

## ARTIGO ORIGINAL

### Efeito da atividade bactericida de três desinfetantes sobre *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA)

#### *Effect of bactericidal activity of three disinfectants on methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*

#### *Efecto de la actividad bactericida de tres desinfectantes sobre Staphylococcus aureus resistentes a meticilina (MRSA)*

Cesar Augusto Marchionatti Avancini,<sup>1</sup> Jane Mari Corrêa Both<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Recebido em: 18/04/2016 / Aceito em: 17/01/2017 / Disponível online: 08/04/2017

[cesar.avancini@ufrgs.br](mailto:cesar.avancini@ufrgs.br)

## RESUMO

**Justificativa e Objetivos:** Os *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) estão envolvidos em infecções nosocomiais (HA-MRSA), em infecções adquiridas na comunidade (CA-MRSA), nos animais de companhia e em animais para produção de alimentos (LA-MRSA). Na conduta para o controle da sua transmissão, a ação sobre os agentes causais presentes nas superfícies dos ambientes exige atenção, sendo decisiva a escolha de desinfetantes e anti-sépticos. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade bactericida, sobre 21 isolados MRSA e bactéria controle, dos compostos químicos hipoclorito de sódio (HS), iodóforo (I) e quaternário de amônio (QAC - cloreto de cetil trimetilamônio), usados rotineiramente em ambientes hospitalares e de produção e saúde animal, bem como testar hipótese da possibilidade de resistência cruzada entre antibióticos e desinfetantes. **Métodos:** Pelo teste de suspensão, usando densidade populacional inicial dos inóculos em 10<sup>7</sup> UFC/mL, avaliou-se a atividade bactericida de quatro diluições sucessivas dos desinfetantes, nos tempos de contato de 5, 15 e 30 minutos. **Resultados:** Observou-se que os desinfetantes nas concentrações HS 25 ppm, I 12,5 ppm e QAC 125 ppm, aos cinco minutos de contato, foram suficientes para inativar a bactéria de referência *S. aureus* ATCC 6538 e todos os MRSA. **Conclusão:** Controlados os fatores que interferem na eficácia dos desinfetantes, o hipoclorito de sódio, o iodóforo e o quaternário de amônio são adequados para controlar os MRSA nas fontes de infecção. Nos isolados resistentes ao antibiótico meticilina não foi observada relação de resistência com estes compostos químicos.

**Descritores:** *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina. Desinfetantes. Higiene.

## ABSTRACT

**Background and Objectives:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) can cause hospital-acquired infections (HA-MRSA), community-acquired ones (CA-MRSA), and infections transmitted by pets and animals raised for food production (livestock-acquired or LA-MRSA). The conduct to control the transmission of these diseases requires a careful action against the causative agents on surfaces in the environment and the choice of disinfectants and antiseptics is crucial. The objective of the present study was to evaluate the effect of the bactericidal activity of sodium hypochlorite (SH), iodophor (I) and a quaternary ammonium compound (QAC), cetyl-trimethyl-ammonium chloride, commonly used in hospital and animal production settings, on 21 MRSA isolates and a control bacterium, and test the hypothesis of cross resistance of antibiotics and disinfectants. **Methods:** The bactericidal activity of four successive dilutions of the disinfectants was evaluated through the suspension test, using an initial inoculum population density of 10<sup>7</sup> CFU/mL, after contact times of 5, 15 and 30 minutes. **Results:** Five minutes of contact of SH 25 ppm, I 12.5 ppm and QAC 125 ppm sufficed to inactivate the reference bacterium *S. aureus* ATCC 6538 and all MRSA. **Conclusions:** Once the factors that influence the efficiency of disinfectants are controlled, sodium hypo-

R Epidemiol Control Infec, Santa Cruz do Sul, 7(2):85-89, 2017. [ISSN 2238-3360]

Please cite this article in press as: AVANCINI, Cesar Augusto Marchionatti; BOTH, Jane Mari Corrêa. Efeito da atividade bactericida de três desinfetantes sobre *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA). Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, Santa Cruz do Sul, v. 7, n. 2, maio 2017. ISSN 2238-3360. Disponível em: <<https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/view/7460/5962>>. Acesso em: 27 out. 2017. doi:<http://dx.doi.org/10.17058/reci.v7i2.7460>.



chlorite, iodophor and the quaternary ammonium compound are suitable for controlling MRSA in the sources of infection. No resistance relationship was observed in the methicillin-resistant isolates with these substances.

