Artigo original

Avaliação da atividade antimicrobiana do álcool 70% em superfícies contaminadas

Evaluation of antimicrobial activity of 70% alcohol on contaminated surfaces

Evaluación de la actividad antimicrobiana del alcohol 70% en superficies contaminadas

Gisele Aparecida Bernardi¹, Tania Carla Moura Costa¹.

¹Centro Universitário Autônomo do Brasil, Curitiba, PR, Brasil.

Submissão: 16/10/2017

Aceite: 06/11/2017

gisele.bernardi@expresso.pr.gov.br

RESUMO

Justificativa e objetivos: O conhecimento da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes frente a microrganismos potencialmente patogênicos é essencial para o estabelecimento de estratégias em relação ao uso racional destes produtos nos serviços de saúde. O presente trabalho consistiu em analisar a eficácia do álcool 70% em superfícies contaminadas e quantificar as Unidades Formadoras de Colônias por cm² (UFC/cm²) de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* adicionados propositalmente em superfícies utilizadas em serviços de saúde como fórmica e granito. **Métodos:** Analisaram-se superfícies contaminadas com microrganismos, e pós-desinfecção com álcool 70%. As amostras foram coletadas utilizando placas de superfície Rodac® para a contagem das UFC/cm². **Resultados:** *S.aureus* foi o microrganismo mais resistente à desinfecção (média de 0,18 UFC/cm² em fórmica e 0,94 UFC/cm² em granito). O granito foi a superfície de mais difícil remoção dos microrganismos. O álcool mostrou-se estável até 21 dias após aberto. **Conclusão:** Sugere-se que em serviços de saúde seja elaborado esquema de limpeza antes da utilização de desinfetante, sendo o álcool uma boa opção principalmente em superfície de fórmica.

DESCRITORES: Álcool. Bactérias. Desinfecção

ABSTRACT

Background and objectives: Knowledge of the antimicrobial activity of antiseptics and disinfectants against potentially pathogenic microorganisms is essential for the establishment of strategies regarding the rational use of these products in the health services. The present work consisted in analyzing the efficacy of 70% alcohol on contaminated surfaces and quantifying the Colony-Forming Unit per cm² (CFU/cm²) of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* added purposely onto surfaces used in health services, such as formica and granite. **Methods:** Surfaces contaminated with microorganisms were analyzed, as were the post disinfection with 70% alcohol. Samples were collected using Rodac® contact plates for counting UFC/cm². **Results:** *S.aureus* was the most resistant microorganism to disinfection (average of 0.18 UFC/cm² on formica and 0.94 UFC/cm² on granite). Granite was the most difficult surface to remove microorganisms from. Alcohol was stable for up to 21 days after opening. **Conclusion:** It is suggested that in health services a cleaning scheme should be developed prior to the use of disinfectants, being alcohol a good option especially on formica surfaces.

KEYWORDS: Ethanol. Bacteria. Disinfection.

RESUMEN

Justificación y objetivos: El conocimiento de la actividad antimicrobiana de antisépticos y desinfectantes frente a microorganismos potencialmente patógenos es esencial para el establecimiento de estrategias en relación al uso racional de estos productos en los servicios de salud. El presente trabajo consistió en analizar la eficacia del 70% de alcohol en superficies contaminadas y cuantificar la Unidad de formación de colonias por cm² (CFU / cm²) de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* añadidas deliberadamente en superficies utilizadas en servicios de salud, como formica y granito. **Métodos:** Se analizaron superficies contaminadas con microorganismos, y después de la desinfección con alcohol 70%. Las muestras fueron recolectadas utilizando placas de superficie Rodac® para el conteo de las UFC / cm². **Resultados:** *S.aureus* fue el microorganismo más resistente a la desinfección (media de 0,18 UFC / cm² en fórmica y 0,94 UFC / cm² en granito). El granito fue la superficie de más difícil remoción de los microorganismos. El alcohol se mostró estable hasta 21 días después de abierto. **Conclusión:** Se sugiere que en servicios de salud se elabora un esquema de limpieza antes de la utilización de desinfectante, siendo el alcohol una buena opción principalmente en superficie de fórmica.

