

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA/ IMUNOLOGIA E  
PARASITOLOGIA**

Trabalho de conclusão de curso:

**AÇÃO DE ANTISSÉPTICOS E DESINFETANTES DE USO DOMÉSTICO  
SOBRE *Enterococcus* spp. ISOLADOS DO ARROIO DILÚVIO-RS**

Natália Costantin Bandeira

Orientadora: Ana Paula Guedes Frazzon

Porto Alegre, 2018

**AÇÃO DE ANTISSÉPTICOS E DESINFETANTES DE USO DOMÉSTICO  
SOBRE *Enterococcus* spp. ISOLADOS DO ARROIO DILÚVIO-RS**

Natália Costantin Bandeira

Orientadora: Ana Paula Guedes Frazzon

Banca examinadora:

Professora Dra. Sueli Van Der Sand

MSc. Tiela Trapp Grassotti

Trabalho de Conclusão de Curso  
de graduação apresentado à  
Comissão de Graduação do curso  
de Ciências Biológicas na  
Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

Porto Alegre, dezembro de 2018

Artigo formatado conforme normas editoriais da revista *Brasileira de Biociências*.

As figuras seguem com as legendas nas bases das mesmas para melhor compreensão.

**Ação de antissépticos e desinfetantes de uso doméstico sobre *Enterococcus* sp.  
isolados do Arroio Dilúvio-RS**

Natália Costantin Bandeira<sup>1\*</sup>; Gisele Natchtigall<sup>1</sup>; Ana Paula Guedes Frazzon<sup>1</sup>.

**Título resumido: Avaliação de antissépticos e desinfetantes sobre *Enterococcus* spp.**

<sup>1</sup>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.

\*Contato do autor: nati.bandeira@gmail.com

**RESUMO:** (Ação de antissépticos e desinfetantes de uso doméstico sobre *Enterococcus* sp. isolados do Arroio Dilúvio-RS). O Arroio Dilúvio, localizado em uma importante avenida na área central de Porto Alegre, recebe diariamente lixo e esgoto doméstico de vários bairros da cidade, que sem o tratamento adequado poderão ser fonte de diferentes microrganismos, entre eles destacam-se os enterococos. Enterococos apresentando resistência a uma ampla variedade de antimicrobianos já foram isolados do Arroio, entretanto, não se sabe a sua tolerância a produtos desinfetantes e antissépticos. Em razão disso, este trabalho visou avaliar o perfil de tolerância de cepas de *Enterococcus* suscetíveis e resistentes a antibióticos isoladas de cinco pontos distintos do Arroio Dilúvio frente a diferentes desinfetantes e antissépticos de uso doméstico. Foram testados 15 produtos desinfetantes e seis produtos antissépticos. A eficiência dos 21 produtos selecionados foi verificada através do método de difusão em disco para cada um dos isolados. Os produtos com atividade confirmada foram submetidos a concentração inibitória mínima através do método de diluição em caldo. Vinte isolados, de pontos distintos do Arroio Dilúvio, apresentaram intolerância a 13 desinfetantes e a cinco antissépticos, bem como tolerância a dois desinfetantes e a um antisséptico. O período de exposição mostrou-se um fator importante frente ao crescimento bacteriano, já que o tempo de permanência de um composto pode influenciar essa capacidade de crescimento das bactérias. A maioria dos produtos mostraram-se eficientes quanto a atividade antimicrobiana, no entanto, muitos tiveram a eficiência de sua atividade antimicrobiana reduzida já na primeira diluição, de 50%, e no tempo de exposição de 24 horas. Como conclusão, podemos observar que as cepas de enterococos, independente do ponto de coleta e perfil de susceptibilidade aos antibióticos, apresentaram diferentes perfis de tolerância aos compostos químicos testados.

**Palavras-chave:** Gram-positiva, antimicrobiana, composto ativo, tolerância.

**ABSTRACT:** (Action of household antiseptics and disinfectants against *Enterococcus* sp. isolated from Dilúvio stream - RS). The Dilúvio stream, located on an important avenue in Porto Alegre's central area, receive daily garbage and domestic sewage, that without adequate treatment may be a source of microorganisms, among them highlight the enterococci. Enterococci resistant to a wide range of antimicrobial have already been isolated from stream, however, their tolerance to disinfectant and antiseptic products is not known. Therefore, this study aimed to evaluate the tolerance profile of *Enterococcus* strains resistant or susceptible to antibiotics isolated from five distinct points of the Dilúvio stream against different disinfectants and antiseptics of domestic use. Fifteen disinfectants and six antiseptic products were tested. The efficiency of the 21 selected products was verified through the disc diffusion method for each of the isolates. The products with confirmed activity submitted to determine the minimum inhibitory concentration by the broth dilution method. Twenty isolates, from different points of the Dilúvio stream, presented intolerance to 13 disinfectants and five antiseptics, as well as tolerance to two disinfectants and an antiseptic. The exposure period has been shown to be an important factor against bacterial growth, since the permanence time of a compound can influence this growth capacity of the bacteria. Most of the products were efficient in antimicrobial activity, however, many products had the efficiency of their antimicrobial activity reduced already in the first dilution, 50%, and in the exposure time of 24 hours. As a conclusion, we can observe that enterococci strains, regardless of the point of collection and profile of susceptibility to antibiotics, presented different profiles of tolerance against the chemical compounds tested.

**Key words:** Gram-positive, antimicrobial, active compound, tolerance.

## INTRODUÇÃO

O Arroio Dilúvio é um importante córrego localizado na Cidade de Porto Alegre - Rio Grande do Sul, percorrendo uma extensão de 17.605 m. O arroio nasce na Lomba do Pinheiro, Zona Leste da cidade, na Represa da Lomba do Sabão, e deságua no Lago Guaíba entre os parques Marinha do Brasil e Maurício Sirotsky Sobrinho (Harmonia) (Porto Alegre 2018). O arroio recebe anualmente 50 mil metros cúbicos de terra e lixo em suas águas e ainda coleta águas pluviais de mais de 36 bairros, representando uma parcela significativa do sistema de drenagem da cidade (Young 2010). Além disso, o arroio é comumente contaminado por esgoto sanitário, hospitalar e laboratorial, os quais, se não tratados adequadamente, poderão ser uma fonte de microrganismos potencialmente patogênicos.

Entre os microrganismos isolados do Arroio Dilúvio, destacam-se bactérias gram-positivas como os enterococos e estafilococos (Nachtigall *et al.* 2013, Basso *et al.* 2013) e gram-negativas (Oliveira *et al.* 2012). Os microrganismos do gênero *Enterococcus* pertencem a família Enterococcaceae, apresentam crescimento numa faixa de temperatura de 10 °C a 45 °C, são capazes de suportarem condições elevadas de sal, podendo se desenvolver bem em meio contendo 6,5% de NaCl e sais biliares a 40% (Lebreton, Williems & Gilmore 2014). Esta capacidade de tolerar diferentes condições, faz com que bactérias do gênero *Enterococcus* tenham uma distribuição onipresente na natureza, podendo ser encontrado no solo, na água, nas plantas e nos produtos alimentares, como probióticos ou cultura iniciadora (Araújo & Ferreira 2013, Mucinhato *et al.* 2015). Em seres humanos e animais são considerados como componentes da microbiota intestinal, atuando como patógenos oportunistas em diferentes compartimentos extra intestinais do corpo (Devriese, Baele & Butaye, 2006). Recentemente, as espécies *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* tem recebido considerável atenção na bacteriologia

clínica, devido à participação crescente nas infecções nosocomiais, incluindo bacteremia, infecções intra-abdominais e do trato urinário (Devriese, Baele & Butaye 2006, Chotinantakula, Chansiwa & Okadab 2017).

Outra característica importante deste gênero é a sua resistência a uma ampla variedade de antimicrobianos, devido a sua capacidade de adquirir genes de resistência provenientes de outros microrganismos, 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 isolados de diversas fontes (Campos *et al.* 2013, Hörner *et al.* 2005, Riboldi *et al.* 2009), incluindo o Arroio Dilúvio (Nachtigall *et al.* 2013).

