

AVALIAÇÃO SUMÁRIA DA ATIVIDADE DE DESINFETANTES

Testing Desinfectants By a Simple Way

Therezinha Maria Bolli Mota * e Antonio Jorge Dreon de Albuquerque **

RESUMO

É apresentada uma técnica simples para avaliar a atividade de desinfetantes. Estes foram postos em contato com culturas em meio líquido, durante 15 minutos, e, após a diluição com água destilada estéril, foi feito o plaqueamento, sem usar neutralizantes. Foram avaliados 10 produtos comerciais, com princípios ativos diferentes e formulações mais ou menos complexas. Os resultados obtidos coincidiram com o proposto nos rótulos, para produtos usados sem diluir ou diluídos na mais alta concentração indicada.

Conclui-se pela validade da técnica para uma avaliação sumária de desinfetantes.

SUMMARY

A simple way to test the effect of commercial products claimed to be desinfectants, is proposed. These are prepared in different concentrations, in sterile distilled water and tested against overnight broth cultures of *S.aureus*, *S.cholerae-suis*, *P.aeruginosa* and *B.subtilis*. To each tube of desinfectant, a standard amount of bacterial suspension is added and, after 15 min., a dilution is made in equal volume of distilled water. Inactivators were omitted and the presence or absence of living organisms is decided by subculturing in plates incubated at 37°C, for 24-48 hs. The test results, found with ten representative commercial formulations experimented, were consistent with the label claims. They permit to conclude by the validity of the technique in assessing the relative efficiency of different classes of compounds.

INTRODUÇÃO

A inexistência de uma legislação apropriada tem permitido ao comércio, o lançamento, no mercado brasileiro, de uma enorme variedade de produtos rotulados como desinfetantes ou esterilizantes, os quais, quando testados na prática, não alcançam os objetivos desejados.

Para determinar a atividade de um desinfetante tem sido difundido o teste do "Coeficiente Fenólico" e a "Determinação da Diluição de Uso", este proposto pela AOAC*** (3) e empregando *Staphylococcus aureus*, *Salmonella cholerae-suis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Para determinar o poder esterilizante acrescenta-se testes contra *Bacillus subtilis* e *Clostridium sporogenes* (4).

* Prof.ª Tit. da Discipl. de Microbiologia. Dep. de Patologia — UFSM.

** Prof. Ass. da Discipl. de Microbiologia. Dep. de Patologia — UFSM.

*** (American Official Agricultural Chemists)

Em qualquer destas técnicas, se for visado um nível estatístico de confiança igual a 95%, haverá a necessidade um um número muito elevado de experimentos (30 a 60) com cada diluição, o que as torna bastante complexas. Métodos mais simples tem sido propostos (5) e, em 1974, ZANON e colaboradores (7) experimentaram uma variante do "Whole Sputum Test" de SMITH (apud 7) para tuberculidas, permitindo-se chegar a conclusões que aconselham ou não o uso dos mesmos.

Frete à necessidade de testar desinfetantes de uso corrente, é verificada a viabilidade desta técnica.

MATERIAL E MÉTODO

Culturas — Foram usadas amostras, de coleção, de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella cholerae-suis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*. As culturas de 24 horas em 5 ml de caldo simples, foram diluídas, no momento da prova, a 1:50, no mesmo caldo.

Desinfetantes — Foram testados 10 produtos usados rotineiramente para desinfecção de ambiente ou instrumental, diluídos em água destilada estéril, nas concentrações máxima e mínima indicadas. Destes, 4 tinham como substância ativa compostos quaternários de amônio; 3, derivados do alcatrão; 1, glutaraldeído; 1 era de ação alquilante e 1, iodóforo.

Técnica — Consistiu em misturar 1 ml de cultura diluída com 1 ml do desinfetante previamente diluído. Após a agitação, deixou-se em repouso 15 minutos em temperatura ambiente. Juntou-se 2 ml de água destilada estéril, agitando-se. Retirou-se 0,1 ml da mistura, semeando-se em superfície de placa de ágar. Após incubação de 24 horas a 37°C, fez-se a leitura, considerando-se a inibição total do crescimento como "resultado positivo". O crescimento de qualquer número de colônias foi considerado "resultado negativo".

RESULTADOS

Os resultados aparecem na tabela 1. Verifica-se que 6 dos produtos propostos como esterilizantes, quando usados sem diluir ou em uma só diluição, comportaram-se como tal. Os 3 produtos destinados a usos diversos, entre duas diluições limites, mostraram-se esterilizantes na menor diluição. Os sistemas 1,3 e 8 da tabela não mostraram atividade alguma na diluição maior, bem como o sistema 10 na única diluição usada.

DISCUSSÃO

A principal modificação introduzida na técnica de ZANON e col. (7) foi a supressão dos neutralizantes. Procurou-se deste modo evitar a possível ação tóxica contra microrganismos, apresentada pelos mais comumente empregados: tioglicolato de sódio, tiosulfato de sódio, bissulfito de sódio ou surfactantes (1,2). Este fato pode levar a admitir uma certa ação residual dos desinfetantes, através de moléculas que eventualmente tenham permanecido ligadas às paredes celulares.