DESCRIPTORES: Alcohol. Bacterias. desinfección

INTRODUÇÃO

O controle da transmissão de doenças infecciosas é uma preocupação antiga, principalmente entre as profissões da área da saúde. Infecções associadas aos cuidados de saúde ocorrem por causa da interação entre pacientes, uso de antibióticos, profissionais e contaminação do ambiente hospitalar. Recente atenção tem sido dada à importância de superfícies do ambiente hospitalar como fonte de infecção cruzada.^{1,2}

A limpeza e desinfecção efetiva de superfícies são componentes chaves nas estratégias de controle de infecção sendo essencial para que a cadeia de contaminação cruzada seja quebrada. A recomendação clássica, consiste na limpeza prévia do local com o uso de água e sabão neutro, seguida de desinfecção com um agente microbicida, sendo o álcool a 70% (p/v) frequentemente utilizado.³⁻⁵

O nível de desinfecção que pode ser alcançado por um desinfetante é determinado tanto pela sua capacidade de desnaturar proteínas e inativar enzimas, quanto pela rapidez em eliminar microorganismos: nível baixo, eliminação da maioria das bactérias, alguns vírus e fungos, sem a inativação de microorganismos mais resistentes; nível intermediário, inativação das formas vegetativas de bactérias, da maioria dos vírus e dos fungos; ou nível alto, destruição de todos os microorganismos, com exceção dos esporulados.⁶

O álcool etílico 70% é considerado desinfetante de nível intermediário, segundo classificação do *Center of Diseases Control and Prevention* (CDC). Sua ação destrói tanto

pela desnaturação protéica, quanto pela interferência no metabolismo microbiano.^{5,7}

O álcool possui propriedades microbicidas reconhecidamente eficazes para eliminar os microrganismos mais frequentemente envolvidos em infecções, sendo imprescindível na realização de ações simples de prevenção como a antisepsia das mãos, a desinfecção do ambiente e de artigos médico-hospitalares. Além disso, é adquirido com baixo custo, possui fácil aplicabilidade e toxicidade reduzida, produz efeito em aproximadamente 30 segundos, tem boa aceitação pelos usuários e é de fácil acesso à população.⁵⁻⁷

O álcool 70% é o ideal para atividade antimicrobiana quando comparado ao 96°GL, pois seu grau de hidratação é mais eficiente comparada a outras concentrações alcoólicas, e a desnaturação das proteínas requer água. O etanol puro tem atividade desidratante, por isso tem menos efetividade.^{5,7,8}

Algumas das limitações do seu uso está relacionada a evaporação rápida e por ser altamente inflamável. Não deve ser aplicado para procedimentos de longa duração, pois não apresentam ação residual, exceto quando associados a produtos químicos que prolonguem sua atividade antimicrobiana.^{5,7,8}

O desenvolvimento de resistência bacteriana representa um constante desafio em todo o mundo. A presença de microrganismos resistentes a antissépticos e desinfetantes pode ser resultado do uso indiscriminado destes produtos podendo, em alguns casos contribuir para a resistência a antimicrobianos.^{9,10}

De modo geral, o risco de uma resistência adquirida aos agentes biocidas é considerado pequeno, desde que os antissépticos sejam usados corretamente. Ao mesmo tempo, vários surtos têm sido associados a soluções antissépticas contaminadas.¹¹

Mesmo com o aumento do número de microrganismos multirresistentes em ambiente hospitalar e em outros serviços de saúde, os antissépticos e desinfetantes ainda continuam desempenhando um papel importante no controle das infecções hospitalares, atuando de forma a minimizar a disseminação de microrganismos.¹⁰

O conhecimento da atividade antimicrobiana destes produtos frente a microrganismos potencialmente patogênicos é essencial para o estabelecimento de estratégias em relação ao uso racional de antissépticos e desinfetantes nos serviços de saúde.^{9,10}

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do álcool etílico hidratado 70% em superfícies de mobílias normalmente utilizadas em serviços de

saúde propositalmente contaminadas com diferentes cepas de bactérias frequentemente associadas a infecções hospitalares.

MÉTODOS

Os testes foram realizados no primeiro trimestre de 2017 no Centro Universitário Unibrasil. Trata-se de um estudo quantitativo cuja pesquisa experimental foi realizada no laboratório de microbiologia.