O controle de microrganismos além de ser realizado através da utilização de antibióticos também pode ser por meio do uso de compostos químicos, como, antissépticos e desinfetantes (Castelanos & Jouclas 1974, McDonnell & Russel 1999, Novato *et al.* 2013). Algumas pesquisas demonstraram que isolados de *Enterococcus* spp. podem apresentar tolerância a compostos ativos, como hipoclorito de sódio e clorohexidina, bem como observaram a presença de alguns genes capazes de conferir resistência a alguns desinfetantes e antissépticos (Ljalg, Naaber & Mikelsaar 2002, Negreiros *et al.* 2011). Nuñez & Moretton (2007) constataram a presença de microrganismos resistentes a iodo, como *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus* spp. e *Pseudomonas alcaligenes*, e relataram que em um ambiente com restrição de nutrientes a resistência a alguns compostos, como, o iodo teve um aumento, da mesma forma como acontece com o sistema aquático oligotrófico encontrado em águas residuais hospitalares.

A resistência de isolados de *Enterococcus* spp. aos antibióticos é amplamente estudada, no entanto não existem muitos estudos referentes à tolerância destes microrganismos a produtos desinfetantes e antissépticos. A falta de estudo sobre a

tolerância de microrganismos isolados de águas residuais à desinfetantes e antissépticos de uso doméstico justifica o presente estudo, principalmente pela importância socioambiental do Arroio Dilúvio e de saúde pública para a população da cidade de Porto Alegre.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Seleção dos desinfetantes e antissépticos*

Os desinfetantes e antissépticos foram selecionados conforme seu princípio ativo e a sua disponibilidade em supermercados públicos da Grande Porto Alegre. Quando mais de uma marca era composta pelo mesmo princípio ativo, três marcas diferentes foram escolhidas conforme o baixo, intermediário e alto custo de mercado, à fim de realizar uma comparação entre a eficácias dos produtos. Ao total foram selecionados 15 produtos desinfetantes e seis produtos antissépticos, conforme listados na Tabela 1.

Os desinfetantes foram denominados de **A G** em relação aos seus compostos ativos, sendo **A**: quaternário de amônio 0,46%; **B**: nonil fenol etoxilado 9,5 mols de óxido de eteno; **C1, C2, C3 e C4**: hipoclorito de sódio; **D1 e D2**: cloreto de benzalcônio; **E1, E2 e E3**: linear alquilbenzeno sulfonato de sódio; **F**: lauramina óxida, lauril éter sulfato de sódio; **G1, G2 e G3**: cloreto de benzil alquil dimetil amônio.

Os antissépticos foram denominados de **H a M** em relação aos seus compostos ativos, sendo **H**: fluorido de sódio; **I**: 0,053% cloreto de cetilpiridínio monoidratado; **J**: fluoreto de sódio 0,05%; cloreto de cetilpiridínio 0,075%; **K**: timol; eucaliptol; salicilato de metila; mentol; **L**: gluconato de clorhexidina a 0,12%; **M**: digliconato de clorexidina 1% dissolvido em álcool.

### *Repique de isolados bacterianos*

Foram testados um total de 28 *Enterococcus* spp. isolados do Arroio Dilúvio entre Janeiro e Dezembro de 2009, as quais fazem parte de uma bacterioteca estocada por Nachtigall *et al.* (2013). Estas bactérias já haviam sido identificadas tanto em espécie quanto seu perfil de suscetibilidade antimicrobiana, e foram mantidas a -80°C em glicerol. Os 28 isolados de *Enterococcus* spp. selecionados da bacterioteca haviam sido previamente identificados por meio de provas bioquímicas como *E. faecalis* (n=8), *E. casseliflavus* (n=6), *E. faecium* (n=8), *E. hirae* (n=4), *E. gallinarum* (n=2). Ainda, estas bactérias foram coletadas em cinco diferentes pontos do Arroio Dilúvio; Ponto 1: nascente do arroio, na represa da Lomba do Sabão; Ponto 2: esquina das Avenidas Ipiranga com Antônio de Carvalho; Ponto 3: esquina da Avenida Ipiranga com a Rua Guilherme Alves; Ponto 4: esquina da Avenida Ipiranga com a Rua Ramiro Barcelos; Ponto 5: esquina das Avenidas Ipiranga com Borges de Medeiros (Figura 1).

A técnica de repicagem foi utilizada para verificar a viabilidade das bactérias, confirmar características microscópicas e morfotintoriais, bem como obter uma maior quantidade destas células. As bactérias foram inoculadas por método de esgotamento em placas de Petri contendo meio ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubadas em uma estufa a 37°C durante 24 horas para seu correto crescimento.

À fim de confirmar as identificações, o método diagnóstico MALDI-TOF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight*) foi empregado, o qual utiliza a espectrometria de massas para identificação de proteínas dos microrganismos por tempo de voo. Para essa análise, cada isolado foi repicado em meio ágar BHI e foram incubados a 37 °C durante 24 horas. A partir desse crescimento, algumas colônias foram adicionadas a 300 µL de água mili-Q estéril, e em seguida adicionados 900 µL de etanol absoluto. Ao

final a solução foi homogeneizada em equipamento vórtex e as amostras foram armazenadas a 4 °C durante, no máximo, sete dias (Sauget *et al.* 2017).

O perfil de suscetibilidade antimicrobiana foi novamente verificado pelo método de difusão em disco conforme padronizado pelo CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute* 2016, utilizando os mesmos antimicrobianos no qual as bactérias demonstraram resistência no trabalho de Nachtigall *et al.* (2013) (eritromicina, ciprofloxacino, cloranfenicol, norfloxacino, nitrofurantoína e tetraciclina) (Tabela 2).

#### *Teste de sensibilidade aos desinfetantes e antissépticos*

A eficiência dos 21 produtos selecionados foi verificada através do método de difusão em disco conforme CLSI 2016 para cada um dos 28 isolados bacterianos. O método consistiu na aplicação de 20 µL da solução desinfetante ou antisséptica na sua concentração pura em discos de papel filtro estéreis. Estes discos foram dispostos em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Müller-Hinton, o qual já estava previamente inoculado com o isolado em questão na concentração conforme escala de 0,5 McFarland, equivalente a  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC) por mL. As medições do tamanho do diâmetro do halo foram realizadas em milímetro (mm) e o perfil de susceptibilidade foi determinado através da comparação com dados de formação de halo inibitório frente a óleos essenciais, conforme trabalho de Negreiros *et al.* (2016). Como alguns desinfetantes com o mesmo princípio ativo apresentaram pouca ou nenhuma diferença no perfil de sensibilidade frente aos isolados, foram escolhidos desinfetantes nos quais os isolados apresentaram perfis diferentes de sensibilidade.

### *Determinação da concentração inibitória mínima de cada antisséptico e desinfetante*

Para todos os desinfetantes e antissépticos que apresentaram atividade inibitória sobre os enterococos foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) conforme realizado por Mazzola *et al.* 2009. Os ensaios foram realizados empregando o método de diluição em caldo, a partir do crescimento bacteriano em placa, a escala 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) foi ajustada para cada isolado.

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. Em cada poço foi adicionado 10  $\mu$ L de suspensão bacteriana, 95  $\mu$ L de meio TSB (*Tryptic Soy Broth*) em caldo e 95  $\mu$ L de desinfetante ou antisséptico, partindo do produto concentrado fazendo diluições seriadas, nas concentrações de 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% até 1,563%. Cada desinfetante ou antisséptico foi avaliado em microplacas diferentes e o processo foi realizado em duplicata. Na concentração de 100% de cada produto não foi adicionado o meio de cultura (controle positivo), bem como foi realizado o controle do crescimento bacteriano, o qual continha 190  $\mu$ L TSB e 10  $\mu$ L de suspensão bacteriana do isolado.

A CIM para os desinfetantes, B e D2 foram determinadas por macrodiluições em tubos. Para o desinfetante B, foi realizado desta forma pois um número menor de isolados (cinco) foram intolerantes ao seu princípio ativo. Para este ensaio 1 mL de meio TSB foram adicionados nos tubos, 0,1 mL da suspensão bacteriana e 1 mL do desinfetante. Foram realizadas diluições seriadas partindo do produto concentrado (100%) até a diluição de 1,563%. Já para o desinfetante D2 foi realizado o teste somente na concentração de 50% do produto porque no teste de difusão em disco verificou-se que o desinfetante D1 possui o mesmo composto ativo, mas metade da concentração do desinfetante D2 e foi pouco eficiente, assim o ensaio foi realizado para verificar se mesmo

diluindo o D2 ainda teria a mesma atividade. Para ambos desinfetantes, controles positivos e negativos foram analisados. Tanto as microplacas quanto os tubos foram incubados em estufa a 37°C, onde as leituras foram realizadas nos períodos de 24 e 48 horas.

