# AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E EFICÁCIA DO ÁLCOOL 70% CONTRA MICRORANISMOS GRAM NEGATIVO E GRAM POSITIVO

Dayane Maciel de Sousa<sup>1</sup> Thémilly Thamimy Dias Xavier<sup>2</sup> Ely Eduardo Saranz Camargo<sup>3</sup>

**RESUMO:** Os álcoois são utilizados como anti-sépticos desde 1880 apresentando eficácia contra micro bactérias e bactérias vegetativas, mas não são esporicidas, sendo que os alcoóis mais usados como anti-sépticos são álcool etílico C₂H₅OH e o isopropílico nunca na forma anidra, e sim em soluções entre 50% e 75% por agirem coagulando as proteínas das células, diminuindo a tensão superficial e provocando a lise celular pela penetração da água. O objetivo desse estudo foi avaliar diferentes marcas de álcool 70% nas formas líquidas e géis, comercializadas em Ji Paraná com finalidades antissépticas. Os resultados encontrados apontam para concentrações acima do esperado, sendo registrados 77% de teor alcoólico a mais próxima do declarado na embalagem. Nos testes bacteriológicos foi observado halo de inibição de crescimento bacteriano em uma forma liquida e outra forma de gel, correspondendo a teoria que eficácia antisséptica até 70%, acima fica comprometida. A falta de fiscalização e os descompromissos com a saúde da população levam a esses acontecimentos, dessa forma deve haver outros estudos relacionados para verificação do efeito antisséptico dos alcoóis comercializados a nível Brasil.

Palavras chaves: Álcool 70 %. Antisséptico. Eficácia bacteriológica.

## EVALUATION OF ALCOHOL CONCENTRATION AND EFFICIENCY 70% AGAINST NEGATIVE AND POSITIVE GRAM MICRORANISMS

**ABSTRACT:** Alcohols have been used as antiseptics since 1880 and are effective against micro bacteria and vegetative bacteria, but they are not sporicidal, and the most commonly used antiseptic alcohols are ethyl alcohol C2H5OH and isopropyl never in anhydrous form, but in solutions. between 50% and 75% by acting to coagulate cell proteins, reducing surface tension and causing cell lysis by water penetration. The aim of this study was to evaluate different brands of alcohol 70% in liquid and gels, marketed in Ji Paraná for antiseptic purposes. The results point to higher than expected concentrations, with 77% of alcohol content closest to that stated on the packaging. In bacteriological tests it was observed halo of bacterial growth inhibition in a liquid form and another gel form, corresponding to the theory that antiseptic efficacy up to 70% above is compromised. The lack of supervision and the lack of commitment to the health of the population lead to these events, so there must be other related studies to verify the antiseptic effect of alcohol sold in Brazil.

**Keywords:** alcohol 70%; antiseptic; bacteriological efficacy.

<sup>1</sup>Acadêmica da Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade Panamericana de Ji-Paraná.

Acadêmica da Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade Panamericana de Ji-Paraná.

Doutor em Ciências Farmacêuticas e Professor da Faculdade Panamericana de Ji-Paraná. Rev. Saberes da UNIJIPA, Ji-Paraná, Vol 15 nº 3 Ago/Dez. 2019 ISSN 2359-3938

### 1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo que em toda sua extensão existe a microbiota natural, que permanece em perfeito equilíbrio, sem causar qualquer dano ao organismo, no entanto, a pele tem a facilidade de aderir outros microrganismos estranhos e levá-los aos orifícios do corpo, por onde ao penetrar, causa danos a saúde, pois encontram condições propicias para a replicação e consequentemente as manifestações patológicas (ROBERTISON, 2019).

A higienização periódica das mãos e o uso de antissépticos são medidas que amenizam tais riscos, uma vez que as mãos são os órgãos que fazem os maiores contatos com áreas infectadas e transportam microrganismos para as demais regiões do corpo, por onde ocorre a contaminação (MARTININI, 2004). Por outro lado, é necessário preservar a integridade do tecido epitelial que pode sofrer agressões de produtos antissépticos.