**Descriptors:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Disinfectants. Hygiene.

## RESUMEN

**Antecedentes y objetivos:** Los *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (MRSA) están involucrados en infecciones nosocomiales (HA-MRSA), infecciones adquiridas en la comunidad (CA-MRSA), en mascotas y animales destinados a producción de alimentos (LA-MRSA). En la conducta para el control de su transmisión, la acción sobre los agentes causantes presentes en las superficies de los ambientes exige atención, resultando decisiva la elección de desinfectantes y antisépticos. Se objetivó en este estudio evaluar la actividad bactericida, sobre 21 aislados MRSA y bacteria control, de los compuestos químicos hipoclorito de sodio (HS), yodóforo (I) y amonio cuaternario (QAC – cloruro de cetil trimetil amonio), usados rutinariamente en ámbitos hospitalarios y en los de producción y salud animal, así como comprobar la hipótesis de la posibilidad de resistencia cruzada entre antibióticos y desinfectantes. **Métodos:** Por test de suspensión, usando densidad poblacional inicial de inoculaciones de 107 UFC/mL, se evaluó la actividad de cuatro diluciones sucesivas de desinfectantes, en tiempos de contacto de 5, 15 y 30 minutos. **Resultados:** Se observó que los desinfectantes en concentraciones HS 25 ppm, I 12.5 ppm y QAC 125 ppm, a los cinco minutos de contacto, fueron suficientes para inactivar la bacteria de referencia *S. aureus* ATCC 6538 y todos los MRSA. **Conclusión:** Controlados los factores que interfieren en la eficacia de los desinfectantes, los tres compuestos químicos son adecuados para controlar los MRSA en las fuentes de infección, y que en los aislados resistentes al antibiótico metilina no fue observada relación de resistencia con ellos.

**Descriptores:** *Staphylococcus aureus* Resistente a Metilina; Desinfectantes; Higiene.

## INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus* é bactéria espécie não específica de importância no cenário das doenças transmissíveis devido à frequência em que aparece envolvido como agente causal de infecções, tanto no homem quanto em animais. Cerca de 70% dos *S. aureus* isolados de infecções nosocomiais em hospitais brasileiros são resistentes a metilina (MRSA) e sua relevância está no fato de apresentar resistência aos antibióticos beta-lactâmicos e frequentemente a diversas outras classes de antimicrobianos.<sup>1</sup> A transmissão de MRSA, antes observado somente em hospitais (HA-MRSA), passou a ser detectado também na comunidade (CA-MRSA) e recentemente entre animais de companhia e animais para produção de alimentos (LA-MRSA), além das evidências de transferência horizontal de MRSA entre o homem e os animais.<sup>2,3</sup>

Considerando-se a contaminação ambiental como fonte para a infecção, a higiene (limpeza e desinfecção) é necessária medida na prevenção e controle de enfermidades. Desinfecção é definida como o processo que elimina microrganismos patogênicos, com exceção de esporos, em superfícies inanimadas. A antisepsia tem a mesma finalidade, porém é procedimento executado sobre tecidos vivos. Fatores que afetam a eficácia da desinfecção incluem limpeza prévia da superfície, carga orgânica presente, tipo e nível de contaminação microbiana, a concentração e o tempo de exposição, presença de biofilmes, temperatura e pH e, assim como acontece o fenômeno de resistência dos microrganismos aos antibióticos, não existe microrganismo que eventualmente não possa apresentar resistência aos desinfetantes. Neste sentido, tem sido alertado que o uso indiscriminado dos antibióticos e a pressão seletiva ambiental produzida por antissépticos, desinfetantes e conservantes tem gerado

uma resposta de sobrevivência nos microrganismos.<sup>4</sup>

A resistência pode ocorrer devido a fatores intrínsecos do organismo, pelo aumento de tolerância ou mesmo resistência adquirida por alteração genética. Algumas bactérias podem desenvolver a tolerância, que é a competência genético-bioquímica de apenas diminuir o efeito bactericida do antimicrobiano, sem alterar seu efeito bacteriostático, fenômeno já descrito frente desinfetantes. Também existem evidências de ocorrer resistência cruzada (cross-resistência), que é quando diferentes agentes antimicrobianos (grupos antibióticos e compostos desinfetantes, por exemplo) atacam o mesmo alvo, iniciando uma via comum de morte celular, ou compartilham uma rota comum de acesso a suas respectivas metas. Ou a co-resistência, que ocorre quando os genes que especificam os fenótipos resistentes estão localizados em conjunto num elemento genético móvel, tal como um plasmídeo, transposon, ou integron. O resultado final é o mesmo: o desenvolvimento de resistência a um composto antibacteriano pode ser acompanhado pelo aparecimento de resistência a outro composto.<sup>5-7</sup>