A CIM de cada desinfetante ou antisséptico foi determinada pela análise visual de presença ou ausência do crescimento bacteriano em cada poço ou tubo.

## **RESULTADOS**

### *Confirmação dos isolados bacterianos selecionados*

A identificação das espécies de enterococos realizada em 2009 e os dados encontrados pelo método do MALDI-TOF podem ser observados na Tabela 2. Dos 28 enterococos selecionados da bacterioteca e identificados previamente por provas bioquímicas por Nachtigall *et al.* (2013), nove isolados apresentaram perfil fenotípico diferente dos observados anteriormente e foram reclassificados como: isolado 3 como *E. mundtii*, isolado 4 como *Enterococcus* spp., isolado 7 como *E. faecalis*, isolado 12 como *E. faecalis*, isolado 14 como *E. faecium*, isolado 19 como *E. hirae*, isolado 21 como *E. faecium*, isolado 24 como *E. mundtii* e isolado 26 como *E. faecium*.

Quanto ao perfil de susceptibilidade antimicrobiana (Tabela 2), pode ser observado que houve alterações no perfil de susceptibilidade dos isolados, onde foram encontrados 16 isolados (57,14%) apresentando resistência a pelo menos um dos antibióticos analisados e 12 isolados (42,86%) que não apresentaram resistência a nenhum dos antibióticos testados, em comparação a 2009, onde 14 isolados (50%) apresentavam resistência a pelo menos um dos antibióticos e 14 isolados (50%) eram susceptíveis. Dos 28 isolados, 20 (71,43%) apresentaram alteração no perfil de susceptibilidade antimicrobiana. Cinco isolados (17,9%) não apresentavam resistência a

nenhum dos antibióticos, porém, ao repetir o teste de difusão em disco, passaram a apresentar resistência à eritromicina. Da mesma forma, um isolado (3,6%) passou a apresentar resistência aos antibióticos eritromicina, ciprofloxacino e norfloxacino.

#### *Susceptibilidade dos isolados frente aos desinfetantes e antissépticos em relação a espécie e ponto de isolamento*

A ação dos desinfetantes e antissépticos sobre os 28 isolados testados em relação aos pontos de coleta pode ser observada nas Figuras 2 e 3, respectivamente. Dos oito *E. faecalis* selecionados, os isolados 1, 8 e 15 do ponto 1, os isolados 5, 7, 12, 20 do ponto 3 e o isolado 13 do ponto 4, apresentaram intolerância aos desinfetantes A, C1, C2, C3 e C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2, G3, e aos antissépticos I, J, K, L e M. Todos os *E. faecalis* testados dos pontos 1, 3 e 4 foram tolerantes aos desinfetantes D1 e B (com exceção do isolado 20 do ponto 3, que foi intolerante ao desinfetante B) e ao antisséptico H.

Entre os desinfetantes testados para as seis cepas de *E. casseliflavus* selecionados, observou-se que todos os isolados dos pontos 1 e 2 foram intolerantes aos desinfetantes A, C1, C2, C3 e C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2, G3, e ao antisséptico H. No entanto, os isolados 2, 9, 17, 18 e 22 do ponto 1 e o isolado 10 do ponto 2 apresentaram tolerância aos desinfetantes B e D1 (exceto o isolado 2 do ponto 1, que foi intolerante ao desinfetante D1) e aos antissépticos I, J, K, L, M (com exceção do isolado 22 do ponto 1 que foi intolerante a todos).

Os isolados 3 e 24 de *E. mundtii* do ponto 2, apresentaram tolerância ao desinfetante B e ao antisséptico H. Ainda, todos os isolados testados apresentaram intolerância aos desinfetantes A, C1, C2, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3, e aos antissépticos I, J, K, L e M. O desinfetante D1 se mostrou eficiente contra o isolado 3, porém o isolado 24 apresentou tolerância a este composto.

Dos sete *E. faecium*, o isolado 23 do ponto 1, os isolados 11, 16 e 21 do ponto 2, os isolados 25 e 26 do ponto 4 e o isolado 14 do ponto 5 apresentaram tolerância ao desinfetante B (com exceção do isolado 21 do ponto 3) e D1 (com exceção do isolado 14 do ponto 5) e ao antisséptico H. Todos os *E. faecium* testados dos pontos 1, 2, 4 e 5 foram intolerantes aos desinfetantes A, C1, C2, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3, e aos antissépticos I, J, K, L e M.

Entre os desinfetantes testados para as três cepas de *E. hirae*, o isolado 19 do ponto 3, o isolado 6 do ponto 4 e o isolado 28 do ponto 5 apresentaram tolerância ao desinfetante B (com exceção do isolado 28 do ponto 5) e D1 e ao antisséptico H. Ainda, todos isolados da espécie dos pontos 3, 4 e 5 apresentaram intolerância aos desinfetantes A, C1, C2, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3, e aos antissépticos I, J, K, L e M.

O isolado *Enterococcus* spp. (4) do ponto 3 e o isolado *E. gallinarum* (27) do ponto 4 apresentaram tolerância ao antisséptico H e intolerância aos desinfetantes A, C1, C2, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3, e aos antissépticos I, J, K, L e M. Quanto ao desinfetante D1, o isolado 4 foi intolerante e o isolado 27 foi tolerante.

Como pode ser observado uma elevada frequência de isolados (71,43%; n=20), mesmo que amostrados em pontos distintos do Arroio Dilúvio, apresentaram intolerância aos desinfetantes A, C1, C2, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3, e aos antissépticos I, J, K, L e M, bem como tolerância aos desinfetantes B e D1 e ao antisséptico H. Ainda, não houve uma associação com o perfil de tolerância/intolerâncias aos desinfetantes e/ou antissépticos com o perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos isolados testados.

*CIM dos antissépticos e desinfetantes sobre as cepas de enterococos isolados do Arroio Dilúvio*

Os valores encontrados para a CIM dos 28 isolados quando expostos aos desinfetantes e antissépticos nos tempos 24 e 48 horas variaram de 50% a 1,563% e encontram-se nas Figuras 4 e 5, respectivamente. Em 24 e 48 horas de exposição ao desinfetante A, apenas o isolado 21 apresentou CIM de 3,125%, todos os outros isolados, apresentaram intolerância a menor concentração testada de 1,563% do produto.

O desinfetante B foi testado frente aos 5 isolados que apresentavam tolerância (isolados 20, 21, 26, 28 e 27) e em 24 horas 80% dos isolados apresentaram CIM de 50%, e um isolado (20%) CIM de 25%. Entretanto, em 48 horas de exposição ao desinfetante todos os isolados apresentaram CIM de 50%.

Em relação ao desinfetante C3, em 24 horas de exposição, 19 isolados (67,9%) apresentaram CIM de 50%, sendo eles seis *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), sete *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), dois *E. casseliflavus* (do ponto 1), dois *E. mundtii* (do ponto 2), um *E. hirae* (do ponto 3) e um *E. gallinarum* (do ponto 5). Já dois isolados (7,14%) apresentaram CIM de 25% (os isolados 28 e 10 dos pontos 5 e 2, respectivamente). Os isolados 5 e 7 de *E. faecalis* (do ponto 3) e o isolado 9 de *E. casseliflavus* (do ponto 1) (10,71%) apresentaram CIM de 6,25%. Três isolados (10,71%), os isolados 17 e 18 de *E. casseliflavus* (do ponto 1) e o isolado 19 de *E. hirae* (do ponto 3) apresentaram CIM de 3,125%. Somente um isolado (3,57%) (isolados 4 de *Enterococcus* spp. do ponto 3) apresentou CIM a menor concentração testada (1,563%).

Quando observada a microplaca após 48 horas de exposição ao desinfetante C3, houve um aumento no número de isolados (n=25; 89.29%) apresentando CIM de 50%. Os isolados 1, 2, 3, 6, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 não alteraram o seu CIM após as 48 horas de exposição ao desinfetante C3.

Em 24 horas de exposição ao desinfetante C4 oito isolados (28,57%) foram intolerantes a menor concentração testada 1,563%, sendo eles três *E. faecalis* (dos pontos 1 e 3), três *E. casseliflavus* (do ponto 1), um *E. hirae* (do ponto 3) e um *Enterococcus* spp. (do ponto 4). Os demais isolados (71,43%; n=20) apresentaram CIM de 50%, sendo eles cinco *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), sete *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), três *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), dois *E. mundtii* (do ponto 2), dois *E. hirae* (dos pontos 4 e 5) e um *E. gallinarum* (do ponto 5). No entanto, em 48 horas de exposição ao desinfetante C4, houve uma redução no número de isolados (10,71%; n=3); intolerantes a concentração de 1,563% e aumento no número de isolados (89,29%; n=25;) apresentando CIM de 50%.

