



Ação de antissépticos e desinfetantes de uso doméstico sobre *Enterococcus* spp. isolados do arroio Dilúvio, RS, Brasil

Natália Costantin Bandeira¹, Gisele Nachtigall¹, Michele Bertoni Mann¹ e Ana Paula Guedes Frazzon^{1*}

Recebido: 24 de janeiro de 2019 Recebido após revisão: 24 de junho de 2019 Aceito: 15 de setembro de 2019

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/4219>

RESUMO: (Ação de antissépticos e desinfetantes de uso doméstico sobre *Enterococcus* sp. isolados do arroio Dilúvio, RS, Brasil). O córrego arroio Dilúvio, localizado em uma área central de Porto Alegre-RS, recebe diariamente lixo e esgoto doméstico de vários bairros da cidade, que sem o tratamento adequado poderão ser fonte de diferentes micro-organismos, entre eles destacam-se os enterococos. No presente estudo foi testada a atividade de desinfetantes e antissépticos de uso doméstico frente aos micro-organismos isolados dessas águas residuais. Foram testados 15 produtos desinfetantes e seis produtos antissépticos em 28 enterococos isolados do arroio Dilúvio. A atividade dos produtos selecionados foi verificada por meio do método de difusão em disco. Os produtos com atividades desinfetante e antisséptica para os enterococos foram submetidos ao método de concentração inibitória mínima, obtida pela diluição dos produtos em 50% até 1,563%, por 24 e 48 h de exposição. Dos 21 produtos testados, 13 desinfetantes e cinco antissépticos apresentaram atividade contra os enterococos isolados do arroio Dilúvio. Apesar da maioria dos produtos mostraram-se eficientes quando aplicado puro (100%), muitos tiveram a eficiência de sua atividade antimicrobiana reduzida já na primeira diluição do produto, de 50%, e no tempo de exposição de 24 horas. O período de exposição mostrou-se um fator importante no crescimento bacteriano, já que o tempo de permanência de um composto pode influenciar essa capacidade de crescimento das bactérias. O presente estudo demonstrou que os desinfetantes e antissépticos domésticos testados, em sua grande maioria, mostraram-se eficientes no controle de cepas de enterococos susceptível e resistente a antimicrobianos isolados do arroio Dilúvio.

Palavras-chave: Gram-positiva, agentes químicos, controle, resistência, sensibilidade.

ABSTRACT: (Action of household antiseptics and disinfectants against *Enterococcus* sp. isolated from Dilúvio stream, Rio Grande do Sul state, southern Brazil). Located in downtown Porto Alegre, Rio Grande do Sul state, southern Brazil, the Dilúvio stream receives waste and domestic sewage inflow daily from several districts of the city. If not properly treated, such wastewater can be the source of different microorganisms like enterococci. In the present study, the activity of household disinfectants and antiseptics was tested against microorganisms isolated from such wastewater. Fifteen disinfectants and six antiseptic products were tested against 28 enterococci isolated from Dilúvio stream by the disk diffusion method. Products showing anti-enterococci activity were subjected to the minimum inhibitory concentration method, which was obtained by diluting products in 50% to 1.563% for 24 and 48 h of exposure. Of the 21 tested products, 13 disinfectants and five antiseptics showed activity against enterococci isolated from the Dilúvio stream. Although most products proved to be efficient when pure (100%), many had their antimicrobial activity efficiency reduced already in the first dilution (50%) and in the 24-h exposure time. Exposure period revealed to be an important factor for bacterial growth, since the time of permanence of compounds may influence the capacity of bacteria to grow. Our study demonstrated that most tested household disinfectants and antiseptics proved to be efficient in controlling antimicrobial-susceptible and -resistant enterococci strains isolated from the Dilúvio stream.

Keywords: Gram-positive bacteria, chemical agents, control, resistance, susceptibility.

INTRODUÇÃO

O Arroio Dilúvio é um importante córrego localizado na cidade de Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul, apresentando uma extensão de 17.605 m. Esse córrego nasce na represa Lomba do Sabão localizada no Parque Natural Municipal Saint-Hilaire no município em Viamão e deságua no afluente Guaíba, que por sua vez serve de fonte de abastecimento de água à população de Porto Alegre (Faria & Morandi 2002). Arroio Dilúvio recebe água de afluentes dos córregos como os arroios dos Marianos, Beco do Salso, São Vicente, Mato Grosso, Moinho, Cascata e Águas Mortas, além de receber anualmente 50.000 m³ de terra e lixo, e ainda águas pluviais de mais

de 36 bairros, representando uma parcela significativa do sistema de drenagem da cidade (Young 2010). Carrega ainda o esgoto cloacal de três bairros para o rio Guaíba, os quais, se não tratados adequadamente, poderão ser uma fonte de micro-organismos potencialmente patogênicos.

Dentre os micro-organismos já isolados do Arroio Dilúvio, destacam-se bactérias gram-positivas, como os enterococos e estafilococos, e gram-negativas, como a *Escherichia coli* e a *Klebsiella pneumoniae* (Oliveira *et al.* 2012, Nachtigall *et al.* 2013, Basso *et al.* 2014). Os micro-organismos do gênero *Enterococcus* caracterizam-se por apresentarem crescimento numa faixa de temperatura de 10 °C a 45 °C, habilidade de

1. Laboratório de Microbiologia Ambiental e de Alimentos, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Sarmento Leite, n° 500, 2° andar, sala 222 C, CEP: 90.050-170, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

*Autor para contato. E-mail: ana.frazzon@ufrgs.br

crescerem em elevadas concentrações de NaCl (até 6,5%) e hidrolisarem a esculina em presença de 40% de sais biliares (Lebreton, Williams & Gilmore 2014). Esta capacidade de tolerar diferentes condições faz com que este gênero tenha uma ampla distribuição na natureza, podendo compor a microbiota de humanos e animais, e em inúmeros ambientes como solo, água, plantas e em produtos alimentares, servindo como probióticos ou cultura iniciadora (*starter*) (Araújo & Ferreira 2013, Mucinható *et al.* 2015, Riboldi *et al.* 2009, Frazzon *et al.* 2010, Prichula *et al.* 2013, Medeiros *et al.* 2016).

Em humanos e animais, o gênero *Enterococcus* além de compor a microbiota intestinal, é considerado um patógeno oportunista quando coloniza diferentes compartimentos extra-intestinais do corpo, podendo causar desconfortos e problemas de saúde incluindo bacteremia, infecções intra-abdominais e do trato urinário (Devriese, Baele & Butaye 2006, Chotinantakula, Chansiwá & Okadab 2017). Outra característica importante deste gênero é a resistência a uma ampla variedade de antimicrobianos, devido à sua capacidade de adquirir genes de resistência provenientes de outros micro-organismos, como por exemplo, por meio de plasmídeos ou transposons, bem como, a resistência intrínseca (Mundy, Sahn & Gilmore 2000, Perugini *et al.* 2005). Cepas de enterococos resistentes a antibióticos já foram isoladas de diversas fontes (Campos *et al.* 2013, Hörner *et al.* 2005, Riboldi *et al.* 2009), incluindo em Arroio Dilúvio (Nachtigall *et al.* 2013).

