

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO ÁLCOOL GEL A 70% FRENTE ÀS BACTÉRIAS HOSPITALARES E DA COMUNIDADE*

In vitro ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GEL ALCOHOL 70%
AGAINST HOSPITAL AND COMMUNITY BACTERIA

Denise de Andrade¹, Carolina C Beraldo², Evandro Watanabe³, Bruna A Oliveira⁴, Izabel Y Ito⁵

¹Docente. Departamento de Enfermagem Geral e Especializada. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP. ²Enfermeira. Mestranda. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP. ³Farmacêutico. Doutorando. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP. ⁴Enfermeira. Unidade de Terapia Intensiva Coronariana. Hospital Estadual Bauru. ⁵Docente. Departamento de Análises Clínicas Toxicológicas e Bromatológicas. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP
CORRESPONDÊNCIA: Denise de Andrade. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - EERP-USP. Av. Bandeirantes, 3900 - Campus Universitário. CEP 14040-902 Ribeirão Preto - SP. Fone (16) 3602-3409 - e-mail: dandrade@eerp.usp.br

Andrade D, Beraldo CC, Watanabe E, Oliveira BA, Ito IY. Atividade antimicrobiana *in vitro* do álcool gel a 70% frente às bactérias hospitalares e da comunidade. Medicina (Ribeirão Preto) 2007; 40 (2): 250-4.

RESUMO: O uso de álcool gel em procedimentos de anti-sepsia das mãos representa uma prática freqüente nas instituições de saúde. Assim, estabeleceu-se: determinar *in vitro* a atividade antibacteriana do álcool gel a 70%, utilizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, frente às bactérias hospitalares e da comunidade, por meio das técnicas de gotejamento e do poço. As bactérias hospitalares foram *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, e da comunidade: *S. aureus* e *Staphylococcus coagulase-negativo*. O álcool gel apresentou atividade antibacteriana, pela técnica de gotejamento, frente a todas as bactérias estudadas, porém com a técnica do poço nenhum efeito foi observado. Em conclusão, antes de utilizar alguma substância ou produto contra microrganismos é necessário avaliar previamente a sua eficácia com técnicas ou métodos microbiológicos adequados.

Descritores: Álcool Gel. Etanol. Anti-Sepsia. Infecção Hospitalar.

1- INTRODUÇÃO

A escolha do produto químico germicida tem sido uma das preocupações dos profissionais da saúde, particularmente, considerando a diversidade de produtos, a expansiva oferta de mercado, bem como a variabilidade de orientações em termos de indicações de uso^{1/6}.

Um outro aspecto refere-se ao controle de qualidade dos germicidas. Neste sentido, vários países

apresentam entidades ou agências que se responsabilizam pelas ações de controle e de proteção ao consumidor o que inclui o cumprimento das boas práticas de fabricação, conservação e utilização dos produtos^{5/10}. Assim, testes e métodos para avaliação dos germicidas são criteriosamente padronizados, dentre eles a determinação da sua atividade antimicrobiana.

No Brasil a regulamentação dos germicidas está a cargo do Ministério da Saúde, por meio da Divisão de Saneantes Domissanitários (DISAD), que cuida dos

1- Pesquisa inserida no projeto: "Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de substâncias germicidas e do detergente da mamona sobre cepas padrão, hospitalares e da comunidade" subvencionada pela FAPESP.

sanificantes e desinfetantes, e da Divisão de Medicamentos (DIMED) responsável pela normatização dos anti-sépticos. O primeiro dispositivo aprovado junto ao Ministério da Saúde foi a Portaria 196 de 1983 que no anexo V estabelece as Normas para seleção de germicidas em hospitais. A partir daí outras portarias substituíram ou complementaram as anteriores, entretanto, é evidente a falta de revisão e atualização, bem como, a dicotomia entre as recomendações e as práticas em saúde^{7, 8, 9, 11, 12, 13}.