O desinfetante D2, em 24 horas de exposição, apresentou dois isolados (7,14%) com CIM de 50%, sendo eles *Enterococcus* spp. (do ponto 3) e *E. faecalis* (do ponto 3) e os demais isolados (92,86%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles sete *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), sete *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), seis *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), dois *E. mundtii* (do ponto 2), três *E. hirae* (dos pontos 3, 4 e 5) e um *E. gallinarum* (do ponto 5). Entretanto, em 48 horas de exposição ao desinfetante D2, houve um aumento no número de isolados (96,43%; n=27); intolerantes a menor concentração testada de 1,563%. O isolado 4 foi o único que alterou o seu CIM para 1,563% após as 48 horas de exposição ao desinfetante D2.

Dos 28 isolados testados em 24 horas de exposição ao desinfetante E1, 21 isolados (75%) apresentaram CIM de 50%, sendo eles seis *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), sete *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), três *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), dois *E. mundtii* (do ponto 2), dois *E. hirae* (dos pontos 4 e 5) e um *E. gallinarum* (do ponto 5) e os demais (25%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles dois *E. faecalis* (do ponto 3), três *E. casseliflavus* (do ponto 1), um *Enterococcus* spp. (do

ponto 3) e um *E. hirae* (do ponto 3). No entanto, na exposição de 48 horas todos os isolados (n=28; 100%) passaram a apresentar CIM de 50%.

Em relação ao desinfetante E2, em 24 horas de exposição, 25 isolados (89,29%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles seis *E. faecalis* (dos pontos 1 e 3), seis *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), seis *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), dois *E. mundtii* (do ponto 2), três *E. hirae* (dos pontos 3, 4 e 5), um *E. gallinarum* (do ponto 5) e um *Enterococcus* spp. (do ponto 3) e os demais (10,71%) apresentaram CIM de 6,25%, sendo eles dois *E. faecalis* (dos pontos 3 e 4) e um *E. faecium* (do ponto 4). Entretanto, quando expostos 48 horas ao desinfetante E2 12 isolados (42,86%) apresentaram CIM de 50%, três isolados (10,71%) CIM de 25%, três isolados (10,71%) CIM de 6,25%, um isolado (3,57%) CIM de 3,125% e nove isolados (32,14%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%.

O desinfetante E3, em 24 horas de exposição, apresentou 16 isolados (57,14%) com CIM de 50%, sendo eles seis *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), três *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), um *E. mundtii* (do ponto 2), cinco *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5) e um *E. hirae* (do ponto 5), quatro isolados (14,29%) apresentaram CIM de 25%, sendo eles um *E. hirae* (do ponto 4), dois *E. faecium* (dos pontos 3 e 4) e um *E. mundtii* (do ponto 2) e apresentou oito isolados (28,57%) intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles um *Enterococcus* spp. (do ponto 3), dois *E. faecalis* (do ponto 3), três *E. casseliflavus* (do ponto 1), um *E. hirae* (do ponto 3) um *E. gallinarum* (do ponto 5). Todavia, em 48 horas de exposição ao desinfetante E3 todos os isolados (n=28; 100%) apresentaram CIM de 50%.

Em 24 horas de exposição ao desinfetante F, 14 isolados (50%) apresentaram CIM de 50%, sendo eles quatro *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), um *E. casseliflavus* (do ponto 1), um *E. mundtii* (do ponto 2), seis *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5) e dois *E. hirae*

(dos pontos 4 e 5), um isolado (3,57%) de *E. faecalis* (do ponto 3) apresentou CIM de 25%, um isolado (3,57%) de *E. mundtii* (do ponto 2) apresentou CIM de 12,5%, um isolado (3,57%) de *E. casseliflavus* (do ponto 1) apresentou CIM de 3,125% e 11 isolados (39,29%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles um *Enterococcus* spp. (do ponto 3), três *E. faecalis* (dos pontos 1 e 3), quatro *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), um *E. faecium* (do ponto 3), um *E. hirae* (do ponto 3) e um *E. gallinarum* (do ponto 5). Entretanto, em 48 horas de exposição ao desinfetante F, 21 isolados (75%) foram resistentes ao composto ativo, um isolado (3,57%) CIM de 25%, um isolado (3,57%) CIM de 6,25%, um isolado (3,57%) CIM de 3,125% e três isolados (10,71%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%.

As cepas 11, 16, 25 e 26 de *E. faecium* em 24 horas de exposição ao desinfetante G2 apresentaram valores de CIM que variam de 50% a 6,25%. Ainda, de todos isolados testados 23 isolados (82,14%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles oito *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), dois *E. faecium* (dos pontos 3 e 5), seis *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), dois *E. mundtii* (do ponto 2), três *E. hirae* (dos pontos 3, 4 e 5), um *E. gallinarum* (do ponto 5) e um *Enterococcus* spp. (do ponto 3). No entanto, na exposição de 48 horas ao desinfetante quatro isolados (14,29%) apresentaram CIM de 50%, dois isolados (7,14%) CIM de 25%, um isolado (3,57%) CIM de 6,25%, um isolado (3,57%) CIM de 3,125% e 20 isolados (71,43%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%.

Em relação ao desinfetante G3, em 24 horas de exposição, seis isolados (21,43%) apresentaram CIM de 50%, sendo eles um *E. faecalis* (do ponto 3) e cinco *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), um isolado (3,57%) de *E. hirae* (do ponto 4) apresentou CIM de 25% e 21 isolados (75%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles sete *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), dois *E. faecium* (dos pontos 3 e

4), seis *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), dois *E. mundtii* (do ponto 2), dois *E. hirae* (dos pontos 3 e 5), um *E. gallinarum* (do ponto 5) e um *Enterococcus* spp. (do ponto 3). Entretanto, em 48 horas de tempo de exposição houve um aumento no número de isolados (n=11; 39,29%) apresentando CIM de 50%, ainda houve redução no número de isolados apresentando a menor concentração de 1,563% (n=16; 57,14%) e um isolado (3,57%) apresentou CIM de 25%.

O antisséptico I em 24 horas de exposição apresentou 15 isolados (53,57%) com CIM de 50%, sendo eles quatro *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), um *E. mundtii* (do ponto 2), dois *E. hirae* (dos pontos 4 e 5), sete *E. faecium* (dos pontos 2, 3 e 4) e um *E. gallinarum* (do ponto 5) e apresentou 13 isolados (46,43%) intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles seis *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), um *Enterococcus* spp. (do ponto 3), quatro *E. faecalis* (dos pontos 1 e 3), um *E. hirae* (do ponto 3) e um *E. mundtii* (do ponto 2). Todavia, na exposição ao desinfetante em 48 horas o número de isolados com CIM de 50% passou a ser 17 (60,71%) e o número de isolados intolerantes a menor concentração testada passou a ser de 11 (39,29%).

Em 24 horas de exposição ao antisséptico J, 11 isolados (39,29%) apresentaram CIM de 50%, sendo eles um *E. mundtii* (do ponto 2), três *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), seis *E. faecium* (dos pontos 2, 3 e 4) e um *E. gallinarum* (do ponto 5), um isolado (3,57%) de *E. faecalis* (do ponto 1) apresentou CIM de 25%, um isolado (3,57%) de *E. faecium* (do ponto 5) apresentou CIM de 12,5% e 15 isolados (53,57%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles seis *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), um *Enterococcus* spp. (do ponto 3), quatro *E. faecalis* (dos pontos 1 e 3), três *E. hirae* (dos pontos 3, 4 e 5) e um *E. mundtii* (do ponto 2). Entretanto, no tempo de exposição ao desinfetante de 48 horas, 16 isolados (57,14%) apresentaram CIM de 50%,

um isolado (3,57%) CIM de 25%, um isolado (3,57%) CIM de 12,5% e dez isolados (35,71%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%.

