultados que corroboram com Marotti (2010), que recomenda o uso de quaternário de amônia para desinfecção de superfícies não críticas, desinfecção de baixo nível, que necessita de fricção para melhor resultado e tempo de exposição de 30 minutos.

CONCLUSÕES

A partir dos testes realizados com os quatro tipos de desinfetantes comerciais, concluiu-se que Cloreto de Benzalcônio e o o-benzil p-clorofenol foram os que apresentaram os melhores resultados quando comparados com os demais. Sendo assim, fica clara a importância da avaliação da eficácia bactericida dos desinfetantes de uso veterinário, para garantir segurança e confiabilidade dos produtos utilizados.

REFERÊNCIAS

- BARTMANN, M. **Enfermagem cirúrgica**. Rio de Janeiro, ed. Senac Nacional, 2010.
- BERNARDI, M. M.; GÓRNIK, S. L.; SPINOSA, H. S. Anti-séptico e Desinfetantes. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 440-452, 1998.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007, Regulamento Técnico Para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana. Disponível em <<http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=25959>>. Acesso em 20 Agosto de 2012.
- CUBILLOS, A. Calidad y Control de La polucion del Agua. Mérida: CIDIAT/Centro Interamericano de Desarrollo Integral de Aguas y Tierras. (Mimeo.) (Série Ambiente y Recursos Naturales Renovables, AR 14), 1981.
- GREZZI, G. G. Limpeza e desinfecção na avicultura. In: Conferência Apinco De Ciência E Tecnologia, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP, 2006, p.161-182, 2006
- HEIT, M. C.; RIVIERE, J. E. Antiseptics and disinfectants. In: H.R. Adams (Ed.) **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 7. ed. Iowa State University Press, Ames, IA. p. 741-752, 1995.
- KICH, J. D.; BOROWSKY, L.; RAMENZONI, M.; TRIQUES, N.; KOOLER, F. L.; CARDOSO, M. R. I. Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella* Typhimurium Isoladas de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.1, p.33-39, 2004.
- KRITSKI, A. L.; SOUZA, G. R. M.; GONJITO FILHO, P.P. A Tuberculose como um Problema de Infecção Hospitalar no Brasil. **Jornal de Pneumologia**, São Paulo, v.14, n.1, p. 13-18, 1988.
- LAUBUSCH, E. J. Chlorination and other disinfection processes. In: **Water Quality and Treatment: A Handbook of Public Water Supplies** (American Water Works Association), pp. 158-224, New York: McGraw-Hill Book Company, 1971
- MAROTTI F. Z. **Consultório Odontológico: guia prático para técnicos e auxiliares**. São Paulo, p. 70, 2010.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFAÜER, M. A. **Microbiologia Médica**. Madrid: Elsevier, 2006.
- OLIVAES, C. G. **Profilaxia da infecção na estrutura e rotina do centro cirúrgico de Hospital Veterinário de Pequenos Animais**. Salvador, 2004. 56 p. Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária – UFB, 2004.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ. 1998. 185p.
- SANTOS, L. R.; SCALCO NETO, J. F.; RIZZO, N. N.; BASTIANI, P. V.; OLIVEIRA, V. M.; BOSCARDIN, G.; RODRIGUES, L. B.; BARCELLOS, H. H. A.; BRUM, M. V. EFICÁCIA DE DESINFETANTES E ANTI-SÉPTICOS EMPREGADOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UPF (HV-UPF) BRASIL. **Revista da FZVA**, v.14, n.2, p. 156-164, 2007.
- SLATTER. D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3ª Ed. Editora Manole, Barueri, 2007.