Em geral, busca-se um produto germicida com amplo espectro mesmo na presença de matéria orgânica, tempo mínimo de inativação dos microrganismos, capacidade de preservar a integridade do material, toxicidade *in vivo* nula ou mínima, tolerância à variações de temperatura e de pH, ter ação residual, odor agradável ou inodoro, facilidade de aquisição e de preparo, baixo custo, dentre outras qualidades^{7,9,14,15}.

Particularmente, em relação aos álcoois, é oportuno destacar que: são amplamente utilizados nas práticas em saúde como anti-séptico da pele de pacientes^{8,9,16}, na higienização das mãos de cuidadores^{10,16/27} e, como desinfetante de artigos e superfícies^{1,4/10, 16,28,29}. Detém vasta literatura, e, mesmo assim, as evidências dos estudos apontam controvérsias no que concerne a sua atividade antimicrobiana^{18, 21, 22, 26, 27}.

Do ponto de vista da constituição química, os álcoois são constituídos por um grupo hidroxila, -OH, ligado a um radical alquila, podendo ser preparados a partir de alquenos, halogenetos de alquila, cetonas, ésteres, aldeídos, entre outros compostos. Sua denominação é compatível a sua estrutura, a saber, álcool etílico e o isopropílico (2-propanol), ambos com reconhecida aplicabilidade na área da saúde¹⁴.

O grau de hidratação é um fator importante para sua atividade antimicrobiana, sendo a solução alcoólica a 70% (peso/volume) superior sobre diferentes concentrações alcoólicas. Sua atividade antimicrobiana decresce acentuadamente em concentrações inferiores a 50% e superiores a 70%^{21,23,29,30}, dentre outros estudos.

A despeito da avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* das formulações alcoólicas como o álcool gel *in natura* é oportuno destacar a dificuldade de obtenção de uma técnica, ou método adequado. Esses produtos têm fatores interferentes que limitam o uso das técnicas microbiológicas convencionais como a volatilidade e a viscosidade do gel. Assim, objetiva-se determinar *in vitro* a atividade antibacteriana do álcool gel a 70% frente às bactérias hospitalares e da comunidade, por meio das técnicas de gotejamento e do poço.

2- MATERIAL E MÉTODO

A avaliação da atividade antimicrobiana do álcool gel a 70% foi realizada frente às:

- Bactérias hospitalares: 32 *Staphylococcus aureus*, 32 *Escherichia coli*, 35 *Klebsiella* spp. e 30 *Pseudomonas aeruginosa*;
- Bactérias da comunidade: 22 *S. aureus* e 21 *Staphylococcus coagulase-negativo*.

As bactérias isoladas foram semeadas em tubos com meio de cultura *Muller Hinton Agar* – Oxoid, Basingstake, Hampshire, UK (MH) e incubadas a 37°C por 24 horas. Decorrido o período de incubação, suspensões bacterianas em soluções fisiológicas foram feitas a partir dessas culturas jovens, com turvação correspondente a 0,5 da escala 1,0 de McFarland.

A amostra de álcool gel a 70% foi obtida no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP, fabricadas pela Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.

2.1- Técnica de Gotejamento

Alíquotas de 2,0ml dos inóculos bacterianos (0,5 da escala 1,0 de McFarland) foram semeadas por inundação em placas de Petri (20x100mm) com meio de cultura MH, sendo o excesso removido com o auxílio de pipeta automática e absorvido com tiras de papel filtro. A superfície do meio de cultura foi seca após abertura das placas em fluxo laminar (VECO, Campina, SP, BR) por 15 minutos.

O álcool gel a 70% foi gotejado na superfície dos meios de cultura pela técnica de gotejamento. Em cada placa foram gotejadas 5 gotas, cada uma delas a cerca de 2,0cm da borda da placa e no vértice de um pentágono regular.

O gotejamento foi realizado com auxílio de uma seringa de vidro esterilizada (10ml) com agulha (40x12mm) e a incubação a 37°C por 24 horas

A leitura dos resultados da atividade antibacteriana foi considerada positiva quando se pôde observar uma área de inibição de crescimento bacteriano no local que havia sido gotejado o álcool gel.