Em relação ao antisséptico K, em 24 horas de exposição, 26 isolados (92,86%) apresentaram CIM de 50%, sendo eles cinco *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2), um *Enterococcus* spp. (do ponto 3), sete *E. faecalis* (dos pontos 1, 3 e 4), três *E. hirae* (dos pontos 3, 4 e 5), sete *E. faecium* (dos pontos 2, 3, 4 e 5), dois *E. mundtii* (do ponto 2) e um *E. gallinarum* (do ponto 5), um isolado (3,57%) de *E. casseliflavus* (do ponto 1) apresentou CIM de 3,125% e um isolado (3,57%) de *E. faecalis* (do ponto 3) apresentou-se intolerante a menor concentração testada de 1,563%. No entanto, em 48 horas de tempo de exposição houve um aumento no número de isolados (n=27; 96,43%) apresentando CIM de 50% e um isolado (3,57%) apresentou CIM de 3,125%.

A CIM do antisséptico L, em 24 horas de exposição variou de 50% a 1,563%, onde 15 isolados (53,57%) apresentaram CIM de 50% (quatro *E. faecalis*, um *E. casseliflavus*, dois *E. mundtii*, sete *E. faecium* e um *E. gallinarum*), dois isolados (7,14%) com CIM de 25% (*E. faecalis* do ponto 4 e *E. hirae* do ponto 5), dois isolados (7,14%) com CIM de 12,5% (*E. faecalis* do ponto 1 e *E. hirae* do ponto 4) e nove isolados (32,14%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%, sendo eles um *Enterococcus* spp. (do ponto 3), dois *E. faecalis* (do ponto 3), cinco *E. casseliflavus* (dos pontos 1 e 2) e um *E. hirae* (do ponto 3). Entretanto, em 48 horas de tempo de exposição ao antisséptico, houve um aumento no número de isolados (n=24; 85,71%) apresentando CIM de 50%, um isolado (3,57%) apresentou CIM de 25% e três isolados (10,71%) apresentaram-se intolerantes a menor concentração testada de 1,563%.

Não foi possível determinar a CIM dos 28 enterococos frente ao antisséptico M 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 se ter ou não 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.

## **DISCUSSÃO**

Diferenças na identificação de algumas espécies no presente estudo foram observadas após o emprego da técnica de MALDI-TOF. Conforme Wieser et al. (2011), o MALDI-TOF exhibe as deficiências dos testes bioquímicos, pois estes testes convencionais apresentam grande vulnerabilidade ao ganho e perda de função nas vias metabólicas das bactérias, e, desta forma, podem apresentar uma classificação errônea dos isolados. Além disso, o MALDI-TOF não depende das reações metabólicas para fazer a classificação dos microrganismos, realizando a análise dos pesos das proteínas bacterianas. Esse método é capaz de identificar com alta precisão não só o gênero como também a espécie, sem a obrigatoriedade de uma prévia diferenciação morfológica e/ou microscópica. Outra vantagem é que o banco de dados do MALDI-TOF pode ser utilizado tanto para bactérias gram-positivas e gram-negativas, quanto para leveduras, com curto prazo de processamento e identificação, o que se diferencia na totalidade das aplicações das provas bioquímicas.

A mudança no perfil de susceptibilidade antimicrobiana nos isolados que haviam apresentado resistência e foram reclassificados como sensíveis pode ser justificada devido à perda dos plasmídeos que conferiam esta resistência através da ausência da pressão seletiva que era gerada na presença do antibiótico (Allen *et al.* 2017, Andersson & Hughes 2010). Já, os isolados que eram sensíveis e foram reclassificados apresentando resistência,

pode ser justificada devido a técnica utilizada de difusão em disco, a qual faz a medição dos halos em milímetros de forma que os valores podem alterar conforme a visão da pessoa que está medindo (Ostrosky *et al.* 2008).

Acredita-se que todos os isolados foram intolerantes ao desinfetante A porque esta substância possui como composto ativo o quaternário de amônio. Este, possui um mecanismo de ação que age aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática dos microrganismos, permitindo a hidratação das células e seu colapso com perda de nitrogênio e potássio, 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 (Jung, Wen & Sun 2018).

Os desinfetantes D (D1 e D2), E1 e G (G1, G2 e G3) que possuem, respectivamente, como composto ativo cloreto de benzalcônio, cloreto de benzil alquil dimetil amônio/ cloreto de didecil dimetilamônio, 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 isolados tolerantes 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 (Sousa-Silva *et al.* 2018, Pablos *et al.* 2018, Ríos-Castillo *et al.* 2018).

O desinfetante B apresentou isolados que foram tolerantes a seu composto ativo, o qual é de 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.

Os desinfetantes C (C1, C2, C3 e C4), que possuem como composto ativo o hipoclorito de sódio, tiveram todos os isolados testados intolerantes a ele. Este, na presença de microrganismos permite que ocorram diversas reações que conduzem ao efeito antimicrobiano, como, reação de saponificação, neutralização de aminoácidos e reação de cloramina (Valadas 2015), dessa forma são considerados desinfetantes 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 produtos E1, E2 e E3 tem em comum na sua composição o composto ativo linear alquilbenzeno sulfonato de sódio, 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 atacando 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 intolerantes ao desinfetante E2 tornando-o de grande atividade antimicrobiana. Este composto já havia demonstrado o seu potencial antimicrobiano em outro estudo (Peres *et al.* 2008). 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 microrganismos 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.

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. Não foram encontrados outros estudos que demonstrem a atividade antimicrobiana deste composto.

No presente estudo todos os isolados foram tolerantes 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 dentinária. Assim, o

composto ativo em contato com meio de cultura não foi suficiente para se tornar eficiente a ponto de matar as bactérias. Apesar do composto I e do composto J também apresentarem íon de flúor em sua composição eles 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 frente ao antisséptico K foram intolerantes ao composto ativo de timol; eucaliptol; salicilato de metila; mentol. Estas substâncias são classificadas como composto fenólicos e possuem alta capacidade de interação com determinados componentes da placa bacteriana. O mecanismo de ação destes óleos baseia-se no poder de alterar a higidez da parede celular (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 (Vlachojannis 2015, Erriu *et al.* 2013).

O produto L e o produto M apresentaram todos os isolados intolerantes 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 a 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 microrganismo (Zanatta & Rösing 2007), o que o torna um antisséptico com grande atividade antimicrobiana. Este

composto ativo também apresentou efetiva atividade antimicrobiana em outros estudos (Pedrini & Margatho 2003, Bugno *et al.* 2006, Deshpande *et al.* 2018).

O objetivo de fazer o teste da CIM foi para avaliar até que diluições os desinfetantes e os antissépticos poderiam continuar apresentando atividade. Testes de CIM utilizando desinfetantes já foram realizados para outras bactérias (Nuñez & Moretton 2007, Jung, Wen & Sun 2018), no entanto não foram encontrados dados de CIM utilizando antissépticos frente a outras bactérias.

Em conclusão, os resultados deste trabalho demonstraram que os desinfetantes e antissépticos testados, comercializados no Rio Grande do Sul, em sua grande maioria mostraram-se eficientes quanto a atividade antimicrobiana dos compostos ativos presentes nas suas formulações na sua forma concentrada frente a bactérias ambientais, isoladas dos diferentes pontos do 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.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a minha família por toda paciência, todo amor, apoio incondicional e incentivo ao longo da minha vida e que continuarão até o final ao meu lado. Meus agradecimentos aos meus queridos amigos, companheiros de trabalhos e amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

A minha orientadora Ana Paula Guedes Frazzon, agradeço com todo carinho pelo suporte em tudo que precisei no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos que possibilitaram a execução deste trabalho. Também, a todos do Laboratório

222-C, agradeço o acolhimento e toda a ajuda que me foi dada durante a realização deste projeto.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha vida e que me proporcionaram o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação de caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por toda dedicação que tiveram comigo, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender.

A todos que de alguma forma me auxiliaram a chegar neste momento tão importante de minha vida os meus eternos agradecimentos.

## **REFERÊNCIAS**

ALLEN, R. C., ENGELSTÄDTER, J., BONHOEFFER, S., MCDONALD, B. A. & HALL, A. R. 2017. Reversing resistance: different routes and common themes across pathogens. *Proc. R. Soc. B*, 284(1863): 1-10.

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.

ANDERSSON, D. I. & HUGHES, D. 2010. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?. *Nature*, 8: 260-271.

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](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. Enxaguatórios 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.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – twelve-six edition. 2016. Wayne, PA. CLSI document 100S. 251 p.

DESHPANDE, A., FOX, J., WONG, K. K., CADNUM, J. L., SANKAR, T., JENCSON, 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.

GILMORE, M.S., LEBRETON, F. & SCHAIK, W. van.. 2013. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. *Curr Opin Microbiol*, 16: 10-6.