O álcool em concentrações elevadas pode causar a morte precoce das células epiteliais, no entanto na concentração 70% ele exerce ação antisséptica e não agride o tecido epitelial, por essa razão o uso do álcool nessa concentração se tornou recomendado, mas a ação antisséptica depende de diversos fatores como: higienização prévia, tempo de ação, e os tipos de microrganismos que se pretende combater (SANTOS, 2019). A importância da higienização das mãos na prevenção da transmissão das infecções é baseada na capacidade da pele para abrigar microrganismos e transferi–los de uma superfície a outra, através do contato direto ou indireto.

O Ministério da Saúde recomenda utilizar a fricção antisséptica das mãos com preparação alcoólica em gel 70% a fim de reduzir a carga microbiana das mãos (não há remoção de sujidades). Ao entrar em contato com a pele o gel elimina 99,9% dos vírus e bactérias em questão de segundos. Sua ação acaba instantaneamente após a secagem e caso o indivíduo se exponha a outros fatores de contaminação, deve reaplicar o produto (BRASIL, 2010<sup>a</sup>).

A eficácia e o valor de esfregar a pele com álcool tem sido questionada. No entanto, o aumento de duração da limpeza do tempo usual poucos 30 segundos Rev. Saberes da UNIJIPA, Ji-Paraná, Vol 15 nº 3 Ago/Dez. 2019 ISSN 2359-3938

poderiam melhorar a desinfecção da pele. Uso de álcool 70% para ser ineficaz contra o HIV seco em lamínulas de vidro estéril, na presença de soro de 10%. No entanto, de Jong e van Klingeren (1989) apontou que o HIV suspensão foi muito sensível ao álcool 70% e que, na prática, o poder de penetração pobre de álcool foi compensado pela eliminação de contaminação de superfícies visíveis antes da desinfecção.

Outro estudo mostrou que a inativação de cepas de HIV em 70% de álcool era lenta, especialmente na presença de uma elevada concentração de proteína, e que altos títulos de vírus exigido um período de 2 minutos de imersão total em álcool.

Para referência para as diretrizes da OMS sobre a esterilização e os métodos de desinfecção eficaz contra o HIV. Essas orientações indicam que os álcoois não são considerados adequados para lidar com superfícies contaminadas devido à sua penetração limitada de resíduos orgânicos e evaporação rápida, mas que para desinfecção de tecidos vivos, o álcool 70% é eficaz. (ALLEN, 1998)

O teor alcoólico é expresso como uma percentagem em volume de álcool. Foi anteriormente, muitas vezes expressos em termos de espírito de prova. Prova espírito continha cerca de 57,1% v / v ou 49,2% w / w de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, e foi definido como "aquilo que, à temperatura de 51 º F pesa exatamente doze thirteenths de uma medida igual de água destilada. Espírito de uma tal força que continham 100 volumes de álcool etílico até 160 volumes de espírito prova foi descrito como "60 OP '(mais de prova). Espírito, dos quais 100 volumes contidos tanto álcool como 40 volumes de espírito prova foram descrito como '60UP "(à prova)". Um método alternativo de indicação de força, espírito foi utilizada nos rótulos de bebidas alcoólicas no Reino Unido quando a força foi dada como número de graus, o espírito prova a ser tomado como 100 °C. Na força E.U.A. alcoólica é expressa em graus, cujo valor é igual ao dobro da percentagem em volume. Assim 70 º prova (sistema britânico de idade) é equivalente a 40% v / v, e, portanto, a prova 80% (sistema E.U.A.). (ALLEN, 1998)

Nesse estudo buscou-se comprovar a eficácia e a concentração de diferentes marcas de álcoois a 70%, na forma gel e líquido e também seus respectivos efeitos

bactericidas microbicidas para eliminação dos microrganismos frequentemente envolvidos em infecções, que são imprescindíveis na realização de ações simples de prevenção como a antissepsia das mãos, a desinfecção do ambiente e de artigos médico-hospitalares.