O controle do crescimento microbiano é muito importante na prevenção das doenças, podendo ser realizado por diferentes métodos, como o emprego de antibióticos, agentes químicos, como antissépticos e desinfetantes e agentes físicos (Castelanos & Jouclas 1974, McDonnell & Russel 1999, Novato *et al.* 2013). Entretanto, existe uma variação muito grande em termos de sensibilidade entre os micro-organismos e os métodos químicos de controle. Por exemplo, cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de afluentes da rede hospitalar, amostras padrões e diferentes amostras clínicas não apresentaram sensibilidade aos compostos ativos, como, cloreto de benzalcônio, digluconato de clorexidina, fenóis sintéticos, quaternário de amônio e clorohexidina (Rocha *et al.*, 2011, Teixeira *et al.* 2012, Liu *et al.*, 2015, Ignak *et al.*, 2017). Também foi observado que cepas de *Enterococcus faecalis* isoladas de carne de frango não apresentaram sensibilidade ao hipoclorito de sódio nas concentrações de 8,5% e 2,5%, e cepas de enterococos isoladas de amostras clínicas foram insensíveis ao antisséptico clorohexidina (Köljalg *et al.* 2002, Negreiros, 2011). Poucos são os estudos referentes à não sensibilidade de bactérias isoladas de águas residuais aos desinfetantes e antissépticos. Nuñez e Moretton (2007) constataram que a população bacteriana isolada de efluentes de um hospital em Buenos Aires na Argentina apresentava uma elevada resistência à clorohexidina e pouca resistência ao glutaraldeído e ao iodo povidona.

A ausência de dados sobre a atividade de desinfetantes

e antissépticos de uso doméstico frente aos micro-organismos isolados de águas residuais é essencial, especialmente pela importância socioambiental do córrego Arroio Dilúvio e de saúde pública para a população da cidade de Porto Alegre. Sendo assim, neste estudo, foi investigado o efeito de diferentes antissépticos e desinfetantes; de uso doméstico sobre enterococos isolados do Arroio Dilúvio e correlacionado com o perfil de resistência antimicrobiana dos isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos desinfetantes e antissépticos

Desinfetantes e antissépticos foram selecionados conforme seu princípio ativo e a sua disponibilidade em supermercados da região metropolitana de Porto Alegre-RS. Para o presente estudo foram selecionados 15 desinfetantes (A a G) e seis antissépticos (H a M) (Tab. 1). As marcas com o mesmo princípio ativo foram comparadas para avaliar a eficiência dos produtos.

Determinação da presença de micro-organismos nos desinfetantes e antissépticos

Para verificar se nenhuma das soluções utilizadas nos experimentos encontrava-se contaminada, foi realizado um teste das soluções. Aliquotas de 100 µL dos desinfetantes e dos antissépticos foram semeadas por espalhamento em placas de Petri contendo meio ágar Cérebro-Coração (BHIA-Brain Heart Infusion) e incubadas a 37 °C por 24 h.

Seleção dos enterococos isolados do Arroio Dilúvio

Vinte e oito cepas de enterococos isolados de amostras de águas residuais do córrego Arroio Dilúvio entre janeiro e dezembro de 2009, foram selecionadas da Bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Alimentar do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). As diferentes cepas foram selecionadas baseadas no perfil de resistência aos antimicrobianos e ponto de coleta. Todos os isolados haviam sido previamente identificados em espécie através por meio de testes bioquímicos e analisados quanto ao perfil de susceptibilidade (Nachtigall *et al.* 2013) (Tab. 2).

As cepas selecionadas haviam sido isoladas de águas coletadas em cinco diferentes pontos do córrego Arroio Dilúvio; sendo o Ponto 1: nascente do arroio, represa da Lomba do Sabão; Ponto 2: Avenida Ipiranga / Antônio de Carvalho; Ponto 3: Avenida Ipiranga / Rua Guilherme Alves; Ponto 4: Avenida Ipiranga / Rua Ramiro Barcelos; Ponto 5: Avenida Ipiranga / Borges de Medeiros. (Nachtigall *et al.* 2013)

As cepas que se encontravam mantidas a -80 °C em glicerol foram reativadas inoculando-as por método de esgotamento em placas de Petri contendo meio ágar BHIA e incubadas a 37 °C durante 24 h. A pureza das cepas foi verificada pelo método de coloração de Gram.

Tabela 1. Produtos desinfetantes e antissépticos selecionados com seus princípios ativos e valores de mercado.

	Produto	Princípio Ativo	Valor (R\$)
DESINFETANTES	A	Quaternário de amônio 0,46%	9,98
	B	Nonil fenol etoxilado 9,5 mols de óxido de eteno	8,49
	C1	Hipoclorito de Sódio 2,88%	10,98
	C2	Hipoclorito de sódio - teor cloro ativo 2-2,5%	2,90
	C3	Hipoclorito de sódio - teor cloro ativo 2-2,5%	2,39
	C4	Hipoclorito de sódio 8,34%	6,59
	D1	Cloreto de Benzalcônio 0,52%	8,79
	D2	Cloreto de benzalcônio 1,152%	4,45
	E1	Linear alquilbenzeno sulfonato de sódio; amônia	5,59
	E2	Linear alquil benzeno sulfonato de sódio; peróxido de hidrogênio	5,00
	E3	Linear alquil benzeno sulfonato de sódio; lauril éter sulfato de sódio	5,19
	F	Lauramina óxida; lauril éter sulfato de sódio	5,89
	G1	Cloreto de benzil alquil dimetil amônio/ cloreto de didecil dimetilamônio	3,50
G2	0,45% de Cloreto de Benzil Alquil Dimetil Amônio / Cloreto de Didecil Dimetilamônio e 0,35% de Cloreto de Cetil Trimetil Amônio.	3,99	
G3	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio	7,06	
ANTISSEPTICOS	H	Fluorido de sódio (contém 217 ppm de íon de flúor; nitrato de potássio 3%)	18,50
	I	0.053% cloreto de cetilpiridínio monoidratado; cloreto de sódio 226ppm íon de flúor	16,50
	J	Fluoreto de sódio 0.05%; cloreto de cetilpiridínio 0.075%	14,40
	K	Timol; Eucalipto; Salicilato De Metila; Mentol	17,75
	L	Gluconato de Clorhexidina a 0,12%	27,90
	M	Digliconato de clorexidina 1% dissolvido álcool	16,14

Teste da atividade dos desinfetantes e antissépticos frente aos isolados de enterococos

A eficiência dos 21 produtos selecionados foi verificada através do método de difusão em disco para os 28 isolados. O método consistiu na aplicação de 20 µL da solução desinfetante ou antisséptica na sua concentração pura em discos de papel filtro estéreis. Os discos foram dispostos em placas de Petri contendo meio de cultura ágar Müller-Hinton, previamente inoculado com isolado na concentração de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ - UFC/mL) e posteriormente as placas foram incubadas a 37 °C por 24 h.

A determinação da atividade dos desinfetantes e antissépticos foi avaliada pela medição do diâmetro do halo em milímetro (mm), sendo empregado o seguinte parâmetro: (-) não sensível = para diâmetros menores do que 8 mm; (+) pouco sensível = diâmetros entre 9 – 14 mm; (++) sensível = diâmetros entre 15 – 19 mm; e (+++) muito sensível = diâmetros maiores do que 20 mm. Estes parâmetros foram empregados seguindo Negreiros *et al.* 2016.

Determinação das menores diluições dos antissépticos e desinfetantes

Com o objetivo de verificar qual a menor diluição dos desinfetantes e antissépticos que apresentaram atividade frente aos enterococos, foi empregada a técnica da concentração inibitória mínima (CIM). Este ensaio seguiu conforme o realizado por Mazzola *et al.* (2009).

Para os desinfetantes A, C3, C4, E1, E2, E3, F, G2 e G3

e antissépticos I, J, K, L e M os ensaios foram realizados em microplacas de poliestireno de 96 poços com fundo em U. Para o ensaio foram adicionados a todos os poços 95 µL de caldo tripticaseína de soja (TSB-*Tryptic Soy Broth*), a seguir 95 µL do desinfetante ou antisséptico puro (100 %), homogeneizados e a partir desta mistura contendo 50% da diluição do desinfetante ou antisséptico, 95 µL foi retirado e utilizado para as diluições seriadas nas concentrações de 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% e 1,563%.

Após as diluições realizadas, em cada poço foi adicionado 10 µL de suspensão bacteriana ajustada na escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. O controle negativo continha 190 µL do produto puro (100%) sem adição de bactéria e o controle positivo continha 190 µL TSB e 10 µL da suspensão bacteriana.