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.
- 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.
- LJALG, 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., HELLWIG, E. & KLIMEK, J. 2012. Fluorides – Mode of Action and Recommendations for Use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 122: 1030–1036.
- MATTOS, I. L. de, SHIRAISHI, 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.
- 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*, Porto Alegre, v. 14, n.1, p. 26-31, jan./mar.

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.

OSTROSKY, E. A., MIZUMOTO, M. K., LIMA, M. E. L., KANEKO, T. M., NISHIKAWA, S. O. & FREITAS, B. R. 2008. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18 (2): 3001-307.

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*, Londrina, Londrina, v. 36, n. 1, p.291-300, ago.

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.

PORTO ALEGRE. DEPARTAMENTO DE ESGOTOS PLUVIAIS. 2018. O Arroio Dilúvio. Disponível em: <[http://www2.portoalegre.rs.gov.br/dep/default.php?p\\_secao=71](http://www2.portoalegre.rs.gov.br/dep/default.php?p_secao=71)>. Acesso em: 11 jun. 2018.

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.

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](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.

SAUGET, M., VALOT, B. BERTRAND, X. & HOCQUET D. 2017. Can MALDI-TOF Mass Spectrometry Reasonably Type Bacteria? *Trends in Microbiology*, 25(6): 447-455.

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.

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.

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.

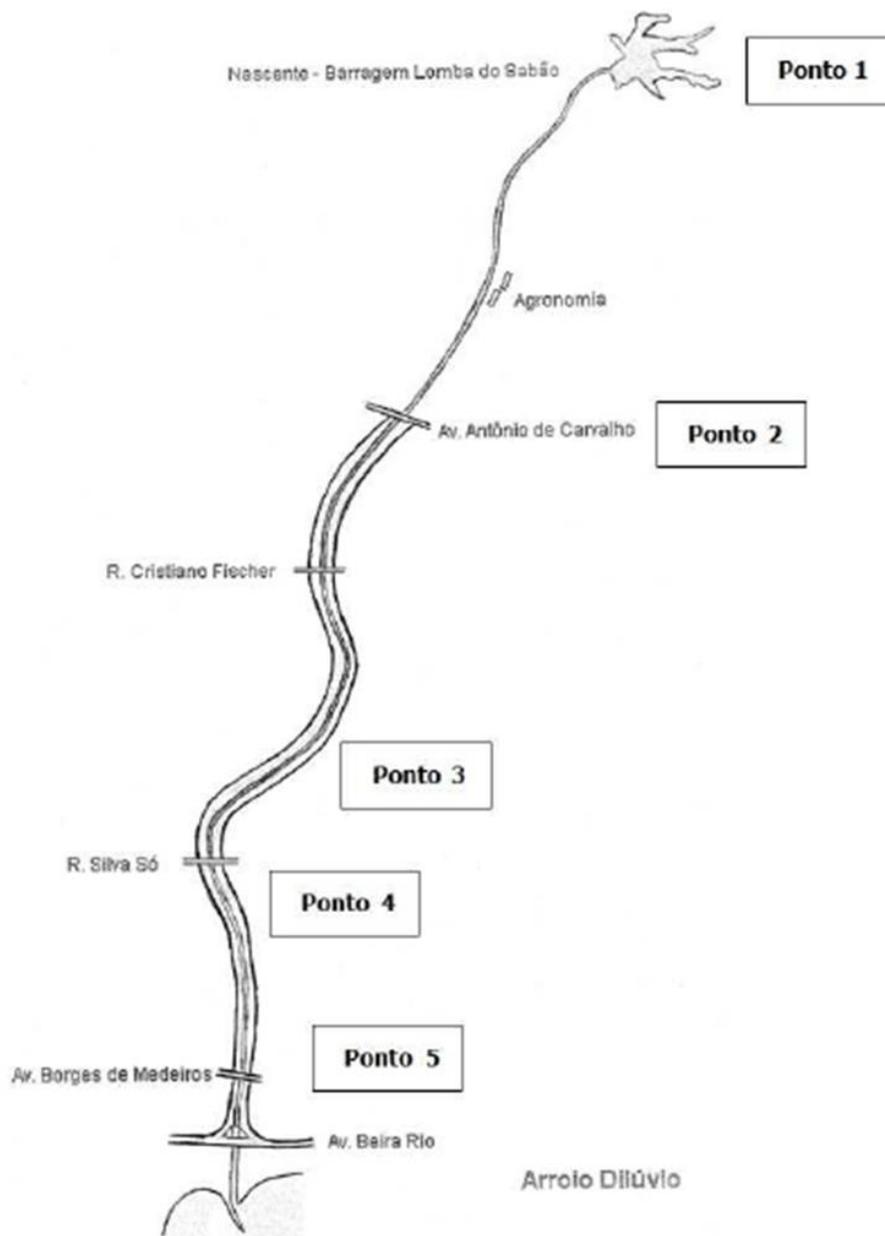
VLACHOJANNIS, C., CHRUBASIK-HAUSMANN, S., HELLWIG, E. & AL-AHMAD, A. (2015). A Preliminary Investigation on the Antimicrobial Activity of Listerine®, Its Components, and of Mixtures Thereof. *Phytotherapy Research*, 29(10), 1590–1594.

WIESER, A., SCHNEIDER, L., JUNG, J. & SCHUBER, S. 2011. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol*, 93: 965-974.

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 supragengival. *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.



**Figura 1.** Mapa mostrando o percurso do Arroio Dilúvio localizado na cidade de Porto Alegre e os pontos de coleta dos isolados durante o período do ano de 2009 conforme Nachtigall et al. (2013). **Ponto 1:** nascente do arroio, na represa da Lomba do Sabão; **Ponto 2:** esquina das Avenidas Ipiranga com Antônio de Carvalho; **Ponto 3:** esquina da Avenida Ipiranga com a Rua Guilherme Alves; **Ponto 4:** esquina da Avenida Ipiranga com a Rua Ramiro Barcelos; **Ponto 5:** esquina das Avenidas Ipiranga com Borges de Medeiros.

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

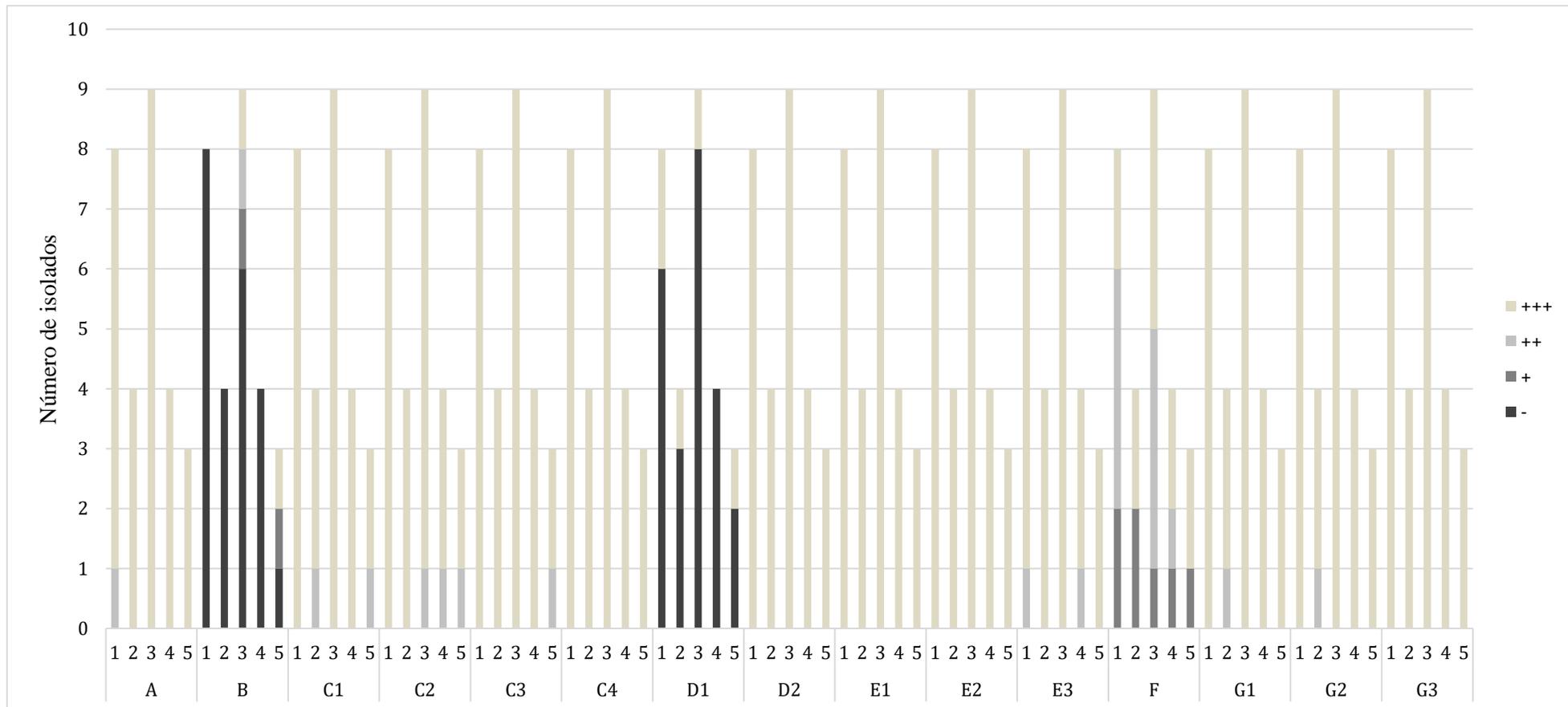
	<b>Produto</b>	<b>Princípio Ativo</b>	<b>Valor (R\$)</b>
<b>DESINFETANTES</b>	A	Quaternário de amônio 0,46%	9,98
	B	Nonil fenol etoxilado 9,5 mols de óxido de eteno	8,49
	C1	Hipoclorito de Sódio 2,88%	10,98
	C2	Hipoclorito de sódio - teor cloro ativo 2-2,5%	2,90
	C3	Hipoclorito de sódio - teor cloro 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	
<b>ANTISSEPTICOS</b>	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; Eucaliptol; Salicilato De Metila; Mentol	17,75
	L	Gluconato de Clorhexidina a 0,12%	27,90
	M	Digliconato de clorexidina 1% dissolvido álcool	16,14

