

EFICÁCIA DOS DESINFETANTES QUANTO AO CONTROLE MICROBIOLÓGICO

AUTORES

Desiree Augusta M. B. NOVATO

Giovanía Pereira D. SILVA

Karina Peres FERRASSOLI

Luana Pizoni SIQUEIRA

Paolla Moraes MURONI

Paulo Francisco R. PELAIS

Tamires Ferraz BRUNO

Discentes

Crislene Barbosa de ALMEIDA

Docente

RESUMO

Uma das maiores fontes de contaminação de alimentos é a contaminação cruzada por meio da má higienização de utensílios e mãos. Os desinfetantes, presentes nesta etapa, tem a função de eliminar os microrganismos presentes em banheiros, cozinhas, áreas comuns e pisos de indústrias alimentícias. A falta de higienização faz com que uma bactéria indicadora, como a *Escherichia coli*, possa ser introduzida no alimento a partir de outras fontes não fecais. Os objetivos deste trabalho foram analisar e verificar a eficácia antimicrobiana álcool puro vs álcool 70% e identificar o principal microrganismo indicador mundial: *Escherichia coli* e *Enterobacter* em meio de cultura seletivo. Verificou-se que o álcool puro foi mais eficiente do que o de 70% e isto pode ser explicado pela evaporação do álcool ou uma diluição inadequada. Devido à eficiência dos produtos de limpeza utilizados nos banheiros onde foram coletadas as amostras, não houve o crescimento de *Escherichia coli*.

PALAVRAS-CHAVE

contaminação, microrganismo, desinfetantes

1. INTRODUÇÃO

O “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” define o grupo coliforme como: “todas as bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, gram negativas, não esporuladas e na forma de bastonete”, as quais fermentam a lactose com formação de gás dentro de 48h a 35°C (APHA, 1995). Neste grupo incluem-se organismos que diferem nas características bioquímicas, sorológicas e no seu habitat. Podem ser classificadas em: *Escherichia*, *Aerobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiela* e outros gêneros que quase nunca aparecem em fezes como a *Serratia* (CETESB, 1997).

Uma das maiores fontes de contaminação de alimentos trata-se da contaminação cruzada, através da má higienização de utensílios e mãos. Os desinfetantes se fazem presentes nesta etapa, pois tem a função de eliminar os microrganismos presentes em banheiros, cozinhas, áreas comuns e pisos de indústrias de alimentos. A falta de higienização faz com que uma bactéria indicadora, como a *Escherichia coli*, possa ser introduzida no alimento a partir de outras fontes não fecais. Esta bactéria é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o presente.

Encontramos no mercado uma gama de produtos antissépticos, mas fazem-se necessários testes para verificar o comportamento dos microrganismos (sensibilidade ou resistência) “in vitro”, na presença de diversos desinfetantes. A eficácia de determinada droga contra um agente infeccioso pode vir a ser de grande importância, visto que diferentes espécies bacterianas, ou diferentes cepas de uma mesma espécie, podem demonstrar diferentes níveis de sensibilidade a uma droga ou mesmo, adquirirem resistência.

O álcool em geral é indicado para a etapa de desinfecção das superfícies. Ele possui propriedades microbicidas reconhecidamente eficazes para eliminar os germes mais frequentemente envolvidos nestas infecções, se tornando então imprescindível na realização de ações simples de prevenção como a antisepsia e a desinfecção do ambiente (SANTOS et al., 2011).

A desvantagem encontrada no álcool puro é que ele evapora mais rápido, pois sua composição é basicamente de etanol, não tendo tempo para fazer a total desinfecção. Com isso, ele não desnatura os

microrganismos para isto necessita água (SANTOS et al., 2011).

Quanto ao álcool 70, em sua composição há 70% de etanol e o restante de água. Isso faz com que seja mais facilmente penetrado o álcool dentro das bactérias (passagem facilitada pela parede celular) além de permanecer na superfície por mais tempo.

A *Escherichia coli* é um dos poucos micro-organismos capazes de produzir todos os componentes de que são feitos, a partir de compostos básicos e fontes de energia suficientes. Ela é lactase positiva, ou seja, uma enzima fermentadora de açúcares que é grandemente responsável pela flatulência de cada pessoa, especialmente após o consumo de leite e seus derivados (ALVES, 2008). Sua presença em água ou alimentos é indicativa de contaminação com fezes de humanos ou animais de sangue quente.

Os objetivos deste trabalho foram analisar e verificar a eficácia antimicrobiana álcool puro vs álcool 70% e identificar o principal microrganismo indicador mundial: *Escherichia coli* e *Enterobacter* em meio de cultura seletivo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Utilizou-se para esta pesquisa o Ágar para contagem padrão (PCA); Ágar EMB (Eosina Azul de Metileno); Placas de Petri estéreis; SWAB para coleta dos microrganismos (sola de sapato; parte interna do vaso sanitário e assento do vaso sanitário); Discos de antibiograma, sendo dois por placa; álcool 96°GL; álcool 70%; Alça de Drigaslki; Alça de platina; beckers de 50mL; pipetas de 2mL; Água destilada estéril; Tubos de ensaio estéreis.