As diluições para os desinfetantes B e D2 foram determinadas por macrodiluições em tubos. Para este ensaio foram adicionados nos tubos 1 mL de caldo TSB, 100 µL de suspensão bacteriana ajustada na escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e 1 mL do desinfetante puro (100%). A partir desta mistura de 50%, o volume de 1 mL foi retirado e utilizado para as diluições seriadas até a diluição final de 1,563%. Para o desinfetante D2 que diferenciava do D1, apenas na concentração do composto ativo cloreto de benzalcônio, foi avaliado apenas a diluição de 50%, isso porque o desinfetante D1 que apresentava diluição de 50% do princípio ativo (0,52%) era pouco ativo frente as bactérias avaliadas, sendo assim

Tabela 2. Espécies e perfil de sensibilidade aos antibióticos dos enterococos isolados de diferentes pontos do Arroio selecionados para o estudo.

Ponto de Coleta	Espécie	Perfil de resistência ^a	n ^o de isolados
1	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sensível	3
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Sensível	1
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Eri	4
2	<i>Enterococcus mundtii</i>	Sensível	2
	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Eri - Cip - Nor	1
	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri -Cip - Nit	1
3	<i>Enterococcus spp.</i>	Eri	1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sensível	1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Eri - Cip - Nor	1
	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri - Cip - Nit	1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Eri	2
	<i>Enterococcus faecium</i>	Sensível	1
	<i>Enterococcus hirae</i>	Sensível	1
	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri	1
4	<i>Enterococcus hirae</i>	Sensível	1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sensível	1
	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri - Cip - Nor	1
	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri - Cip	1
5	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri	1
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eri - Cip - Nor	1
	<i>Enterococcus hirae</i>	Sensível	1

a. Abreviaturas dos antibióticos: **Eri**, Eritomicina; **Cip**, Ciprofloxacino; **Nor**, Norfloxacino; **Nit**, Nitrofurantoína.

o ensaio foi realizado para verificar se mesmo diluindo o D2, este ainda teria a mesma atividade.

As microplacas e os tubos foram incubados a 37 °C, por 24 h e 48 h. A diluição que apresentava atividade foi determinada pela análise visual pela ausência do crescimento bacteriano.

RESULTADOS

Atividade dos desinfetantes e antissépticos frente as cepas de enterococos isoladas do córrego arroio Dilúvio

A ação dos desinfetantes e antissépticos frente aos 28 isolados de enterococos testados em relação aos pontos de coleta pode ser observada nas figuras 1 e 2, respectivamente. Dentre os 15 desinfetantes utilizados neste estudo, 13 apresentaram atividade para todos os enterococos testados. Os princípios ativos destes desinfetantes eram: quaternário de amônio (A); hipoclorito de sódio (C1, C2, C3 e C4); cloreto de benzalcônio na concentração de 1,152% (D2); sulfonato de alquilbenzeno linear de sódio (E1, E2, E3); lauramina oxidada com lauril éter sulfato de sódio (F) e cloreto de alquil dimetil benzil amônio (G1, G2 e G3) (Fig. 1).

Os desinfetantes com princípios ativos de nonil fenol etoxilado 9,5 mols de óxido de eteno (B) e de cloreto de benzalcônio na concentração de 0,52% (D1) apresentaram pouca atividade frente às cepas testadas, sendo o desinfetante D1 ativo somente contra quatro cepas de

enterococos - *E. casseliflavus* (isolado do ponto 1), *E. mundtii* (isolado do ponto 2), *Enterococcus spp.* (isolado do ponto 3) e *E. faecium* (isolado do ponto 5). Já o desinfetante B foi ativo somente contra cinco cepas de enterococos – três do ponto 3 (um *E. faecalis* e dois *E. faecium*) e duas do ponto 5 (um *E. gallinarum* e um *E. hirae*) (Fig. 1).

Em relação aos seis antissépticos avaliados, cinco apresentaram atividade para todos dos enterococos testados (Fig. 2). Os princípios ativos dos compostos eram cloreto de cetilpiridínio monoidratado e cloreto de sódio (I); fluoreto de sódio e cloreto de cetilpiridínio (J); timol, eucalipto, salicilato de metila e mentol (K); gluconato de clorhexidina (L); e digliconato de clorexidina (M). O antisséptico cujo composto ativo era fluorido de sódio (H) não apresentou atividade para os isolados testados (Fig. 2).

Não houve uma associação entre o perfil sensibilidade aos desinfetantes e/ou antissépticos dos isolados com o ponto de isolamento do córrego arroio Dilúvio e com o perfil de resistência/susceptibilidade aos antibióticos dos isolados testados.

Menores diluições dos antissépticos e desinfetantes com atividade aos enterococos isolados do córrego Arroio Dilúvio

Os valores encontrados para as menores diluições com atividade para os 28 isolados quando expostos aos desinfetantes e antissépticos nos tempos 24 e 48 horas

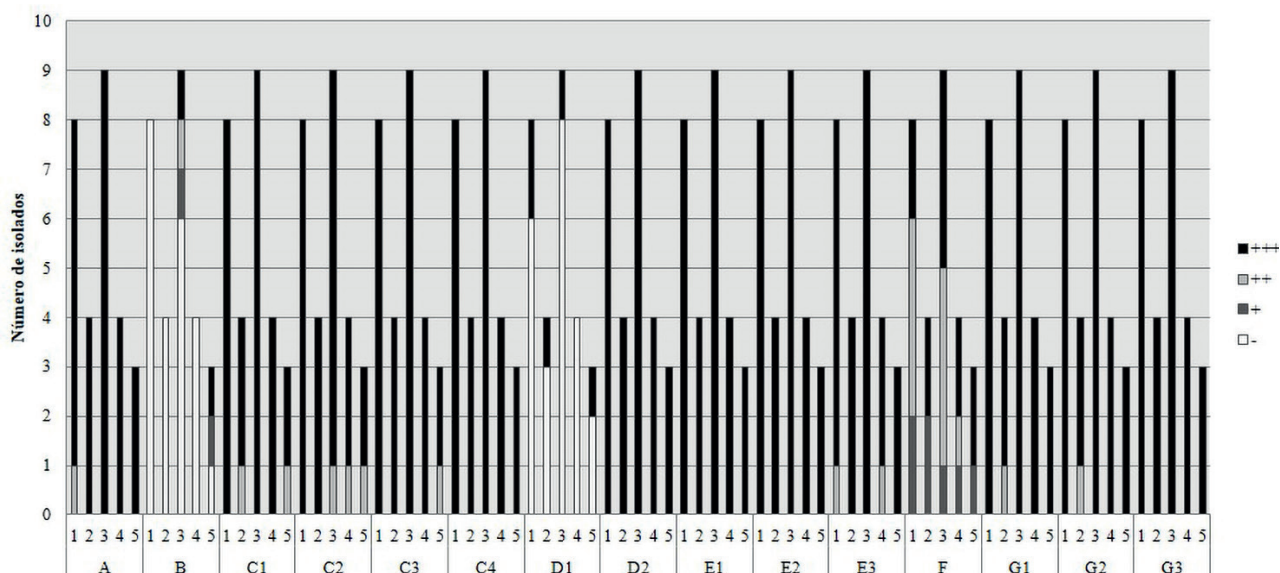


Figura 1. Perfil de sensibilidade dos enterococos isolados de diferentes pontos do Arroio Dilúvio frente aos desinfetantes testados (A, B, C1, C2, C3, C4, D1, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3) pelo método de difusão em disco. Padrão empregado para a classificação do perfil de sensibilidade: (-) não sensível = para diâmetros menores do que 8 mm; (+) pouco sensível = diâmetros entre 9 – 14 mm; (++) sensível = diâmetros entre 15 – 19 mm; e (+++) muito sensível = diâmetros maiores do que 20 mm. Os números de 1-5 definem os pontos de coleta.

variaram de 50% a 1,563% e encontram-se nas figuras 3 e 4, respectivamente.