2.2- Técnica do Poço

De acordo com Grove e Randal (1955), a técnica do poço (*well*) foi realizada em placas de Petri (20x100mm) com camada dupla de meio de cultura MH. A camada base foi de 12,0ml e sobre ela a semeada (*seed*) com 1,0% do inóculo bacteriano

(0,5 da escala 1 de McFarland) de 8,0ml. Em cada placa foram feitos, com auxílio de canudos de refrigerante, 5 poços, cada um deles a cerca de 2,0cm da borda da placa e no vértice de um pentágono regular. A aplicação de uma gota de álcool gel em cada um dos poços foi realizada com auxílio de uma seringa de vidro esterilizada (10ml) com agulha (40x12mm). Após incubação a 37°C por 24 horas a leitura dos resultados da atividade antibacteriana foi considerada positiva, quando se pôde observar um halo de inibição de crescimento bacteriano ao redor do poço com álcool gel.

O projeto deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do referido hospital onde a amostra do produto foi coletada.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a técnica de gotejamento o álcool gel apresentou atividade antibacteriana frente a todas as bactérias hospitalares (32 *Staphylococcus aureus*, 32 *Escherichia coli*, 35 *Klebsiella* spp. e 30 *Pseudomonas aeruginosa*) e da comunidade (22 *S. aureus* e 21 *Staphylococcus coagulase-negativo*). No local que foi gotejado o álcool gel a área de inibição do crescimento bacteriano variou de 0,5 a 1,0cm de raio, dependendo da maneira com que a gota se espalhou na superfície do meio de cultura.

No entanto, com o emprego da técnica do poço não foi evidenciada qualquer atividade antibacteriana.

Com relação às técnicas microbiológicas utilizadas nesse estudo para a avaliação da atividade antimicrobiana do álcool gel, a do gotejamento é considerada adequada, enquanto que a do poço não. Diante desses resultados é possível especular alguns aspectos que talvez justifiquem o mecanismo de ação do álcool frente às técnicas empregadas.

O álcool na formulação gel não consegue se difundir no meio de cultura e inibir as bactérias que estão inseridas nele (técnica do poço), no entanto apresenta essa capacidade quando gotejado diretamente nas bactérias (superfície do meio de cultura semeada com inóculo bacteriano).

Em relação à formulação, a consistência em gel aumenta o tempo de contato do álcool com a superfície e os microrganismos, pois retarda o seu tempo de evaporação, quando comparado com a forma líquida, que apresenta menor tempo de contato, visto que o processo de evaporação acontece de maneira mais rápida. Em experimento preliminar, utilizando as técnicas de gotejamento e do poço, a formulação lí-

quida do álcool a 70% não foi capaz de inibir o crescimento dessas mesmas bactérias estudadas, demonstrando o que foi anteriormente especulado.

É vasta a literatura sobre o uso da solução alcoólica em procedimento de assepsia, especialmente, na higienização das mãos de profissionais da saúde. A seguir estão apontadas algumas evidências científicas relacionadas à higienização das mãos, a saber: o uso da solução alcoólica proporciona a redução na contaminação das mãos, eleva o índice de adesão ao procedimento de higienização, e conseqüentemente parece contribuir na diminuição das taxas de infecção^{10,16,17,18,20/27} dentre outras publicações. Entretanto, ainda há contradições quanto a sua efetividade na presença da matéria orgânica^{4,29,30}.

Os aditivos cosméticos ou emolientes no álcool têm contribuído na aceitabilidade dos profissionais. Contudo alguns estudiosos recomendam a lavagem das mãos com água corrente e sabão depois de 5 fricções consecutivas com álcool-gel. A instrução da lavagem deve-se ao fato do produto se tornar inativo na presença de sujidade e/ou matéria orgânica. Sugere-se a lavagem rigorosa das mãos em casos de extrema contaminação e sujidade visível. Em síntese, a solução alcoólica nas mãos é, particularmente útil em situações emergenciais de descontaminação rápida, excesso de atividade, contato freqüente, elevado número de pacientes, pouco tempo, deficiência de pias, entre outras condições^{18,24,29}.