Foram utilizados para o experimento superfícies de fórmica e granito (peças de aproximadamente 300 cm²); 500 mL de álcool etílico hidratado 70% na forma líquida obtido comercialmente que foi transferido para pissete estéril; cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Klebsiella pneumoniae*(ATCC 13883).¹²

As cepas foram semeadas nos seguintes meios de cultura: ágar sangue para *S. aureus* e ágar MacConkey para *P.aeruginosa* e *K. pneumoniae*. Cada cepa foi suspensa em 10mL de solução salina 0,9% esterilizada, até atingir a escala número 1 (um) de Mcfarland - o que corresponde a aproximadamente 3x10⁹ bactérias por mL; e homogeneizadas por 30 segundos em agitador de tubos, tipo vórtex.¹¹

As superfícies de fórmica e granito passaram pelo seguinte processo de desinfecção antes e depois de cada experimento: descontaminação com hipoclorito de sódio (2 a 2,5%), lavagem com água e detergente líquido com auxílio de uma esponja e exposição a luz ultravioleta em câmara de fluxo laminar por 15 minutos.

Depois da desinfecção, uma placa de superfície Rodac® (*replicated organisms detection and counting*) que mede a carga microbiana com tamanho de 60x10 mm contendo ágar TSA (*trypticasesoy agar*) foi utilizada como controle mantendo-a em contato com a superfície durante 30 segundos.^{11,13}

As superfícies foram contaminadas com 1 mL de cada suspensão separadamente e espalhadas com auxílio de alças de Drigalsky. Trinta minutos após a contaminação foi coletado o grupo controle (sem desinfecção) com placas Rodac® contendo ágar TSA, deixadas em contato com a superfície por 30 segundos. Logo após cada superfície foi submetida ao processo de desinfecção com álcool 70% com auxílio de um pissete, que foi espalhado com gaze estéril.¹¹

Após dez minutos, foram feitas novas coletas em cada superfície para cada microrganismo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas em estufa. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas e feitos esfregaços corados pelo

método de Gram para confirmação da morfologia da cepa utilizada.¹¹

O mesmo procedimento foi realizado no dia da abertura do álcool 70%, 7º e 21º dias. Todos os testes foram feitos em duplicata.¹⁰ Os dados obtidos foram comparados a outros trabalhos.

RESULTADOS

As placas-controle coletadas antes e após contaminação mostraram-se negativas e com crescimento abundante (UFC incontáveis), respectivamente.

A tabela 1 apresenta a média das contagens de unidades formadoras de colônias por placa de superfície RODAC® após desinfecção das superfícies de fórmica e granito com álcool 70% previamente contaminadas com cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*.

Tabela 1 - Quantidade de unidades formadoras de colônias por placa de superfície (Rodac®) após desinfecção com álcool 70%.

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Fórmica			Granito	
Dias	Nº de colônias	UFC/cm ²	Nº de colônias	UFC/cm ²
1º	3,5	0,14	91,5	3,66
7º	0	0	2,5	0,10
21º	1	0,4	70	2,8

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Fórmica			Granito	
Dias	Nº de colônias	UFC/cm ²	Nº de colônias	UFC/cm ²
1º	0,5	0,02	0,5	0,02
7º	0	0	0	0
21º	0,5	0,02	63	2,52

<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
Fórmica			Granito	
Dias	Nº de colônias	UFC/cm ²	Nº de colônias	UFC/cm ²
1º	0	0	0,5	0,02
7º	0,5	0,02	5	2,5
21º	1	0,04	5,5	0,22

Ao comparar as UFC das diferentes espécies bacterianas, observou-se que a cepa mais resistente a desinfecção foi o *S. aureus* (0,14; 0 e 0,4 UFC/cm² em fórmica e 3,66; 0,10 e 2,8 UFC/cm² em granito). *P. aeruginosa* apresentou boa sensibilidade a desinfecção (em 0,02; 0 e 0,02 UFC/cm² para fórmica e 0,02; 0 e 2,52 UFC/cm² para granito) enquanto a bactéria mais sensível a desinfecção foi *K. pneumoniae* (0,02; 0 e 0,04 UFC/cm² em fórmica

e 0,02; 0 e 2,52 UFC/cm² em granito).