Em 24 e 48 horas o desinfetante A (quaternário de amônio) mostrou-se ativo para a maioria das cepas testadas na menor diluição (1,563%). Já os desinfetantes que apresentavam os compostos ativos de hipoclorito de sódio (C3 e C4); linear de sódio (E1, E2 e E3) e cloreto de alquil dimetil benzil amônio (G1, G2 e G3) variaram suas atividades nas diluições entre 50% a 1,563% para as 28 cepas de enterococos. A maioria dos desinfetantes, com exceção dos desinfetantes E2 e G2, apresentou

maior atividade na diluição de 50%, em 24 e 48 horas de exposição.

Os desinfetantes E2 e G2 que apesar de apresentarem a mesmo composto ativo dos outros desinfetantes dos seus grupos eram de marcas diferentes. Em relação ao desinfetante E2, em 24 horas de exposição, 25 cepas (89,29%) apresentaram sensibilidade a menor diluição testada de 1,563% e três (10,71%) para a diluição de 6,25%. Entretanto, após 48 horas de exposição, as diluições de 50%, 25%, 6,25%, 3,125% e 1,563%, apresentaram atividade para 12 (42,86%), três (10,71%), três (10,71%),

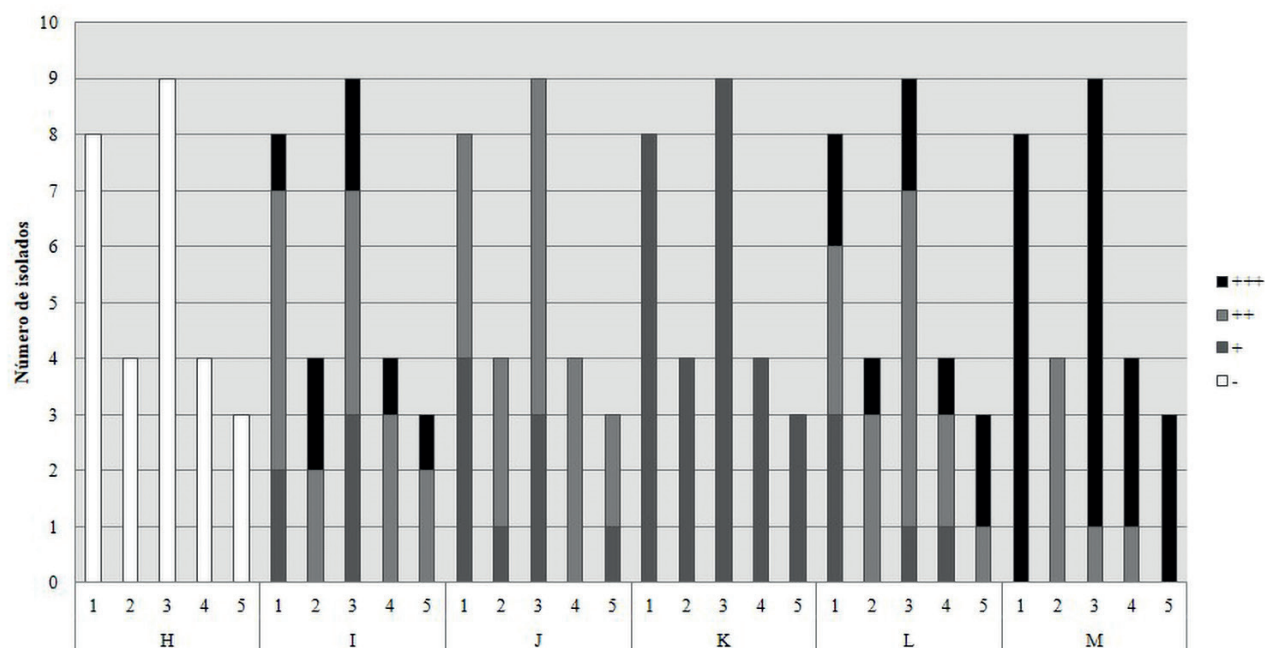


Figura 2. Perfil de Perfil de sensibilidade dos enterococos isolados de diferentes pontos do Arroio Dilúvio frente aos antissépticos testados (H, I, J, K, L e M) pelo método de difusão em disco. Padrão empregado para a classificação do perfil de sensibilidade: (-) não sensível = para diâmetros menores do que 8 mm; (+) sensível = diâmetros entre 9 – 14 mm; (++) muito sensível = diâmetros entre 15 – 19 mm; e (+++) extremamente sensível = diâmetros maiores do que 20 mm. Os números de 1-5 definem os pontos de coleta.

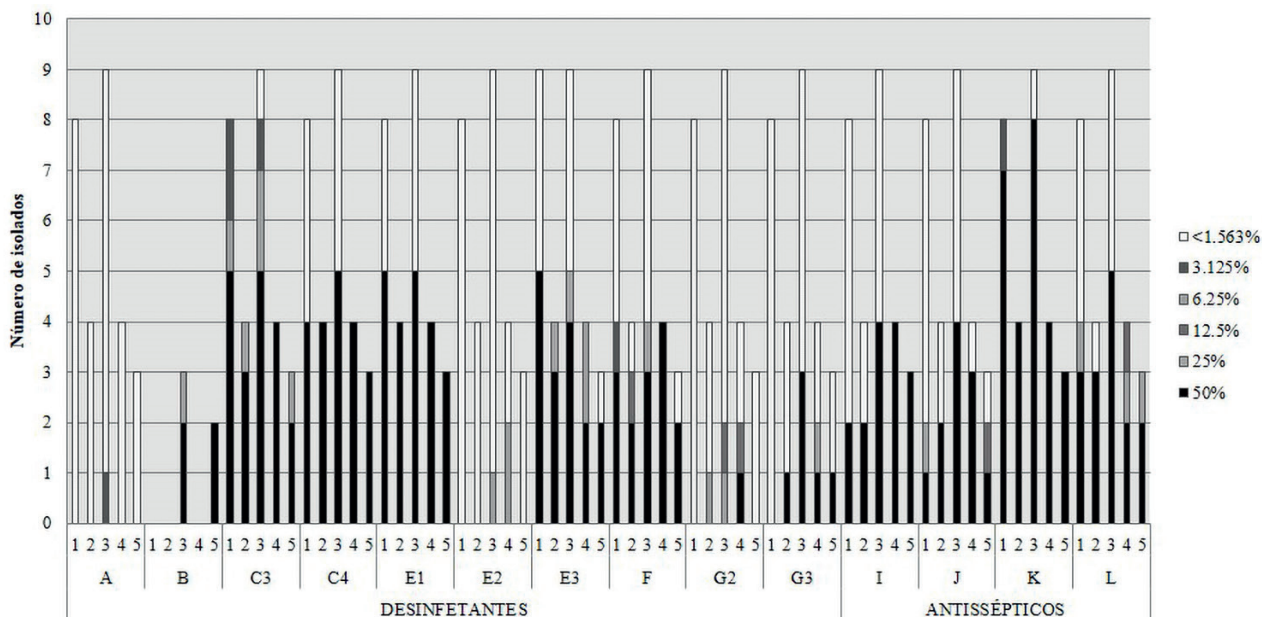


Figura 3. Valores das diluições dos desinfetantes (A, B, C3, C4, E1, E2, E3, F, G2 e G3) e antissépticos (I, J, K e L), frente às cepas de enterococos isoladas de diferentes pontos do Arroio Dilúvio por 24 h de exposição. Os números de 1-5 definem os pontos de coleta.

um (3,57%) e nove cepas (32,14%) respectivamente. O desinfetante G2 (cloreto de alquil dimetil benzil amônio) inibiu o crescimento de 23 cepas (82,14%) na menor diluição testada de 1,563%, em 24 horas de exposição, entretanto em 48 horas esta mesma diluição manteve ativa para 12 cepas (42,85%).