2.2. Métodos

Na semeadura em superfície, o meio PCA em seu estado líquido foi colocado nas Placas de Petri até se solidificarem. Posteriormente, foram coletados os SWABS com as amostras. Enquanto as placas de Petri se solidificavam, as amostras colhidas foram colocadas dentro dos tubos de ensaio com água destilada.

Após o meio de cultura solidificado, foi pipetada nas Placas de Petri, a quantia de 0,1mL da solução existente dos tubos de ensaio. Esta solução foi espalhada com a alça de Drigalski e sem misturá-las, foram colocados os discos de antibiogramas que estavam imersos em um Becker com álcool 70% e discos que estavam em outro Becker contendo álcool puro.

Na semeadura em profundidade, primeiramente colocou-se 1,0mL da solução do tubo de ensaio nas Placas de Petri que foram cobertas com aproximadamente 30mL do meio PCA. Foram feitos os movimentos em forma de “8” com muito cuidado e logo após esperou-se solidificar. Depois de solidificado, foram colocados os discos de antibiograma da mesma forma que no experimento anterior.

Após estes procedimentos, as placas foram encubadas invertidas em estufa à 37°C por 24h.

Para a verificação dos possíveis micro-organismos entéricos coletou-se uma alçada, com o auxílio da Alça de platina, das placas contendo meio PCA após a incubação e por “estriamento/esgotamento” foram depositadas na placa com meio EMB já solidificado. Em seguida, foram levadas as placas até a estufa por 48 horas a 35°C. Após as 48 horas na estufa, foram observadas as colônias típicas de *E.coli* e *Enterobacter*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trata-se de um teste QUALITATIVO em relação à qualidade dos desinfetantes e diluições testadas. O resultado se dá por meio da medida do halo de inibição em mm, que se forma em trono dos discos de antibiograma. A ausência de halo significa resistência e a presença de halo implica o nível de sensibilidade microbiana. A temperatura de incubação ideal se situa entre 35 a 37°C por 18 a 24 horas.

Algumas drogas podem sofrer hidrólise nas primeiras horas de incubação (o que possibilita o desenvolvimento dos microrganismos, mesmo que sensíveis a elas) alguns microrganismos se reproduzem antes de serem inibidos pela droga (velocidade de crescimento maior que a velocidade de difusão da droga). Tais fatos permitem o surgimento de “colônias satélite” (colônias que podem surgir dentro do halo de inibição).

As Figuras 1 e 2 apresentam as placas contendo meio PCA onde foram feitas as técnicas de semeadura em superfície e em profundidade, respectivamente.

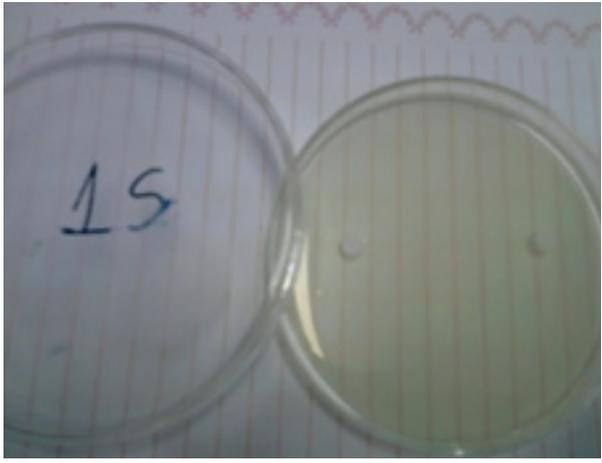


Figura 1. Semeadura em superfície – meio de cultura.

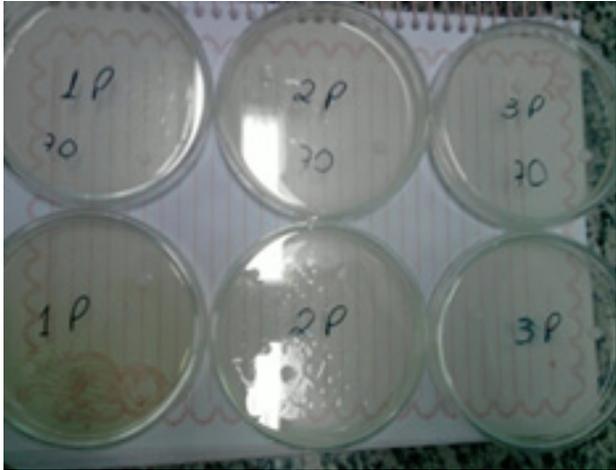


Figura 2. Semeadura em profundidade.

Com o estudo foi possível observar o crescimento de microrganismos nas placas de petri contendo álcool 70% tanto no assento quan-

to no interior do vaso sanitário como observa-se na Tabela 1 e Figura 3. Denota-se, portanto, que o álcool 70% não estava em sua diluição correta, pois o álcool 70% seria o mais eficaz contra microrganismos.

Tabela 1. Eficácia do álcool 70%.