Em se tratando das superfícies testadas, observou-se que para as três espécies o granito foi a superfície de mais difícil desinfecção (0,14 e 0,04 UFC/CM² em fórmica e 3,66, 0,10 e 2,8 UFC/cm² em granito para *S. aureus*, 0,02 em ambas as amostras em fórmica e 0,02 e 2,52 UFC/ cm² em granito para *P. aeruginosa*, 0,02 e 0,04 UFC/ cm² em fórmica e 0,02, 2,5 e 0,22 UFC/ cm² em granito para *K. pneumoniae*).

Quanto à estabilidade do álcool após a abertura do frasco, não se observou diferença significativa até 21 dias. A leitura do teor alcoólico com alcoômetro de *Gay Lussac* foi realizada em todos os dias das análises não mostrando variação.

DISCUSSÃO

A maior resistência do *S. aureus* à desinfecção com álcool 70% observada no presente estudo também foi observada por Bambace em trabalho semelhante com as mesmas cepas.¹¹ A resistência de *S. aureus* à desinfecção também foi observada com hipoclorito de sódio por Almatroudi, porém novos estudos são sugeridos com inclusão de cepas clínicas e *S. aureus* resistente a metilina (MRSA).²

A hipótese de que o álcool seja menos efetivo para *S. aureus* pode estar relacionada à sua parede celular, uma vez que bactérias Gram positivas possuem em sua parede celular uma espessa camada de peptidoglicano o que pode dificultar a penetração do álcool.¹⁴

K. pneumoniae pode ocasionar sérias infecções principalmente em pacientes imunocomprometidos. As infecções por este microrganismo têm se tornado mais preocupante nos últimos anos, devido à aquisição de resistência a carbapenêmicos, tornando-as mais difíceis de tratar. Além disso, a incidência de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos está aumentando anualmente.¹⁵ Em se tratando de uma bactéria de grande preocupação em infectologia, no presente trabalho se mostrou bastante sensível a desinfecção com álcool 70% permitindo-se acreditar que disseminações dessas infecções podem ser facilmente controladas com simples cuidados de desinfecção e anti-sepsia.

Por outro lado, um estudo com cepas de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos isoladas de amostras clínicas detectou resultado variado quanto a sensibilidade ao álcool 70% mostrando que apenas 52% das cepas foram inativadas. Isso mostra que mesmo se tratando da mesma bactéria, a sensibilidade a desinfetantes pode variar de acordo com a cepa devido aos mecanismos de resistência que elas são capazes de desenvolver ou adquirir ao longo do tempo.¹⁵ É comum o relato de *P. aeruginosa* resistentes a anti-sépticos contaminando soluções de clorexidina e sabonetes líquidos tornando-se um problema no

controle de infecções por este microrganismo.^{11,12} No presente trabalho, esta bactéria obteve boa sensibilidade ao álcool, indo de encontro ao estudo de Bambace. Salvage também observou maior sensibilidade da *P. aeruginosa* entre as cepas analisadas, entre elas *S. aureus*, às formulações alcoólicas analisadas.^{12,16}

Na avaliação das diferentes superfícies artificialmente contaminadas no presente trabalho a eficácia na desinfecção da fórmica também foi observada por Bambace frente a diferentes microrganismos.¹¹ A maior dificuldade de desinfecção do granito pode ser justificada por imperfeições que podem ocorrer neste tipo de superfície. É de conhecimento que agentes químicos causam abrasão e aumentam a porosidade de pedras tornando-as impróprias para uso em longo prazo. Carelli detectou imperfeições grandes o suficiente para reter microrganismos com dimensões de 0,5 a 5,0 µm mesmo antes da utilização de agentes químicos como detergentes e sanitizantes através de microtopografias de superfícies de granito e mármore.¹⁷

Por outro lado, Zarpellon não observou nenhuma aderência em granito ao avaliar a sobrevivência de *S. aureus* em superfícies hospitalares indicando este tipo de material para ser utilizado em mobílias ou superfícies hospitalares.¹⁸

A ineficiente desinfecção de superfícies leva a problemas relacionados à persistência. Muitos trabalhos comprovam que microrganismos são capazes de sobreviver por longo tempo em superfícies. Em revisão sobre o assunto, Kramer não observou diferença óbvia na sobrevivência entre cepas de *S. aureus* multirresistentes e sensíveis a antimicrobianos.¹⁹ Outro achado foi que bactérias Gram negativas foram descritas com maior persistência que bactérias Gram positivas sendo que condições de umidade melhoram a persistência para a maioria das bactérias. Apenas *S. aureus* demonstrou persistência por longo tempo em baixa umidade.¹⁹