O ensaio de diluição para o desinfetante B (nonil fenol etoxilado 9,5 mols de óxido de eteno) foi realizado somente para as cinco cepas que apresentavam sensibilidade a este desinfetante no ensaio anterior, e em 24 horas de exposição, o desinfetante apresentou atividade contra quatro cepas na diluição de 50% e uma cepa na

diluição de 25%. Entretanto, em 48 horas de exposição, o desinfetante apresentou atividade na diluição de 50% para todas as cepas. Diferente do que observado para o desinfetante D1, o desinfetante D2 (cloreto de benzalcônio na concentração de 1,152%) em 24 horas foi eficiente para eliminar 26 das cepas de enterococos testadas na diluição de 50% (equivalente a 0,52% do princípio ativo) e manteve esta atividade em 48 horas de exposição.

O desinfetante F (lauramina oxidada com lauril éter sulfato de sódio), também apresentou variações de atividade nas diferentes diluições, em 24 horas de exposição, 14 cepas (50%) apresentaram sensibilidade a diluição de

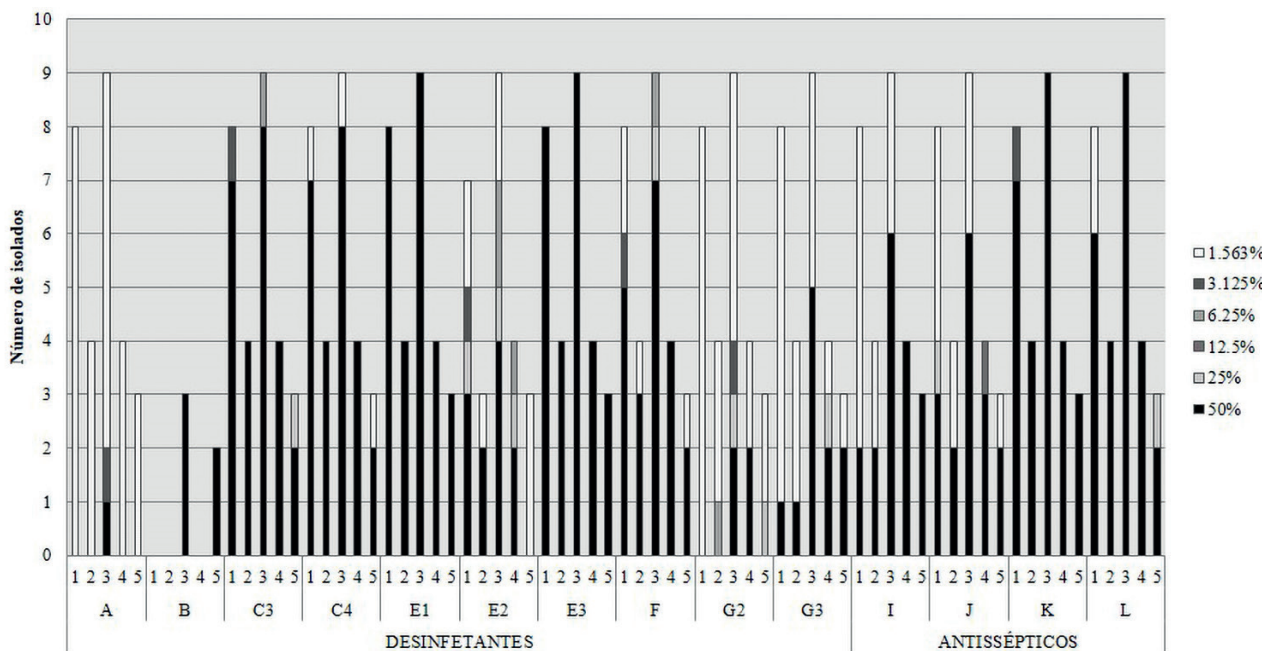


Figura 4. Valores das diluições dos desinfetantes (A, B, C3, C4, E1, E2, E3, F, G2 e G3) e antissépticos (I, J, K e L), frente às cepas de enterococos isoladas de diferentes pontos do Arroio Dilúvio por 48 h de exposição. Os números de 1-5 definem os pontos de coleta.

50%, 11 cepas (39,29%) na menor diluição testada de 1,563% e três cepas para as diluições de 25%, 12,5%, e 3,125%, respectivamente. Em 48 horas de exposição, apesar de se observar alteração na capacidade de inibir o crescimento microbiano, este desinfetante manteve ainda sua capacidade de inibir o crescimento de um elevado número de cepas na menor concentração testada de 1,563%.

Em relação aos antissépticos testados, podemos observar que houve variações nas atividades frente às diluições avaliadas e tempo de exposição. Os antissépticos I (cloreto de cetilpiridínio monoidratado e cloreto de sódio), J (fluoreto de sódio e cloreto de cetilpiridínio); K (timol, eucalipto, salicilato de metila e mentol) e L (gluconato de clorhexidina) em 24 horas de exposição, como exceção do K, apresentaram maior atividade nas diluições de 50% e 1,563%. Entretanto, em 48 horas de exposição, apenas a diluição de 50 % foi capaz de inibir o crescimento das cepas de enterococos. Em relação ao antisséptico K, em 24 horas de exposição, 26 cepas (92,86%) apresentaram inibição de crescimento na diluição de 50%, uma (3,57%) na diluição de 3,125% e uma (3,57%) na diluição de 1,563%.

Não foi possível determinar a menor diluição com atividade do antisséptico M (digliconato de clorexidina) em 24 e 48 horas de exposição, pois o produto testado quando em contato com o caldo TSB, formava um precipitado que inviabilizava a observação do crescimento bacteriano.

Como observado, além da composição diferente dos produtos e as características das diferentes espécies, o tempo de exposição também é um fator importante para inibir o crescimento bacteriano, pois o efeito residual de um certo composto que ficará mais tempo no ambiente pode fazer com que aumente ou diminua essa capacidade de crescimento das bactérias (Tortora *et al.* 2016).

DISCUSSÃO

Acredita-se que todos os isolados foram sensíveis ao desinfetante A porque esta substância possui como composto ativo, o quaternário de amônio. Este composto possui um mecanismo de ação que age aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática dos micro-organismos, permitindo a hidratação das células e seu colapso com perda de nitrogênio e potássio e também ocorre a inativação do sistema enzimático bacteriano (Pinto 2006), o que o torna um desinfetante com grande atividade antimicrobiana. A atividade deste composto já foi testada para bactérias gram-negativas e gram-positivas e se mostrou eficiente em outros estudos (Jung, Wen & Sun 2017).

O desinfetante B apresentou isolados que foram tolerantes ao composto ativo, nonil fenol etoxilado 9.5 mols de óxido de eteno, um surfactante tensoativo não-iônico, ou seja, é um detergente que modifica a tensão superficial do líquido no qual está dissolvido e desta forma facilita a interação com outras substâncias (Santos *et al.* 2018). A tolerância a este composto pode estar associada a

concentração deste surfactante o qual não foi suficiente para inibir a atividade bacteriana sendo, portanto, um desinfetante de baixa efetividade. Não foram encontrados dados do uso deste composto para inviabilizar o crescimento bacteriano em outros estudos.

Os desinfetantes C (C1, C2, C3 e C4), que possuem como composto ativo o hipoclorito de sódio, tiveram todos os isolados testados sensíveis a ele. Este, na presença de micro-organismos permite que ocorram diversas reações que conduzem ao efeito antimicrobiano, como, reação de saponificação, neutralização de aminoácidos e reação de cloramina (Valadas 2015) e dessa forma é considerado um desinfetante com grande atividade antimicrobiana. Este composto já havia demonstrado sua eficiência em outros estudos (Sassone *et al.* 2008, Gomes *et al.* 2010, Ibrahim & Abdullah 2008).