#### **2 MATERIAL E MÉTODOS**

No preparo dos materiais para análise das amostras foram necessários os seguintes materiais: Swab de algodão estéril 2.300l (Absorve®), Placa de petri 15x100mm (Normax®), Alça bacteriológica de niquel cromo de 10ml (Newproo®), Alcoômetro TP: 20°C (Incoterm®), Papel de filtro lote: 702071 (Inlab®), Agar nutriente Mueller Hinton agar – Lt: 0000073039 (Himedia®), S. aureus - Lt: 25923 e Lt: 25922 e antimicrobianos para controle, disponíveis em discos: E. coli – Cefepime, Cefalexina e Ciprofloxacino. As amostras de álcool foram coletadas em farmácias e estabelecimentos que diariamente fazem uso deste produto como asséptico e por questões éticas nesse trabalho foram denominadas de Amostras: I, II, III, IV e V.

#### 2.1 Determinação da concentração alcoólica

Na determinação a graduação alcoólica foi utilizado o alcoômetro de Gay Lussac, aparelho que tem a capacidade de avaliar e a averiguar a concentração de substâncias voláteis, mais para a forma líquida e na forma gel foi realizado o método da densidade, ambos descritos na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010<sup>b</sup>) assim foi possível analisar a concentração verdadeira de cada substancia alcoólica, sendo observada em temperatura de 20 ° C e a pressão constante.

#### 2.2 Determinação do pH dos álcoois

Determinação do pH: Para preparação das amostras dos três álcoois em gel 70% (p/p), foi utilizada água destilada isenta de dióxido de carbono, até completar uma solução de 1% de álcool em gel 70% (p/p).

#### 2.3 Determinação da Sensibilidade ao álcool 70 % in vitro.

Esta metodologia foi utilizada para comprovar a ação bactericida e bacteriostática do álcool a 70 %, sendo utilizado o seguinte método: em cinco placas de petri contendo ágar nutriente foram incubadas bactérias, sendo que em cada placa uma bactéria em especifico foi incubada, em seguida foi inserido no processo um disco de papel estéril embebidos com os álcoois da metodologia e mantida em condições favoráveis de crescimento.

#### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na determinação da quantificação da graduação alcoólica, considerando que são utilizados como antissépticos, esperava-se encontrar valores bem próximos à 70% V/V, porém, o que mais se aproximou do valor de referência (70° GL), de acordo com método descrito na Farmacopeia Brasileira, as amostras de alcoóis líquidos, um deles registrou concentração de 77% os demais ficaram em 78%. E para os alcoóis em géis, de duas amostras testadas, uma delas registrou 77% e outra 78%.

Os resultados obtidos nas concentrações alcoólicas das amostras analisadas, segundo Cunha (2016) a sensibilidade do álcool para germes é melhor quando está a 70%, porém, ainda apresenta atividade menor até 50%. Concentrações superiores a 70% não apresentam atividade microbiana.

Os valores de potencial hidrogeniônico (pH), para as amostras líquidas foram: amostra I = 7,38 a II = 7,64 e a III = 6,20, sendo que pra essa determinação todos os

testes foram realizados em triplicatas. Para as amostras em géis os resultados obtidos foram: amostra IV = 7,02 e V = 7,22.

Em se tratando de produto germicida utilizado na pele, nota-se que seria bem mais tolerável quando apresenta pH = 7 ou pouco mais, pH = 7,5, esses valores estariam compatíveis com pH da pele, portanto agride menos. Contra os microrganismos não nenhuma importância, mesmo que algumas bactérias deixam o meio ácido.