A questão da persistência em superfícies oportuniza a formação de biofilmes bacterianos levando a maior dificuldade de remoção com detergentes e desinfetantes. A presença de bactérias multirresistentes, incluindo *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), que são protegidas dentro de biofilmes pode representar um importante mecanismo para promover a prolongada permanência de patógenos no ambiente hospitalar. Como consequência, contatos com profissionais de saúde e pacientes com ambiente contaminado pode resultar na transmissão ou infecção por patógenos.¹⁸

Os requisitos de desinfecção visam reduzir no mínimo 5 escalas logarítmicas do inóculo inicial.^{4,16} O inóculo utilizado no experimento foi em torno de 10000 UFC/cm². Para

que se tivessem resultados satisfatórios, os resultados não poderiam ultrapassar 10 UFC/cm² após desinfecção. Em todas as análises a redução foi superior mesmo no 21^o dia após aberto.

Reis ao analisar a estabilidade química do álcool, detectou variações quase desprezíveis (0,84%) da concentração dos princípios ativos durante o período de 21 dias.¹⁰

Salvage avaliou a aplicabilidade de formas menos concentradas de desinfetantes à base de álcool para limpeza obtendo excelentes resultados concluindo que as soluções podem ser armazenadas e usadas de semanas a meses após o preparo.¹⁶

Trabalhos semelhantes mostram que quando comparado a outros desinfetantes, o álcool é menos eficaz, porém ele mostrou reduções bastante significativas de microrganismos do inoculo inicial.

Embora não aprovado pela *Center of Diseases Control and Prevention* (CDC) como desinfetante, o presente trabalho demonstra que o álcool 70% pode ser utilizado para este fim.^{4,12}

A eficiência da sanitização é impactada pelo calor, textura e natureza química do material a ser tratado, área da superfície, topografia e geometria, presença e natureza dos inativadores orgânicos e/ou inorgânicos na superfície e a carga microbiana.¹⁶

Diferentes condições de temperatura e umidade podem resultar em importantes variações na sobrevivência de bactérias permitindo-se concluir que os resultados podem não ser generalizados em outras condições.¹⁸

As variações encontradas nas análises feitas em granito são justificadas pela não uniformidade do granito uma vez que o local exato de contato das placas Rodac[®] não foi sempre o mesmo.¹¹

Outra explicação para resultados não proporcionais é o preparo do inoculo de acordo com a escala de McFarland de forma visual que permite apenas estimar o número de microrganismos, podendo ter sido preparados inoculo diferentes nas análises.

Sugere-se que em serviços de saúde seja elaborado um esquema de limpeza. Mudanças simples no processo de higienização podem diminuir ainda mais a adesão de microrganismos em superfícies.

Em relação à superfície ideal para utilizar em serviços de saúde a fórmica mostrou-se mais eficientemente susceptível à desinfecção. Observa-se que atualmente as bancadas em granito vêm sendo preferidas às bancadas de fórmicas. Pelo presente trabalho, esta escolha não se mostrou a mais adequada em se tratando de disseminação de infecções. Porém, devido aos escassos estudos de aderência de bactérias a materiais usados em superfícies hospitalares, mais estudos são necessários para entender mais a fundo porque algumas

superfícies são menos favoráveis que outras.¹⁸

Embora o álcool não tenha eliminado por completo os microrganismos, o trabalho mostrou que houve uma redução satisfatória, aliado a boa estabilidade após aberto, mostrando a importância da sua utilização no controle de infecções.

Mesmo com o aumento do número de microrganismos multirresistentes em ambientes hospitalares e em outros serviços de saúde, os antissépticos e desinfetantes ainda continuam desempenhando papel importante no controle das infecções hospitalares, atuando de forma a minimizar a disseminação de microrganismos.