Os desinfetantes D (D1 e D2), E1 e G (G1, G2 e G3) que possuem, respectivamente, como composto ativo cloreto de benzalcônio, cloreto de alquil dimetil benzil amônio/cloreto de alquil dimetil benzil amônio, linear alquilbenzeno sulfonato de sódio e amônio, são considerados compostos de quaternário de amônio (Carvalho *et al.* 2017). No entanto, o produto desinfetante D1 apresentou cepas não sensíveis ao seu composto ativo. Isto pode ter acontecido devido a concentração menor do composto ativo neste produto comparado ao desinfetante D2 e também por ser da primeira geração de quaternário de amônio, pois quanto maior a geração do quaternário melhor é a sua ação antimicrobiana. O composto de cloreto de benzalcônio havia sido eficiente em outro estudo utilizando *Escherichia coli* (Carvalho *et al.* 2017). Ainda, estes compostos já haviam demonstrado eficiência para outras bactérias, como *Pseudomonas fluorescens*, *E. faecalis* *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus hirae* (Sousa-Silva *et al.* 2018, Pablos *et al.* 2018, Ríos-Castillo *et al.* 2018).

Os produtos E1, E2 e E3 tem em comum na sua composição o composto ativo sulfonato de alquilbenzeno linear, o qual é um tensoativo aniônico que contém uma porção hidrofóbica (apolar) e uma porção hidrofílica (polar) sendo, portanto, uma substância surfactante, ou seja, promove a limpeza das superfícies através da interação tanto com a gordura quanto com a água (Mendes 2016). O que difere estes produtos é o outro composto ativo presente na formulação, sendo amônia para o composto E1 (já referido), peróxido de hidrogênio para o composto E2 e lauril éter sulfato de sódio para o composto E3. O peróxido de hidrogênio age atingindo a membrana lipídica, o DNA e outros componentes das células devido os radicais livres que ele produz (Mattos *et al.* 2002); a enzima catalase decompõem este composto em água e oxigênio e, portanto, retira a toxicidade do composto. No entanto, as bactérias catalase negativas (como os enterococos) não possuem essa enzima, sendo então atacadas pelos radicais livres produzidos e levadas a morte. Desta forma, todos os isolados foram sensíveis ao desinfetante E2 tornando-o de grande atividade antimicrobiana. Este composto já havia demonstrado o

seu potencial antimicrobiano frente a micr-organismos presentes em amostras de águas em outro estudo (Peres *et al.* 2008). Sabe-se também que o lauril éter sulfato de sódio é um tensoativo aniônico usado em detergentes sintéticos e no preparo de sabonetes líquidos; muitos surfactantes tornam-se tóxicos aos micro-organismos ligando-se a enzimas, proteínas estruturais e fosfolipídios ou até alterando a hidrofobicidade da célula bacteriana ao apresentar uma concentração acima do valor mínimo de tensão superficial (Paulo *et al.* 2017). Assim, foi possível que o desinfetante E3 apresentasse uma alta atividade antimicrobiana. Estudos sobre este composto atuando como desinfetante e sua atividade contra bactérias não foram encontrados na literatura.

Outro desinfetante que apresenta em sua composição o lauril éter sulfato de sódio é o produto F, todavia também apresenta em sua formulação o composto ativo de lauramina óxida. Este é um tensoativo principal ou secundário que melhora a ação de detergência quando em sinergia com outros tensoativos (Aromox 2018). Acredita-se que a efetiva atividade antimicrobiana do desinfetante F ocorreu conforme já referido para os surfactantes.

No presente estudo todos os isolados foram não sensíveis ao antisséptico H. Isso pode ter ocorrido devido ao composto ativo de fluorido de sódio (contém 217 ppm de íon de flúor; nitrato de potássio 3%). Uma das hipóteses é que apesar das enzimas glicolíticas serem inibidas pelo íon de flúor, o qual entra no interior das bactérias e dissocia-se causando a inibição da enolase (Zanin *et al.* 2007) por se tratar de um enxaguatório bucal sua ação só é ativa quando em contato com o aparelho bucal, pois o nitrato de potássio a 3% é utilizado para proporcionar alívio da sensibilidade dentária não tendo ação antimicrobiana e o flúor utilizado para fortalecer a superfície dentária. Assim, o composto ativo em contato com meio de cultura não foi suficiente para se tornar eficiente a ponto de matar as bactérias.

Por outro lado, os antissépticos I e J também apesar de apresentarem íon de flúor em sua composição apresentam um outro composto, o cloreto de cetilpiridínio, o qual é considerado um composto de quaternário de amônio (Torres *et al.* 2000), desta forma essa combinação de compostos foi o que possibilitou o composto ativo conseguir atingir a eficiência a ponto de matar as bactérias. Alguns estudos já haviam demonstrado a efetividade da atividade antimicrobiana destes compostos, mas frente a bactérias da boca (Bowden 1990, Moran *et al.* 2000, Van Loveren 2001, Alves *et al.* 2012, Lussi, Hellwig & Klimek 2012).

Os isolados foram sensíveis ao antisséptico K que apresenta como composto ativo timol; eucalipto; salicilato de metila; mentol. Estas substâncias são classificadas como compostos fenólicos e possuem alta capacidade de interação com determinados componentes da placa bacteriana. Os mecanismos de ação destes óleos baseiam-se no poder de alterar a rigidez da parede celular da bactéria (Araújo *et al.* 2015). Portanto, o antisséptico K pode ser considerado efetivo como antimicrobiano. A efetividade

da atividade antimicrobiana destas substâncias já havia sido demonstrada em estudos com outras bactérias, como para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans* e *E. faecalis* (Erriu *et al.* 2013, Vlachojannis 2015).

Para os antissépticos L e M, todos os isolados apresentaram sensibilidade aos seus compostos ativos. Estes são gluconato de clorhexidina; e digliconato de clorexidina 1% dissolvido álcool, respectivamente. O mecanismo de ação é iniciado a partir da ligação da clorexidina à parede celular bacteriana possibilitando assim a adsorção das cargas positivas desta molécula às cargas negativas das superfícies bacterianas, tornando-a mais permeável e permitindo a entrada do composto ao meio citoplasmático, causando a lise da membrana celular com liberação das estruturas celulares do micro-organismo (Zanatta & Rösing 2007), o que o torna um antisséptico com grande atividade antimicrobiana. Este composto ativo também apresentou efetiva atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase positiva* isoladas das glândulas mamárias de vacas com mastite subclínica; culturas-padrões de *S. mutans* (ATCC 25175), *E. faecalis* (ATCC 19433), *S. aureus* (ATCC 6538), *Candida albicans* (ATCC 10231), e enterococos resistentes a vancomicina (Pedrini & Margatho 2003, Bugno *et al.* 2006, Deshpande *et al.* 2018).

Os testes das diluições foram feitos para avaliar até que diluições os desinfetantes e os antissépticos poderiam continuar apresentando atividade antimicrobiana. Testes de CIM utilizando desinfetantes já foram realizados para outras bactérias, como *Enterobacteriaceae Staphylococcus spp*, *Bacillus spp*, e *E. coli* (Nuñez & Moretton 2007, Jung, Wen & Sun 2017), no entanto não foram encontrados dados de CIM utilizando antissépticos para outras bactérias.

Os resultados deste trabalho demonstraram que os desinfetantes e antissépticos testados neste estudo e comercializados no Rio Grande do Sul, em sua grande maioria mostraram-se eficientes quanto à atividade antimicrobiana dos compostos ativos presentes nas suas formulações na sua forma concentrada para bactérias ambientais, isoladas dos diferentes pontos do córrego Arroio Dilúvio. No entanto, muitos dos desinfetantes e antissépticos tiveram a eficiência de sua atividade antimicrobiana reduzida já na primeira diluição de 50% e no tempo de exposição de 24 horas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, D., COSTA, A. L., ALMEIDA, R. F., CARVALHO, J. F. C. & FELINO, A. 2012. Cloreto de cetilpiridínio - revisão da literatura. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 53(3): 181-189.
- ARAÚJO, D. B. de, GONÇALVES, E. M. B., MARTINS, G. B., LIMA, M. J. P. & ARAÚJO, M. T. B. 2015. Saúde bucal: a importância dos enxaguatórios com antissépticos. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.*, 14(1): 88-93.
- ARAÚJO, T.F. & FERREIRA, L.L.F. 2013. The Genus *Enterococcus* As Probiotic: Safety Concerns. *Brazilian Archives of Biology And Technology*, 56(3): 457-466.