**Tabela 2.** Espécies de *Enterococcus* selecionados e seu perfil de resistência aos antibióticos.

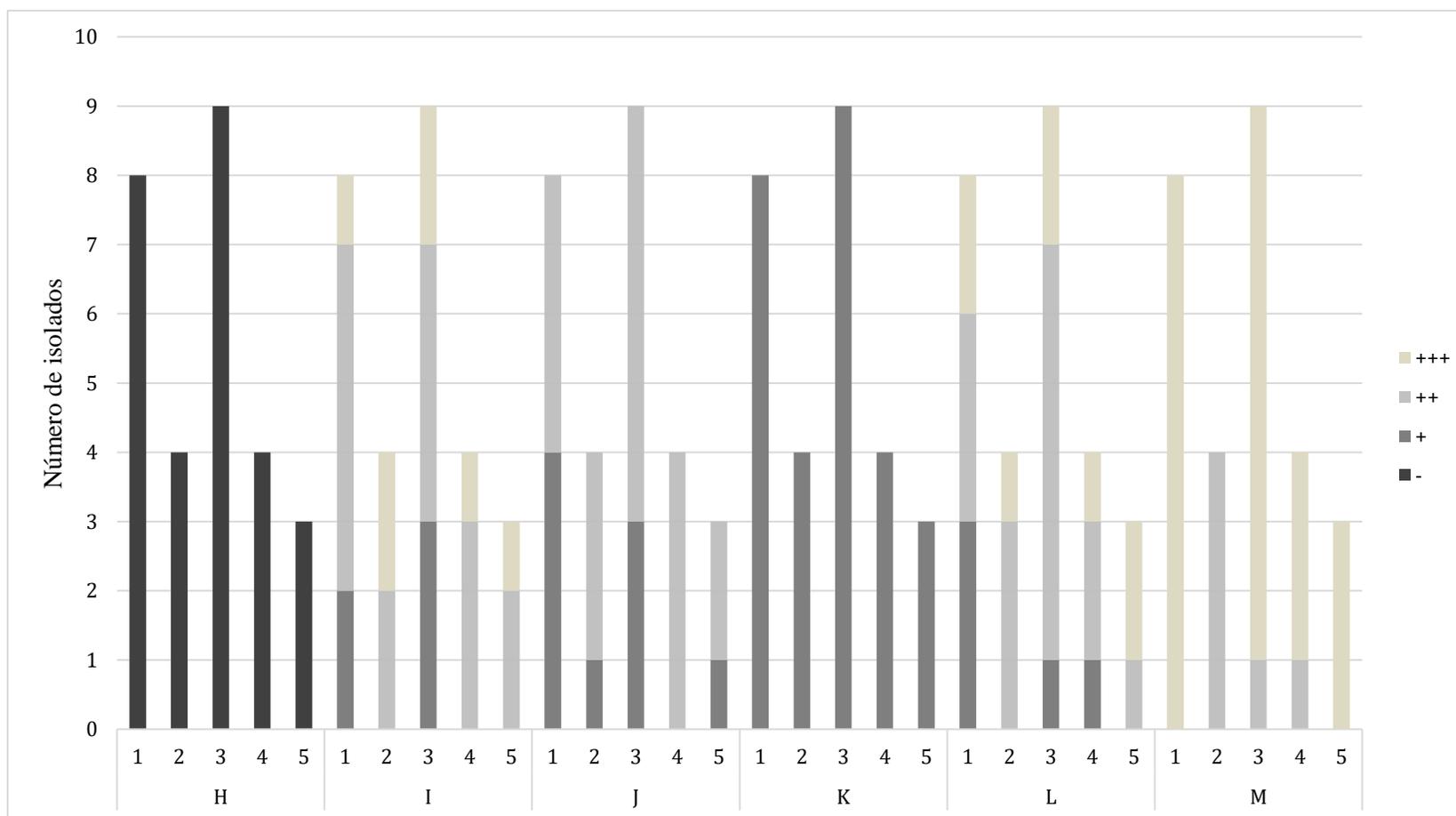
Ponto de Coleta	Isolado	Espécie	Perfil de resistência <sup>1</sup>
1	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
	2	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	-
	8	<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>b</sup>	-
	9	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Eri
	15	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
	17	<i>Enterococcus casseliflavus</i> <sup>c</sup>	Eri
	18	<i>Enterococcus casseliflavus</i> <sup>c</sup>	Eri
	22	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Eri
2	3	<i>Enterococcus mundtii</i> <sup>a</sup>	-
	10	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Eri - Cip – Nor
	23	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri -Cip – Nit
	24	<i>Enterococcus mundtii</i> <sup>ab</sup>	-
3	4	<i>Enterococcus</i> spp. <sup>a</sup>	Eri <sup>c</sup>
	5	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
	7	<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>ac</sup>	Eri - Cip – Nor
	11	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri - Cip – Nit
	12	<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>a</sup>	Eri
	16	<i>Enterococcus faecium</i>	-
	19	<i>Enterococcus hirae</i> <sup>a</sup>	-
	20	<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>c</sup>	Eri
	21	<i>Enterococcus faecium</i> <sup>c</sup>	Eri

4	6	<i>Enterococcus hirae</i>	-
	13	<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>b</sup>	-
	25	<i>Enterococcus faecium</i>	Eri - Cip – Nor
	26	<i>Enterococcus faecium</i> <sup>a</sup>	Eri – Cip
5	14	<i>Enterococcus faecium</i> <sup>a</sup>	Eri
	27	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eri - Cip – Nor
	28	<i>Enterococcus hirae</i> <sup>b</sup>	-