REFERÊNCIAS

1. Venturelli AC, Torres FC, Almeida-Pedrin RR, et al. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. *Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial* 2009; 14 (4): 43-52. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-54192009000400005>
2. Almatroudi A, Gosbell IB, Hu H, et al. Staphylococcus aureus dry-surface biofilms are not killed by sodium hypochlorite: implications for infection control. *J Hosp Infect* 2016; 93 (3): 263-270. doi: 10.1016/j.jhin.2016.03.020
3. Hendry E, Conway B, Worthington T. Digluconate and Isopropyl Alcohol Biocide Formulation. *Int J Mol Sci* 2012; 13 (1): 14016-14025. doi: 10.3390/ijms131114016
4. Graziano UM, Graziano KU, Pinto FMG, et al. Eficácia da desinfecção com álcool 70% (p/v) de superfícies contaminadas sem limpeza prévia [Internet]. *Rev Latino-Am Enferm* 2013 [citado em 2017 jul 25] 21 (2): [6 telas]. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rlae/v21n2/pt_0104-1169-rlae-21-02-0618.pdf
5. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies [Internet]. Brasília: ANVISA; 2012 [citado 2017 set 29]. 118 p. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/seguranca-do-paciente-em-servicos-de-saude-limpeza-e-desinfeccao-de-superficies>
6. Santos AAM, Verotti MP, Sanmartin JA, et al. Importância do Álcool no Controle de Infecções em Serviços de Saúde. *Rev Adm Saude* [Internet] 2002 [citado 2017 set 29]; 4 (16): 1- 12. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/controle_alcool.pdf
7. Center of Diseases Control and Prevention (CDC). Guideline for Environmental Infection

- Control in HealthCare Facilities: Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR. [Internet] 2003 [citado 2017 set 29]; 52(RR-10):1-48. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/enviro/guide.htm>
8. Tiyo R, Torquato AS, Jacques FO, et al. Determinação do álcool 70% utilizado para antissepsia em drogarias e farmácias de Maringá-Paraná [Internet]. Rev Bras Farm 2009 [citado 2017 jul 25]; 90 (3): 231-235. Disponível em: http://www.rbfarma.org.br/files/pag_231a235_determinacao_alcool_245.pdf
 9. Reichel M, Schlicht A, Ostermeyer C, et al. Efficacy of surface disinfectant cleaners against emerging highly resistant gram-negative bacteria. BMC Infect Dis 2014; 14: 292. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-292>
 10. Reis LM dos, Rabello BR, Ross C, et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde [Internet]. Rev Bras Enferm 2011 [citado 2017 jul 25]; 64 (5): 870-5. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/reben/v64n5/a11v64n5.pdf>
 11. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine is it time to establish an ‘antiseptic stewardship’ initiative?. J Hosp Infect 2016; 94 (3): 213–227. doi: [10.1016/j.jhin.2016.08.018](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.08.018)
 12. Bambace AMJ, Barros EJA, Santos SSF, et al. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies [Internet]. Rev biocienc Taubaté 2003 [citado 2017 jul 25]; 9 (2): 73-81. Disponível em: <http://periodicos.unitau.br/ojs-2.2/index.php/biociencias/article/viewFile/108/84>
 13. Daneau G, Nduwamahoro E, Fissette K, et al. Use of RODAC plates to measure containment of Mycobacterium tuberculosis in a Class IIB biosafety cabinet during routine operations. Int j Myco 2016; 5 (2): 148-154. doi: [10.1016/j.ijmyco.2016.01.003](https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.01.003)
 14. Trabulsi LR. Microbiologia, 4nd. São Paulo: Atheneu; 2005. p. 11-12.
 15. Guo W, Shan K, Xu B, et al. Determining the resistance of Carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* to common disinfectants and elucidating the underlying resistance mechanisms. Pathog Glob Health 2015; 109 (4): 184-192. doi: [10.1179/2047773215Y.0000000022](https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000022)
 16. Salvage R, Hull CM, Kelly DE, et al. Use of 70% alcohol for the routine removal of microbial hard surface bioburden in life science cleanrooms. Future Microbiol 2014; 9 (10): 1123–1130. doi: [10.2217/FMB.14.73](https://doi.org/10.2217/FMB.14.73)
 17. Careli RT, Andrade NJ, Soares NF, et al. The adherence of *Pseudomonas fluorescens* to marble, granite, synthetic polymers, and stainless. Cienc Tecnol Aliment 2009; 29 (1): 171-176. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000100026>

18. Zarpellon MN, Gales AC, Sasaki AL, et al. Survival of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* on hospital surfaces. J Hosp Infect 2015; 90 (4): 347 – 350. doi: [10.1016/j.jhin.2015.04.005](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.04.005)
19. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect Dis 2006; 6:130. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-130>