Se, por um lado, já existe significativa quantidade de estudos monitorando a ação dos antibióticos sobre os microrganismos, por outro a investigação verificando a atividade dos desinfetantes sobre esses organismos, ou a suscetibilidade destes organismos frente à esses compostos, não tem acompanhado o mesmo ritmo, principalmente no contexto de saúde em nosso país. Neste sentido, buscando instrumentalizar/auxiliar a escolha de desinfetante/antisséptico como recurso sanitário na prevenção ou controle de MRSA, o objetivo deste trabalho foi avaliar/monitorar a atividade bactericida dos compostos químicos hipoclorito de sódio, iodóforo e um quaternário de amônio os quais são utilizados rotineiramente em ambientes nosocomiais.

## MÉTODOS

### Isolados bacterianos

A bactéria controle foi o *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Utilizou-se 21 cepas de *S. aureus* resistentes a metilina (MRSA). Estavam mantidas congeladas (-20°C), e a reativação foi realizada por esgotamento em placas de Ágar Baird-Parker (OXOID®).

Os isolados foram obtidos pelo programa de vigilância para detectar MRSA em fossas nasais de adultos internados, no período entre 2009 e 2011, na unidade de tratamento intensivo em hospital geral da cidade de Porto Alegre/RS. Para definir a resistência a metilina, foi usado o teste de disco-difusão segundo técnica do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Para confirmar a resistência a metilina foi realizado PCR (reação em cadeia da polimerase) para detectar a presença do gene *mecA*.<sup>8</sup>

### Desinfetantes

Foram testados três compostos químicos desinfetantes, cada um em quatro diluições sucessivas com fator de diluição constante de 0,5. O hipoclorito de sódio (HS) nas concentrações de 200 ppm (= 0,02%), 100 ppm, 50 ppm e 25 ppm, o iodóforo (I) a 100 ppm (= 0,01%), 50 ppm, 25 ppm e 12,5 ppm e o cloreto de cetil trimetilamônio (QAC - quaternário de amônio) 1000 ppm (= 0,1%), 500 ppm, 250 ppm e 125 ppm. Os produtos químicos foram adquiridos em forma pura (Delaware® -Importadora Química Delaware Ltda) e possuíam laudos técnicos. Para o hipoclorito de sódio foi também verificada a concentração do cloro livre.

A utilização de quatro concentrações deveu-se a observações empíricas de erros de manipulação na diluição, resultando em subconcentrações, bem como ao fato da desinfecção ser procedimento executado após a limpeza, o que frequentemente implica em rediluição devido à presença de água na superfície.

### Teste da avaliação da atividade desinfetante

Foi utilizado o teste de suspensão quantitativo para avaliar atividade bactericida de desinfetantes e anti-sépticos químicos, conforme o protocolo do comitê europeu de padronização - BS EN 1040:2006.<sup>9</sup>

Os microrganismos foram submetidos aos desinfetantes nos tempos de contato cinco, 15 e 30 minutos em uma densidade populacional das suspensões bacterianas de aproximadamente 10<sup>7</sup> UFC/mL (padronizado por escala Mc Farland de 0,5).

## RESULTADOS

O *S. aureus* ATCC 6538, assim como todos os 21 isolados MRSA (Tabela 1), foram inativados pelos desinfetantes nas menores concentrações e tempo de contato.

## DISCUSSÃO

Para interpretação dos resultados, o protocolo que descreve a técnica determina que para ser demonstrada a eficácia do composto com ação desinfetante é necessária a redução da densidade populacional do inóculo em, no mínimo, cinco unidades logarítmicas após tempo de contato com o desinfetante. Diante da constatação de que os três compostos químicos cumpriram esse requisito, tendo inativado todos os inóculos nas menores concentrações e tempo de contato confrontados pode-se, então, considerá-los como desinfetantes adequados para controle dos MRSA.