Tabela 1: Resultados encontrados na determinação da graduação alcoólica

Amostras	Estado da amostra	Concentração esperada	Concentração obtida	рН
Álcool I	Solução	70 %	78 %	7,38
Álcool II	Solução	70 %	77 %	7,64
Álcool III	Solução	70 %	78 %	6,20
Álcool IV	Gel	70 %	77 %	7,02
Álcool V	Gel	70 %	78 %	7,22

Após a determinação das concentrações alcoólica foi possível afirmar que as embalagens trazem informações incorretas sobre os valores da concentração, tanto nos líquidos como nos géis, pois todas as amostras registraram concentrações bem acima do esperado. Esse fato chama a atenção para vários fatores, como: controle de processo, boas práticas de fabricação, controle de qualidade e fiscalização dos órgãos responsáveis.

Na análise bacteriológica, realizada com aplicação de discos embebidos nas amostras e colocados sobre a placa com agar, contendo microrganismos gram positivo e gram negativo, respectivamente e incubado em estufa bacteriológica para crescimento dos mesmos. Esse teste foi realizado em triplicata, acompanhados de controle com discos de antibióticos.

Após as primeiras 24 horas foi observadas as placas para verificação se houve crescimento e inibição dos microrganismos semeados com a for4mação de halos. Na verificação observou que nas placas contendo *Staphylococcus aureus*, as amostras de números I e III, contendo álcool 70% em solução, não apresentaram

nenhum halo de inibição, porém, a amostra de número II, também em solução, foi registrada um halo menor que 2 mm (dois milimetros) (Figura 1).

Os resultados obtidos para as amostras de álcool 70% em gel, a amostra de número IV apresentou halo de inibição inferior a 2 mm (dois milimetros) e a amostra de número V não apresentou nenhum halo de inibição (Tabela 2). Esses resultados corroboram com a literatura que apresenta sensibilidade do álcool 70% em concentrações favoráveis até 70% e dessa forma, para as concentrações registradas em 78% não houve qualquer sinal de inibição de crescimento bacteriano.

Nas placas contendo *Escherichia coli*, também se observou a formação de halos maiores de 3 mm (três milimetros) de inibição para a amostra de número II de álcool 70% em solução e as outras duas liquidas, amostras I e III, não apresentaram formação de halos de inibição. Resultado semelhante observou-se para as amostras em géis, registrando halo de inibição de crescimento bacteriano para amostra de número IV (Figura 2) e nenhuma formação de halo na amostra V (Tabela 2).

Apesar de a literatura apontar que o álcool em gel seria mais eficaz para limpeza e desinfecção de superfícies fixas, pois apresentaria maior aderência ao local de aplicação, porém, relaciona sua atividade com a concentração alcoólica. Dessa forma, para garantir maior sensibilidade do álcool, seria necessárias concentração e que não excedesse a 70%, pois o efeito bactericida e bacteriostático vai diminuindo proporcionalmente.

O fato das amostras de álcool 70% apresentar maior sensibilidade para bactérias gram negativas, não significa que seriam mais efetivos para esse microrganismo e sim pelo fato de apresentarem uma concentração maior nos discos aplicados. Esse fato foi demonstrado com a visualização das replicas das placas que apresentaram diferenças pequenas no diâmetro do halo formado.

Tabela 2: Resultados encontrados no texte microbiológico

Amostras	Staphylococcus aureus	Escherichia coli
1	-	-
II	> 2 mm	< 3 mm
III	-	-



IV	> 2 mm	< 3 mm
V	-	-

Neste método os resultados mostraram maior atividade bacteriostática e bactericida do álcool na concentração 77% (amostra II na forma liquida e amostra IV em gel), agindo sobre bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram negativas (*Escherichia coli*), corroborando com a teoria bactericida e bacteriostática do álcool até a concentração de 70%. Já o efeito do pH não refletiu qualquer interferência na atividade dos álcoois.