Por outro lado, embora a fricção com álcool tenha maior aceitabilidade do que a lavagem tradicional das mãos existe algumas recomendações básicas na literatura que não devem ser ignoradas, como: evitar a aplicação de álcoois nas mãos sem emoliente, uma vez que os mesmos acarretam o ressecamento da pele e possíveis lesões^{19,20}.

A ação germicida do álcool é quase imediata, assim preconiza-se o uso em procedimentos rápidos, a exemplo da aplicação de injetáveis com a secagem natural. Na desinfecção de superfícies, precedida ou não da limpeza com água e sabão recomenda-se três aplicações intercaladas de álcool a 70% e, também, secagem natural^{7,9}.

4- CONCLUSÃO

A técnica de gotejamento mostrou ser viável para avaliação da atividade antimicrobiana do álcool gel, especialmente considerando a sua simplicidade, custo/benefício e possibilidade da análise do produto

in natura. Esses achados apontam à necessidade de mais estudos que possam validar novas técnicas microbiológicas para avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de álcool géis.

Assim, antes de utilizar alguma substância ou produto contra microrganismos é necessário avaliar previamente a sua eficácia com técnicas ou métodos microbiológicos adequados.

AGRADECIMENTO

A Rosa Helena Amprino R. Gironi, bióloga responsável pelo laboratório de microbiologia do HCRP-USP e a Maraísa Palhã Verri, farmacêutica e técnica de laboratório junto ao Departamento de Análises Clínicas Toxicológicas e Bromatológicas da FCFRP-USP.

Andrade D, Beraldo CC, Watanabe E, Oliveira BA, Ito IY. *In vitro* antimicrobial activity of gel alcohol 70% against hospital and community bacteria. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2007; 40 (2): 250-4.

ABSTRACT: The use of gel alcohol in hands antiseptics procedures represents a frequent practice in health institutions. Thus, we decided to determine the *in vitro* antibacterial activity of gel alcohol 70% used at Clinical Hospital of Faculty of Medicine of Ribeirão Preto – USP against hospital and community bacteria by means of dripping and well technique. Hospital bacteria were: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, while community bacteria were: *S. aureus* and *Staphylococcus* coagulase-negative. The gel alcohol demonstrated antimicrobial activity by means of the dripping technique against all bacteria studied, but with the well technique no effect was observed. In conclusion, before using any substance or product against microorganisms it is necessary to evaluate previously its effectiveness with adjusted microbiological techniques or methods.

Keywords: Gel Alcohol. Ethanol. Antisepsis. Cross Infection.

REFERÊNCIAS

- 1 - Bloomfield SF, Scott E. Cross contamination and infection in the domestic environment and the role of chemical disinfectants. *J Appl Microbiol* 1997; 83: 1-9.
- 2 - Souza ACS, Pereira MS, Rodrigues MAV. Descontaminação prévia de materiais médico-cirúrgicos: estudo da eficácia de desinfetantes químicos e água e sabão. *Rev Latinoam Enf* 1998; 6: 95-105.
- 3 - Andrade D, Angerami ELS, Padovani CR. A bacteriological study of hospital beds before and after disinfection with phenolic disinfectant. *Rev Panam Salud Pública* 2000; 7(3): 179-84.
- 4 - Mazzola PG. Eficácia dos agentes químicos no programa de limpeza, desinfecção e esterilização. *Laes & Haes* 2000; 22: 100-26.
- 5 - Rutala WA, Weber DJ. Surface disinfection: should we do it? *J Hosp Infect* 2001; 48 (Suppl. A): S64-8.
- 6 - Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis* 2004; 39(8): 1182-9.
- 7 - Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Infecções Hospitalares. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde. 2ª edição. Brasília: Ministério da Saúde; 1994.
- 8 - Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, Portaria nº 2.616 de 12 de maio de 1998.
- 9 - Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar. Limpeza, desinfecção de artigos e áreas hospitalares e anti-sepsia. 2ª ed. São Paulo: APECIH; 2004.
- 10 - Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for environmental infection control in health care facilities. *MMWR* 2003; 52 (RR-10): 1-45.
- 11 - Brasil. Ministério da Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, Portaria nº 196 de 24 de junho de 1983.
- 12 - Brasil. Ministério da Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, Portaria nº 930 de 27 de agosto de 1992.
- 13 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA intensifica controle de infecção em serviços de saúde. *Rev Saúde Pública* 2004; 38(3): 475-8.
- 14 - Ucko DA. Compostos orgânicos oxigenados. In: Ucko DA. Química para as ciências da saúde, uma introdução à química geral, orgânica e biológica. 2ª. ed. São Paulo: Manole; 1992. p.301-10.
- 15 - Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiologia médica*. 21 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.157-58.
- 16 - Andrade D, Santos LS, Oliveira BA, Beraldo CC. Álcoois: a produção do conhecimento com ênfase na sua atividade antimicrobiana. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2002; 35: 7-13.