- AROMOX. Melhorias na espumação e solubilização de fragrância. Disponível em: <http://www.macler.com.br/arquivo/materiais/80_ aromox_mcdw_e_ aromox_14dw970_-_ ficha_tecnica.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2018.
- BASSO, A. P., MARTINS, P. D., NACHTIGALL, G., VAN DER SAND, S. T., MOURA, T. M. de & FRAZZON, A. P. G. 2014. Antibiotic resistance and enterotoxin genes in *Staphylococcus* sp. isolates from polluted water in Southern Brazil. *An Acad Bras Cienc.*
- BOWDEN, G. H. W. 1990. Effects of Fluoride on the Microbial Ecology of Dental Plaque. *Journal of Dental Research*, 69(2): 653-659.
- BUGNO, A., NICOLETTI, M. A., ALMODÓVAR, A. A. B., PEREIRA, T. C. & AURICCHIO, M. T. 2006. Enxagatórios bucais: avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos comercialmente disponíveis. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 65(1): 40-45.
- CAMPOS, A. C. F. B. de, SOUZA, N. R., SILVA, P. H. C. & SANTANA, A. P. 2013. Resistência antimicrobiana em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* isolados de carcaças de frango. *Pesq. Vet. Bras.* 33(5):575-580.
- CARVALHO, D., MORAES, L. B. de, ROCHA, S. L. da S., MORAES, H. L. de S., SALLE, C. T. P. & AVANCINI, C. A. M. 2017. Atividade dos desinfetantes cloreto de benzalcônio e iodóforo sobre cepas de *Escherichia coli* patogênica aviária isoladas em frangos de corte. *Rev. bras. saúde prod. anim.*, 18(1): 10-15.
- CASTELANOS, B. P. & JOUCLAS, V. M. G. 1974. Estudo da utilização das soluções desinfetantes em centro cirúrgico - comparação da sua utilização em alguns hospitais do distrito de São Paulo. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 27(4), 416-454.
- CHOTINANTAKULA, K., CHANSIWA, N. & OKADAB, S.. 2017. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from Thai fermented pork in Chiang Rai Province, Thailand. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12: 143-148.
- DESHPANDE, A., FOX, J., WONG, K. K., CADNUM, J. L., SANKAR, T., JENSON, A., SCHRAMM, S., FRASER, T. G., DONSKEY, C. J. & GORDON, S. 2018. Comparative Antimicrobial Efficacy of Two Hand Sanitizers in Intensive Care Units Common Areas: A Randomized, Controlled Trial. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 39(03), 267-271.
- DEVRIESE, L., BAELE, M. & BUTAYE, P. The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K.-H.; STACKEBRANDT, E. (Ed.). 2006. The Prokaryotes (Vol-4) Handbook on the Biology of Bacteria. Minneapolis: Springer. 163-174.
- ERRIU, M., PILLI, F. M. G., TUVERI, E., PIGLIACAMPO, D., SCANO, A., MONTALDO, C., PIRAS, V., DENOTTI, G., PILLONI, A., GARAU, V. & ORRÙ, G. 2013. Oil Essential Mouthwashes Antibacterial Activity against Aggregatibacter actinomycetemcomitans: A Comparison between Antibiofilm and Antiplanktonic Effects. *International Journal of Dentistry*, 2013: 1-5.
- FARIA, C.M. & MORANDI, I.C. 2002. A Dificil Recuperação de Arroios em Áreas Urbanas. *Pesquisa Ecosistema Revista*, 3: 38-52.
- FRAZZON, A. P. G., GAMA, B. A., HERMES, V., BIERHALS, C. G., PEREIRA, R. I., GUEDES, A. G., D'AZEVEDO, P. A. & FRAZZON, J. 2010. Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of tetracycline resistance mediated by tet(M) and tet(L) genes in *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2): 365-370.
- GOMES, C.C., CAMÕES, I.C.G., FREITAS, L.F., PINTO, S. de S., SARAIVA, S.M. & SAMBATI, S. 2010. Avaliação do hipoclorito de sódio e da clorexidina na desinfecção de cones de guta-percha. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*, 22(2): 94-103.
- HÖRNER, R., LISCANO, M. G. H., MARASCHIN, M. de M., SALLA, A., MENEGHETTI, B., DAL FORNO, N. L. F., & RIGHI, R. A.. 2005. Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital Universitário de Santa Maria. *Jor. Bras. de Pat. e Med. Lab.*, 41(6): 391-395.
- IBRAHIM, N.Z.; ABDULLAH, M. 2008. Antimicrobial evaluation of sodium hypochlorite and ozonated water on *E. faecalis* biofilm. *Annal Dent Univ Malaya*, 15(1): 20-26.
- IGNAK, S., NAKIPOGLU, Y. & GURLER, B. 2017. Frequency of anti-septic resistance genes in clinical staphylococci and enterococci isolates in Turkey. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6:88.
- JUNG, J., WEN, J. & SUN Y. 2017. Amphiphilic quaternary ammonium chitosans self-assemble onto bacterial and fungal biofilms and kill adherent microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 174: 1-8
- LEBRETON, F., WILLEMS, R.J. L. & GILMORE, M.S.. 2014. *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, *et al.*, editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary.
- LIU, Q., ZHAO, H., HAN, L., SHU, W., WU Q. & NI, Y. 2015. Frequency of biocide-resistant genes and susceptibility to chlorhexidine in high-level mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MuH MRSA). *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, 82(4): 278-283.
- KÖLJALG, S. K., NAABER, P. & MIKELSAAR, M. 2002. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *Journal of Hospital Infection*. Estonia, 106-113.
- LUSSI, A., HELWIG, E. & KLIMEK, J. 2012. Fluorides – Mode of Action and Recommendations for Use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 122: 1030-1036.
- MATTOS, I. L. de, SHIRAIISHI, K. A., BRAZ, A. D. & FERNANDES, J. R. 2002. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. *Quim. Nova*, 26(3): 373-380.
- MAZZOLA, P. G., JOZALA, A. F., NOVAES, L. C. de L., MORIEL, P., & PENNA, T. C. V. 2009. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(2), 241-248.
- McDONNELL, G. & RUSSEL, A. D. 1999. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12(1): 147-179.
- MEDEIROS, A. W., BLAESE AMORIM, D., TAVARES, M., DE MOURA, T. M., FRANCO, A. C., D'AZEVEDO, P. A., FRAZZON, J. & Frazzon, A. P. G. 2016. *Enterococcus* species diversity in fecal samples of wild marine species as determined by real-time PCR. *Canadian Journal of Microbiology*, 63(2): 129-136.
- MENDES, J. C. 2016. *Viabilidade técnica do uso de Linear Alquil Benzeno Sulfonato de Sódio como aditivo incorporador de ar para matrizes cimentícias*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Pós-Graduação em Engenharia Civil da Escola de Minas. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2016.
- MORAN, J., ADDY, M., JACKSON, R. & NEWCOMBE, R. G. 2000. Comparative effects of quaternary ammonium mouthrinses on 4-day plaque regrowth. *Journal of Clinical Periodontology*, 27(1), 37-40.
- MUCINHATO, R.M.D., TORMEN, S.H., TERRA, M.R., FURLANETO, M.C. & MAIA, L. F. 2015. *Enterococcus* spp. Isolados de Alimentos Vegetais: Análise da Resistência a Antimicrobianos. In: V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA, 5, 2015, Londrina. Simpósio. Londrina.
- MUNDY, L.M., SAHM, D.F. & GILMORE, M.. 2000. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 13: 513-22.
- NACHTIGALL, G., JESUS, A.G. de; ZVOBODA, D. de A., SANTESTEVAN, N.A., MINOTTO, E., MOURA, T.M. de, AZEVEDO, P. de, FRAZZON, J., SAND, S.V.D. & FRAZZON, A.P.G. 2013. Diversidade e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados das águas do Arroio Dilúvio - Porto Alegre, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 11(2): 235-241.
- NEGREIROS, M. de O. 2011. Estudo *in vitro* da ação de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre *enterococcus faecalis*. 2011. 10 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