Comparando os resultados deste experimento com os de outros, no confronto com o hipoclorito de sódio resultados semelhantes foram relatados como quando uma amostra MRSA isolada de caso de infecção hospitalar foi inativada com 9 ppm, portanto em concentração até menor que a aplicada neste trabalho.<sup>9-12</sup> Outros relatam que cinco amostras de MRSA, cepa padrão *S. aureus*

**Tabela 1.** Distribuição por gênero para infecção e colonização por EPC subtipos NDM e OXA48 em hospital público de Porto Alegre/RS em 2013.

Concentração do desinfetante	Tempo de contato	HS ci 200 ppm	I ci 100ppm	QAC ci 1000 ppm
100%	5min	21	21	21
	15min	21	21	21
	30min	21	21	21
50%	5min	21	21	21
	15min	21	21	21
	30min	21	21	21
25%	5min	21	21	21
	15min	21	21	21
	30min	21	21	21
12,5%	5min	21	21	21
	15min	21	21	21
	30min	21	21	21

ci= concentração inicial

ATCC 6538 bem como MRSA de referência (ATCC 33591) também foram inativadas por esse composto desinfetante.<sup>11,12</sup> Em relação ao confronto com o iodóforo, autores descreveram a inativação de *S. aureus* metilcilina resistente e metilcilina sensível (MSSA), bem como da cepa ATCC 6538, o que igualmente observou-se neste trabalho.<sup>13</sup>

Também semelhantes foram os resultados do confronto de um composto quaternário de amônio (cloreto de benzalcônio) sobre 74 isolados MRSA (79,73% deles com gene *qacA/B*), sendo todos inativados.<sup>14</sup> Assim como 94 isolados clínicos (38 HA-MRSA, 25 CA-MRSA, 25 MSSA, 6 VISA) submetidos a desinfetante contendo uma mistura de quaternário de amônio (cloreto de alquil dimetil benzil amônio e cloreto de dodecil dimetil amônio) foram inativados na concentração de uso indicada.<sup>15</sup>

Há relato sobre terem sido necessárias concentrações de hipoclorito de sódio, de quaternário de amônio e de iodóforo maiores para inativar isolados MRSA do que *S. aureus* ATCC 6538, o que não verificamos nos nossos resultados.<sup>16</sup> Também existem relatos sobre diferentes suscetibilidades entre isolados de MRSA frente a compostos de quaternário de amônio. No entanto, as concentrações de confronto com os isolados foram muito menores que as concentrações de uso indicadas para a rotina prática, e bem abaixo de todas as usadas neste trabalho.<sup>17,18</sup>

Posto que todos os isolados possuem como característica comum serem resistentes a metilcilina, e que os grupos químicos desinfetantes testados são de uso rotineiro em ambiente hospitalar, outra questão que o trabalho permite especular diz respeito a busca de evidências sobre a possibilidade da ocorrência de resistência concomitante (resistência cruzada, co-resistência ou aumento de tolerância) entre os compostos com ação antimicrobiana desinfetante e os antimicrobianos antibióticos.<sup>19,20</sup> Afirmando a relação de resistência concomitante, pesquisadores compararam a atividade de diversos compostos antissépticos - derivado do quaternário de amônio (cetrimida), propamidina, clorexidina, aminoacridina e hexaclorofeno frente 30 cepas de MGRSA [*S. aureus* resistente a gentamicina e a metilcilina (25 isolados no St Vincent's Hospital, Melbourne e 5 no Royal Free Hospital, London)] e 21 cepas de *S. aureus* sensíveis a metilcilina e a gentamicina (isoladas no Royal Free Hospital). A conclusão foi a de que a concentração inibitória mínima para as cepas MGRSA foi significativamente maior do que para as cepas sensíveis, exceção feita com o hexaclorofeno.<sup>21</sup> O que pode-se discutir com os resultados desses autores, no que se refere ao grupo químico quaternário de amônio, é que por ser ter sido usado como antisséptico a concentração (MIC 14,3 µg/mL) foi praticamente 10 vezes menor que a testada neste experimento.