- 17 - Pittet D. Infection control and quality health care in the new millennium. *Am J Infect Control* 2005; 33 (5): 258-67.
- 18 - Paulson DS, Fendler EJ, Dolan MJ, Williams RA. A close look at alcohol gel as an antimicrobial sanitizing agent. *Am J Infect Control* 1999; 27: 332-8.
- 19 - Boyce JM, Kelliher S, Vallande N. Skin irritation and dryness associated with two hand-hygiene regimens: soap-and-water hand washing versus hand antisepsis with an alcoholic hand gel. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21: 442-8.
- 20 - Winnenfeld M, Richard MA, Drancourt M, Brob JJ. Skin tolerance and effectiveness of two hand decontamination procedures in everyday hospital use. *Br J Dermatol* 2000; 143: 546-50.
- 21 - Rochon-Edouard S, Pons JL, Veber B, Larkin M, Vassal S, Lemeland JF. Comparative in vitro and in vivo study of nine alcohol-based handrubs. *Am J Infect Control* 2004; 32: 200-4.
- 22 - Girou E, Chai SHT, Oppein F, Legrand P, Ducellier D, Cizeau F, Brun-Buisson C. Misuse of gloves: the foundation for poor compliance with hand hygiene and potential for microbial transmission? *J Hosp Infect* 2004; 57: 162-9.
- 23 - Kampf G, Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17(4): 863-93.
- 24 - World Health Organization (WHO), Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, 2005, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr50/en/>.
- 25 - Silvestri L, Petros AJ, Sarginson RE, De La Cal MA, Murray AE, Saene HKF. Handwashing in the intensive care unit: a big measure with modest effects. *J Hosp Infect* 2005; 59: 172-9.
- 26 - Tvedt C, Bukholm G. Alcohol-based hand disinfection: a more robust hand-hygiene method in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2005; 59: 229-34.
- 27 - Kampf G, Ostermeyer C, Heeg P, Paulson D. Evaluation of two methods of determining the efficacies of two alcohol-based hand rubs for surgical hand antisepsis. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(6): 3856-61.
- 28 - Merritt K, Hitchins VM, Brown AS. Safety and cleaning of medical materials and devices. *J Biomed Mater Res* 2000; 53: 131-36.
- 29 - Rotter ML, Koller W, Neumann R. The influence of cosmetic additives on the acceptability of alcohol-based hand disinfectants. *J Hosp Infect* 1991;18 (Suppl B):57-63.
- 30 - Lawrence C. Testing alcohol wipes. *Nurs Times* 1992; 88:63-6.
- 31 - Grove DC, Randall WA. Assay methods of antibiotics: a laboratory manual – antibiotics Monographs, 2. New York: Medical Encyclopedia Inc; 1955.

Recebido em: 09/08/2006

Aprovado em 12/04/2007