Amostra	Semeadura em Superfície	Semeadura em Profundidade
Sola de sapato	Não houve desenvolvimento de microrganismos	Não houve desenvolvimento de microrganismos
Tampa do vaso sanitário	Formou halo de 1,5mm de diâmetro	Cresceu microrganismo em cima do disco de antibiograma
Interior do vaso sanitário	Formou halo de 1,75mm de diâmetro	Não houve desenvolvimento de microrganismos

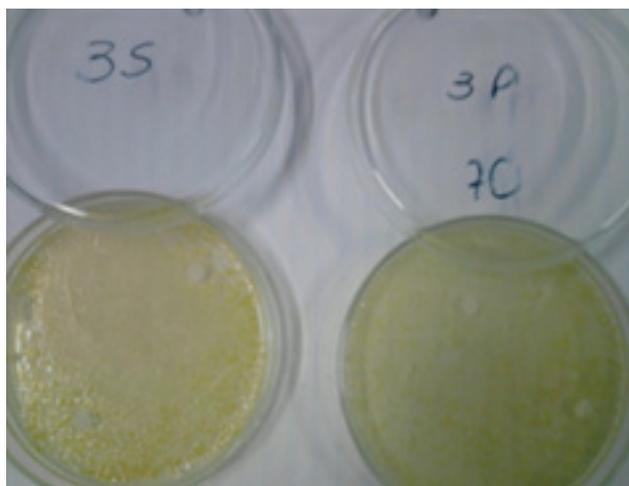


Figura 3. Resultado - Tampa do vaso.

Observa-se na Tabela 2 e Figura 4, que houve crescimento de microrganismos apenas no interior do vaso sanitário. Porém, esse não foi o resultado esperado, já que o álcool puro por não conter água não teria eficácia contra microrganismos. Para o álcool ultrapassar a parede

celular dos mesmos, é necessário que esteja misturado com água, visto que a parede celular das bactérias é impermeável ao álcool.

Tabela 2 . Eficácia do álcool puro.

Amostra	Semeadura em Superfície	Semeadura em Profundidade
Sola de sapato	Não houve desenvolvimento de microrganismos	Não houve desenvolvimento de microrganismos
Tampa do vaso sanitário	Não houve desenvolvimento de microrganismos	Não houve desenvolvimento de microrganismos
Interior do vaso sanitário	Formou halo e 2mm de diâmetro	Não houve desenvolvimento de microrganismos

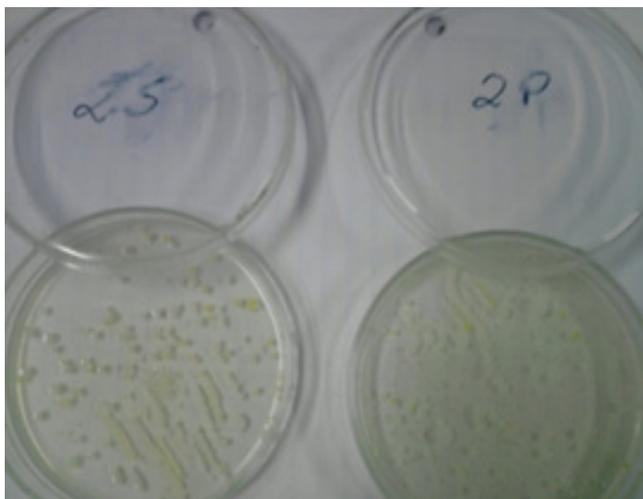


Figura 4. Resultado - meio de cultura – Interior do vaso.

Quanto aos micro-organismos entéricos, visualizou-se somente *Enterobacter* cujas colônias são mucóides, rosas ou acinzentadas. O *E.coli.*, colônias de cor verde metálico e sem brilho, não foi verificado neste experimento, sendo o resultado obtido não esperado, no sentido da identificação visual do micro-organismo. Isto ocorreu pois o vaso sanitário havia sido limpo com eficácia poucas horas antes.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o álcool como agente de desinfecção e antissepsia é mais popular por se tratar de um processo simples, relativamente rápido e de baixo custo para se realizar o controle da infecção. No entanto, o uso do álcool, que é considerado um desinfetante de nível intermediário, sua utilização acaba sendo, muitas vezes, superestimada, provavelmente devido à sua facilidade de aquisição e praticidade de uso.

O fato do álcool puro ter sido mais eficiente do que o 70% pode ser explicado pela evaporação do álcool ou uma diluição inadequada.

Devido à eficiência dos produtos de limpeza utilizados nos banheiros onde foram coletadas as amostras, não houve o crescimento de *Escherichia coli*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L.L. Avaliação físico-química e microbiológica da carne soleada do pantanal. 2008. 55 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campo Grande/MS, 2008.

APHA - STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 19th ed. American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation, Washington, DC, USA, 1995.

CETESB - Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais. São Paulo; 1997. p. 152-4.

SANTOS, A.A.M.; VEROTTI, M.P.; SANMARTIN, J.A.; MESIANO, E.R.A.B. Importância do álcool no controle de infecções. ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. EM SERVIÇOS DE SAÚDE Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/control/control_alcool.pdf. Acesso em dez./2011.