- NEGREIROS, M. de O., PAWLOWSKI, Â., SOARES, G.L.G., MOTTA, A. de S. & FRAZZON, A.P.G. 2016. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from *Heterothalamus Less.* (Asteraceae) against clinically relevant bacterial and fungal species. *Revista Brasileira de Biociências*, 14(1): 26-31.
- NOVATO, D. A. M. B., SILVA, G. P. D., FERRASSOLI, K. P., SIQUEIRA, L. P., MURONI, P. M., R. PELAIS, P. F., BRUNO, T. F. & ALMEIDA, C. B. de. 2013. Eficácia dos desinfetantes quanto ao controle microbiológico. *Revista Científica Unilago*, 1(1): 309-316.
- NUÑEZ, L. & MORETTON, J. 2007. Disinfectant-resistant bacteria in Buenos Aires city hospital wastewater. *Braz. J. Microbiol.*, 38: 644-648.
- OLIVEIRA, D. V., SILVA, T. C. da, ZANIN, J. G., NACHTIGALL, G., MEDEIROS, A. W., FRAZZON, A. P. G., & VAN DER SAND, S. T. 2012. Qualidade da água e identificação de bactérias gram-negativas isoladas do arroio dilúvio, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Evidência*, 12(1): 51-62.
- PABLOS, C., ROMERO, A., DIEGO, A. de, VARGAS, C., BASCÓN, I. PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. & MARUGÁNA, J. 2018. Novel antimicrobial agents as alternative to chlorine with potential applications in the fruit and vegetable processing industry. *International Journal of Food Microbiology*, 285: 92-97.
- PAULO, A. M. S., AYDIN, R., DIMITROV, M. R. D., VREELING, H., CAVALEIRO, A. J., GARCÍA-ENCINA, P., STAMS, A. J. M. & PLUGGE, C. M. 2017. Sodium lauryl ether sulfate (SLES) degradation by nitrate-reducing bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*, 101(12): 5163–5173.
- PEDRINI, S. C. B. & MARGATHO, L. F. F. 2003. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. *Arq. Inst. Biol.*, 70(4): 391-395.
- PERES, F. A., TEIXEIRA, L. A. C., CAMPOS, L. Y., CAMPOS, J. C. & MIGUEL, M. A. L. 2008. Tratamento de águas de refrigeração com peróxido de hidrogênio. *Quim. Nova*, 31(7): 1851-1855.
- PERUGINI, M.R.E., SUGAHARA, V.H., DIAS, J.B., MAGALHÃES, G.L.G., PELISSON, M., MARRONI, F.E.C., YAMADA-OGATTA, S.F., YAMAUCHI, L.M., VESPERO, E.C., OBARA, V.Y., GARBIN, R.P.B. & RIBEIRO, M.A.G. 2005. *Enterococcus spp.* resistentes à vancomicina: características clínicas e fatores de risco. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 36(1): 291-300.
- PINTO, M. P. 2006. Avaliação da eficácia de dois protocolos de higienização em áreas de produção de alimentos de um supermercado. Dissertação (Mestrado em Microbiologia dos Alimentos) – Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- PRICHULA, J., ANGELIS ZVOBODA, D. de, PEREIRA, R. I., SANTESTEVAN, N. A., MEDEIROS, A. W. M., MOTTA, A. de S., ALVESD'AZEVEDO, P., GIORDANI, A. R. & FRAZZON, A. P. G. 2013. Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e diversidade das espécies de enterococos isolados de leite cru de búfalas no Sul do Brasil. *R. bras. Ci. Vet.*, 20(2): 104-109.
- RIBOLDI, G. P., FRAZZON, J., D'AZEVEDO, P. A., & FRAZZON, A. P. G. 2009. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus spp.* isolated from food in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(1), 125-128.
- RÍOS-CASTILLO, A. G., UMAÑA, F. F., & RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J. 2018. Long-term antibacterial efficacy of disinfectants based on benzalkonium chloride and sodium hypochlorite tested on surfaces against resistant gram-positive bacteria. *Food Control*, 93: 219–225.
- ROCHA, J.A., SOUSA FILHO, L.M. de, SARAIVA, L. de S., ROCHA, J.R., SOUSA, N.D.C. de, GUIMARÃES, I.F. & LIMA, F.L. de. 2011. Susceptibilidade a desinfetantes de amostras de *Staphylococcus sp* isoladas de afluentes da rede hospitalar na cidade de Teresina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2011, Foz do Iguaçu. Bolsa. Teresina. p. 1-15.
- SANTOS, J. P., ROSA, F., BARRIOS, S. B., VIEIRA, L. H., PORTO, P. H. I., ENGELS, S. & ARMELIN, N. A. Tensoativos livres de alquilfenóis etoxilados para polimerização em emulsão. Disponível em: <http://www.abrafati2017.com.br/2013/Dados/PDF/Paper_053.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2018.
- SASSONE, L.M.; FIDEL, R.A.S.; MURAD, C.F.; FIDEL, S.R.; HIRATA JR., R. 2008. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. *Aust. Endod. J.*, 34: 19–24.
- SOUSA-SILVA, M., SIMÕES, M. MELO, L. & MACHADO, I. 2018. *Pseudomonas fluorescens* tolerance to benzyldimethyldodecyl ammonium chloride: Altered phenotype and cross-resistance. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15: 188-195.
- TEIXEIRA, K.S.S., DAHER, G. de L. & OLIVEIRA, Á.S.A. E. de. 2012. Avaliação da ação antimicrobiana de desinfetantes utilizados em uma indústria químico-farmacêutica. *Revista Científica Faece Saúde*, 1: 21-28.
- TORRES, C. R. G., KUBO, C. H., ANIDO, A. A. & RODRIGUES, J. R. 2000. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. *Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos*, 3(2): 43-52.
- TORTORA, G.J., FUNKE, B.R. & CASE, C. L. 2016. *Microbiologia*. 12ª ed. Porto Alegre: Artmed. 962 p.
- VALADAS, M. J. C. 2015. *Estudo comparativo da ação microbiana do Hipoclorito de Sódio recorrendo a Terapia Fotodinâmica contra Enterococcus faecalis*. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Dentária) - Faculdade de Medicina Dentária. Universidade de Lisboa, Lisboa, 2015.
- VAN LOVEREN, C. 2001. Antimicrobial Activity of Fluoride and Its in vivo Importance: Identification of Research Questions. *Caries Research*, 35(1), 65–70.
- VLACHOJANNIS, C., CHRUBASIK-HAUSMANN, S., HELLWIG, E. & AL-AHMAD, A. 2015. A Preliminary Investigation on the Antimicrobial Activity of Listerine®, Its Components, and of Mixtures Thereof. *Phytotherapy Research*, 29(10), 1590–1594.
- YOUNG, F. 2010. Caracterização de areias de dragagem de arroio urbano para avaliação do seu potencial de uso como agregado miúdo em argamassas. 147 Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- ZANATTA, F. B. & RÖSING, C. K. 2007. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supra-gengival. *Scientific-A*, 1(2):35-43.
- ZANIN, S. M. W., MIGUEL, M. D., BARREIRA, S. M. W., NAKASHIMA, T., CURY, C. D. & COSTA, C. K. 2007. Enxaguatório bucal: principais ativos e desenvolvimento de fórmula contendo extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L.. *Visão Acadêmica*, 8(1): 19-24.