Procurou-se, entretanto, reduzir o transporte de desinfetante ao meio de recuperação dos microrganismos resistentes, pela diluição com água destilada estéril, a um volume duplo do inicial.

O desinfetante foi posto em contato direto com a bactéria sendo este contato favorecido pela agitação. Não houve ação interferente de matéria orgânica, nem ação inibidora de sais, eventualmente dissolvidos em água de torneira (6).

O tempo de contato foi de 15 minutos, embora os testes da AOAC utilizem 10 minutos. ZANON e colaboradores (7) trabalharam em 15 e 30 minutos e, em condições de uso, um tempo de atuação de 15 minutos é praticável sem inconveniências.

Tabela 1 — Atividade bactericida de desinfetantes para instrumental ou ambiente.

N.º	% Concentração v/v	Bactérias usadas			
		Staphylo- coccus aureus	S.cho- lerae suis	Pseudo- monas aeruginosa	Bacillus subtilis
1	2,0 a	—	—	—	—
	não dil.	+	+	+	+
2	0,075 a	—	—	—	—
	não dil.	+	+	+	+
3	0,015 a	—	—	—	—
	não dil.	+	+	+	+
4	1,0 a	+	+	+	+
	3,0	+	+	+	+
5	não dil.	+	+	+	+
6	0,5	+	+	+	+
7	não dil.	+	+	+	+
8	não dil.	+	+	+	+
9	10,0	+	+	+	+
10	0,16	—	—	—	—

Legenda :

- 1 — Formol álcool. Cloreto de Benzetônio. Iso-octil-fenoxi-polietoxi-etanol.
- 2 — Iodo. Arkopal-N50 (sic). Ac. iodídrico. Ac. fosfórico.
- 3 — Cloreto cetil dimetil benzil amônio.
- 4 — Orto benzil para cloro fenil. Para terciário butil fenol.
- 5 — Formol álcool. Cloreto benzil dimetil 2-etil amon. Iso aril alkil poli etoxi etanol. Sal sódico de EDTA.
- 6 — Quat. de amônio. Aldéido glutárico. Tributil estanho.
- 7 — Cloro xilenol. Terpinol. Alcool.
- 8 — Quat. de amônio.
- 9 — Formalina.
- 10 — Fenolóides. Hidroc. do Alcatrão.

Todas as condições da experiência são favorecedoras da ação do desinfetante, podendo-se inferir que um produto que não mostre eficácia com a técnica proposta, será inativo nas condições de uso, na diluição experimentada. Por outro lado, o teste demonstrou condições de reprodutibilidade.

Dos 10 produtos testados, 9 mostraram ação esterilizante na única ou menor diluição, confirmando a atividade germicida postulada nos rótulos. Dos 3 produtos que não mostraram eficácia na diluição maior, os de número 1 e 2 da tabela, que são licenciados para uso, nestas diluições, com a finalidade de "limpeza-desinfecção", não mostraram possibilidades germicidas sobre os 4 germes expostos. Isto obriga a deduzir que a quantidade de sal quaternário de amônio, que não é indicada na fórmula do número 1, deve ser bem pequena. O resultado obtido com o produto de número 3, da tabela, está de acordo com o esperado, pois na concentração de 0,015% só age sobre *Proteus sp.* O mesmo pode ser dito do produto de número 10, que só é efetivo em concentrações muito mais elevadas.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos, conclui-se que a técnica empregada constitui um instrumento válido para uma avaliação sumária da atividade germicida de produtos comerciais, ditos desinfetantes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Hospital de Veterinária da UFSM, na pessoa de seu Diretor Prof. Lauro Petrucci, por ter cedido os desinfetantes utilizados no teste.

LITERATURA CITADA

- 1 — GREEN, B. L. e LITZKY, W. — The use of sodium sulfite as a Neutralizer for Evaluating Povidone — Iodine Preparations. *Health Lab. Sci.* 11 (13): 188-194, 1974.
- 2 — MC KINNON, I. H. — The use of inactivators in the evaluation of disinfectants. — *J. Hyg. Camb.* 73: 189-195, 1974.
- 3 — Método AOAC para determinar a diluição de uso de desinfetantes — Official Methods of Analysis, 11 th. AOAC. Washington, DC, 1970.
- 4 — Método da AOAC para determinar a atividade esporicida dos esterilizantes — Official Methods of Analysis, 11 th E. AOAC. Washington, DC, 1970.
- 5 — WALTER, C. R. e SCHEUSNER, D. L. — Dose response Score of AOAC. Use — Dilution Test for Quality Control of Internal Standard and Products — *Journal of the AOAC*, 57: 885-887, 1974.
- 6 — WINICOV M., SCHMIDT, W. e PALOCHAK, M. — Pseudomonicidal Activity of Phenolic Disinfectants in Hard Water — *Journal of the AOAC.*, 57: 880-884, 1974.
- 7 — ZANON, U., MAGARÃO, M. F. e MONDIN, L. — Atividade Tuberculicida de Desinfetantes Hospitalares — *Rev. Div. Nac. Tub.*, 18: 5-15, 1974.