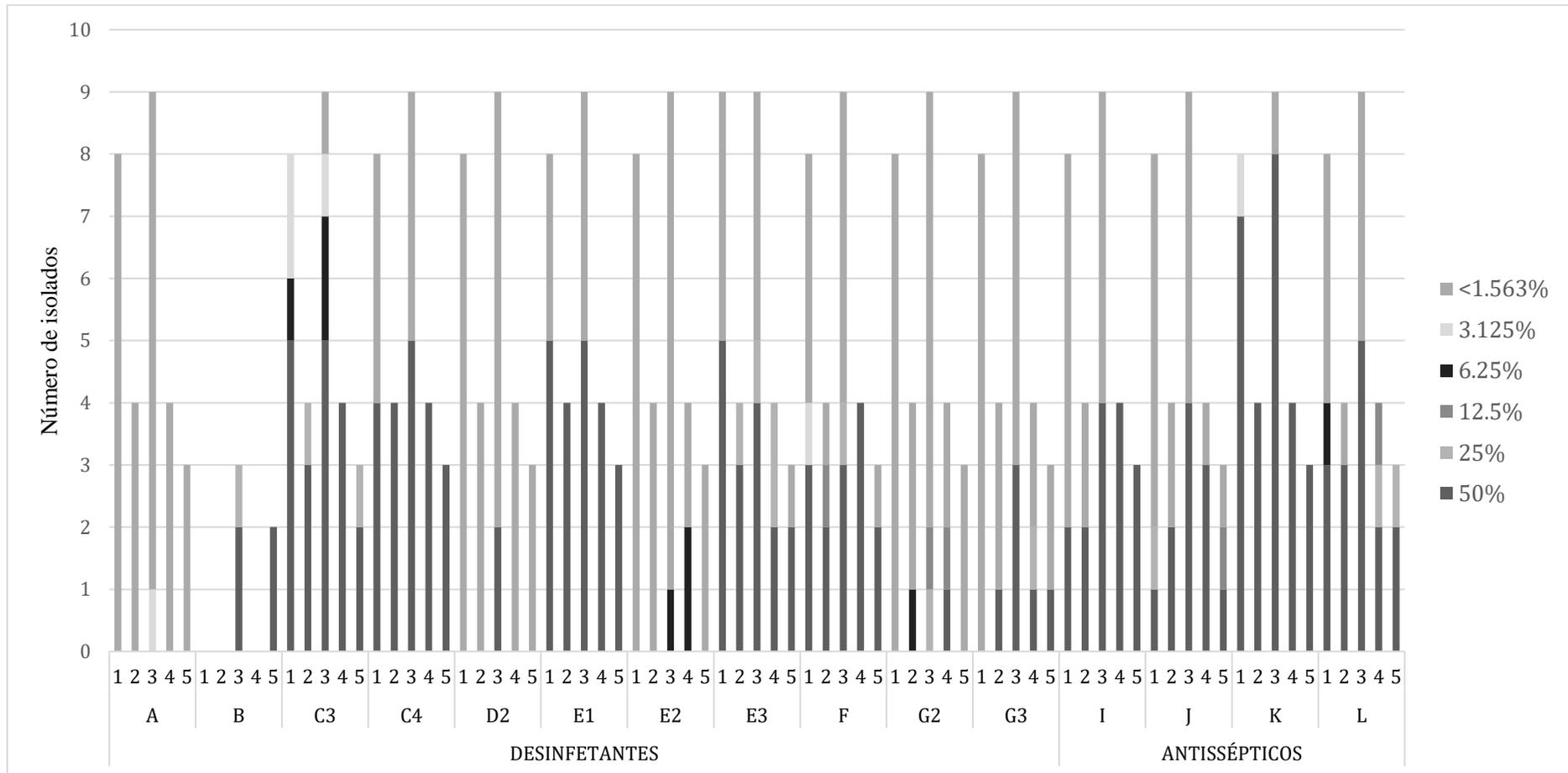
1. Antibióticos Eri: Eritomicina; Cip: Ciprofloxacino; Nor: Norfloxacino; Nit: Nitrofurantoína. a: Nova classificação da espécie após reidentificação por MALDI-TOF; b: Bactérias que apresentavam perfil de susceptibilidade aos antibióticos anteriormente e agora apresentam perfil de resistência; c: Bactérias que apresentavam perfil de resistência aos antibióticos anteriormente e agora apresentam perfil de susceptibilidade.



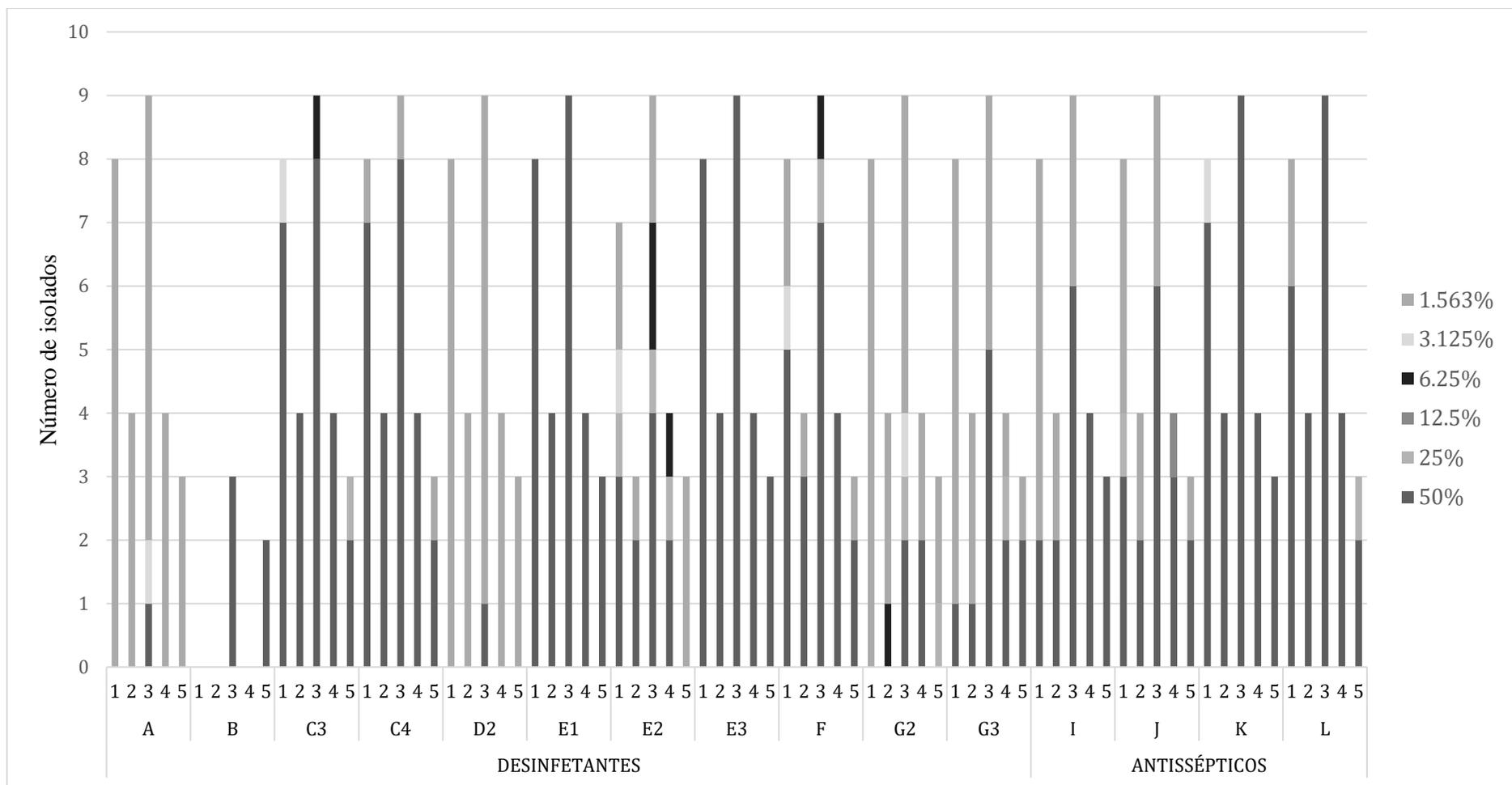
**Figura 2.** Perfil de sensibilidade dos *Enterococcus* spp. isolados de diferentes pontos do Arroio Dilúvio frente aos desinfetantes testados (A, B, C1, C2, C3, C4, D1, D2, E1, E2, E3, F, G1, G2 e G3) pelo método de difusão em disco. Padrão empregado para a classificação do perfil de sensibilidade: (-) não sensível = para diâmetros menores do que 8 mm; (+) 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.** Perfil de sensibilidade dos *Enterococcus* spp. 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 4.** Valores das concentrações inibitória mínima dos *Enterococcus* spp. isolados de diferentes pontos do Arroio Diluvio frente aos desinfetantes (A, B, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G2 e G3) e antissépticos (I, J, K e L), por 24 h de exposição. Os números de 1-5 definem os pontos de coleta.



**Figura 5.** Valores das concentrações inibitória mínima dos *Enterococcus* spp. isolados de diferentes pontos do Arrio Diluvio frente aos desinfetantes (A, B, C3, C4, D2, E1, E2, E3, F, G2 e G3) e antissépticos (I, J, K e L), por 48 h de exposição. Os números de 1-5 definem os pontos de coleta.