Figura 1- Amostra II com halo de inibição para Staphylococcus aureus

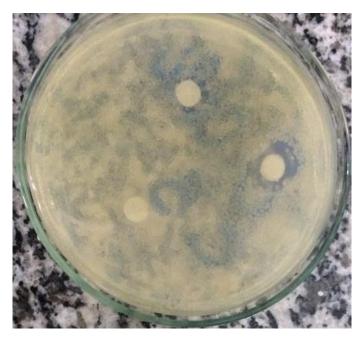


Figura 2- Amostra IV com halo de inibição para Escherichia coli

## **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os experimentos confirmaram a baixa atividade antisséptica do álcool 70% e o desenvolvimento de microorganismos em várias placas. Apesar da concentração 70% ser informada em todas as amostras, ao aferir essa concentração à temperatura de 20°c e pressão constante com alcoômetro calibrado a 20°c, observou diferentes resultados, sendo que as amostras mais próximas da concentração ideal foram de 77%, isso indica que as indústrias usam outros métodos de preparação que pode não oferecer a biossegurança desejada ao usuário.

Nos experimentos a forma gel também não mostrou a eficácia informada, apresentando o desenvolvimento de microrganismos em 50% das amostras, o que mostra que a adição de polímeros a solução, pode dificultar o transporte pela parede celular dos microrganismos, alem disso os polímeros que permanecem aderidos à superfície, se tornam propícios para a fixação de novos microrganismos, aumentando o risco de contaminação após a assepsia com esse produto.



Através destas análises microbiológicas foi possível concluir que eficácia do álcool 70% como antisséptico depende de vários fatores, sendo estes extrínsecos e intrínsecos, podendo relacionar os seguintes aspectos:

- A- A forma física
- B- A origem e exatidão da formulação
- C- A aplicação de maneira qualitativa e quantitativa, observando a duração recomendada.
- D- O tipo de inibição que se pretende.

Para que haja uma verdadeira assepsia faz—se necessário uma manipulação adequada seguindo parâmetros descritos, além dos conhecimentos técnicos que somente profissionais habilitados possuem para que haja uma disseminação correta sobre o uso do álcool alem das suas verdadeiras propriedades, só assim o álcool deixara de ser uma lenda bactericida que tudo combate o que não é real quando analisamos os dados encontrados nestas análises.

#### REFERÊNCIAS

ALLEN, R.G., PEREIRA, L.S., RAES, D., SMITH, M. (1998) **Crop evapotranspiration** —**guidelines for computing crop water requirements.** FAO Irrigation and drainage paper 56. Food and Agriculture Organization, URL:http://www.fao.org/docrep/x0490e/x0490e00 .htm. Acesso: 18 de set. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC Nº 42, DE 25 de outubro de 2010**<sup>a</sup>. Dispõe sobre a obrigatoriedade de disponibilização de preparação alcoólica para fricção antisséptica das mãos, pelos serviços de saúde do País http://portal.anvisa.gov.br/legislacao. Acesso em: 14 setembro. 2019. BRASIL, Ministério da Saúde, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC No 49 de 23 de novembro de 2010**<sup>b</sup>. Aprova a Farmacopeia Brasileira 5<sup>a</sup> edição. Brasília. 2010.

DE JONG JC, VAN KLINGEREN B. chemical inactivation of HIV on surfaces. **Br Med** J 1989; 298: 1646-7.

MARTININI, ÂNGELA CONTE. **Lavagem das mãos no olhar de Trabalho de Enfermagem.** Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Universidade de Federal do Sul. Curso de Mestrado em Enfermagem, 2004. Acesso em: 29 agosto. 2019.



ROBERTSON, Sally. (2019, February 26). **Pele Microbiota.** News-Medical. Retrieved on November 25, 2019 from https://www.news-medical.net/life-sciences/Skin-Microbiota.aspx.

SANTOS, VANESSA SARDINHA. **"Tecido epitelial"**; *Brasil Escola*. Disponível em: https://brasilescola.uol.com.br/biologia/tecido-epitelial.htm. Acesso em 25 de novembro de 2019.