Alguns relatos apresentam-se como antagonísticos, como quando da avaliação sobre a sensibilidade de 10 cepas MRSA isoladas de pacientes em surto de infecção ocorrido em hospital. Confrontadas com iodo-povidona, hipoclorito de sódio, acetato de clorexidina e gluconato de clorexidina, a concentração inibitória mínima foi comparada com a de *S. aureus* Oxford NCTC 6571. O resultado encontrado foi descrito como a de uma inesperada baixa

sensibilidade ao iodo-povidona e ao hipoclorito de sódio da cepa padrão e de uma resistência ainda maior, porém tendo variado de intensidade, entre as cepas isoladas. Foi informado também uma menor sensibilidade dos isolados frente a clorexidina, porém com pouca variação entre eles.<sup>22</sup> Esse resultado foi contestado por outros autores, pois em ensaio realizado com igualmente 10 MRSA e com a mesma cepa de referência concluíram que MRSA é tão sensível ao iodo-povidona quanto outras culturas de *S. aureus*, e atribuíram o equívoco ao fato de que o composto antisséptico foi inativado pelo caldo nutriente usado, o que teria confundido o ponto (*end-point*) de inibição.<sup>23</sup>

Evidências concordando parcialmente com a possibilidade de concomitância de resistência foram obtidas com 21 cepas de bactérias resistentes e 6 sensíveis a antibióticos. Mesmo não tendo sido observada relação de resistência entre bactérias sensíveis a antibióticos quando testadas frente os desinfetantes hipoclorito de sódio, gluraldeído, formaldeído associado com quaternário de amônio, quaternário de amônio (cloreto de alquil dimetil amônio e uma associação de fenóis sintéticos), foi verificado que na análise dos *Staphylococcus*, como um grupo, representadas por quatro metilcilina-resistentes (três *S. aureus* e um *S. haemolyticus*) apresentaram resistência principalmente ao quaternário de amônio em baixa concentração, enquanto que todos os antibiótico-sensíveis não apresentaram. Os autores do trabalho concluíram que os desinfetantes mais adequados para uso nas superfícies hospitalares foram o grupo químico dos aldeídos e o hipoclorito de sódio, e que os do grupo quaternário de amônio devem ser usados em concentrações elevadas.<sup>11</sup>

Evidências afirmado que o desenvolvimento da resistência aos antibióticos não parece estar correlacionada com o aumento da resistência a desinfetantes foram encontradas em investigações que avaliaram a resistência cruzada tanto em bactérias isoladas em ambientes hospitalares, quanto em ambientes de manipulação de alimentos de origem animal. Este último, inclusive, tendo induzindo a tolerância de bactéria à desinfetantes. Mas informam que não foi possível observar co-seleção de resistência a antibióticos de importância em uso clínico.<sup>24,25</sup>

Como conclusões deste trabalho, baseado nas evidências obtidas, nas concentrações testadas e controlados os fatores que podem afetar a eficácia de desinfetantes, é possível indicar os compostos químicos hipoclorito de sódio, iodóforo e cloreto de cetil trimetilamônio (quaternário de amônio) para serem usados quando frente a situações-problema sanitários envolvendo MRSA. Também, que os resultados obtidos nesta investigação, assim como nos de outras acima citadas, mostraram não existir evidência da concomitância de resistência dos *S. aureus* resistentes a metilcilina e resistência com os desinfetantes avaliados.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Cícero Dias - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), pela cedência dos isolados.

## REFERÊNCIAS

- Roy S, Hossain MA, Paul SK, et al. Antimicrobial Susceptibility Pattern of Methicillin-Resistance *Staphylococcus aureus* from Different Tertiary Care Hospitals Including Mymensingh Medical College Hospital. *Mymensingh Med J* 2016;25(3):450-7.
- Cuny C, Wieler LH, Witte W. Livestock-Associated MRSA: the impact on humans. *Antibiotics* 2015;4(4):521-43. doi: 10.3390/antibiotics4040521
- Couto N, Belas A, Kadlec K, et al. Clonal diversity, virulence patterns and antimicrobial and biocide susceptibility among human, animal and environmental MRSA in Portugal. *J Antimicrob Chemother* 2015;70(9):2483-7. doi: 10.1093/jac/dkv141
- Riazi S, Matthews KR. Failure of foodborne pathogens to develop resistance to sanitizers following repeated exposure to common sanitizers. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2011;65(2):374-8. doi: 10.1016/j.ibiod.2010.12.001
- Buffet-Bataillon S, Tattevin P, Bonnaure-Mallet M, et al. Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds—a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2012;39(5):381-9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.01.011
- Chapman JS. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *Int Biodeterior Biodegradation* 2003;51(4):271-6.
- Riazi S, Matthews KR. Failure of foodborne pathogens to develop resistance to sanitizers following repeated exposure to common sanitizers. *Int Biodeterior Biodegradation* 2011;65(2):374-8.
- Caierão J, Berquo L, Dias C et al. Decrease in the incidence of mupirocin resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in carriers from an intensive care unit. *American Journal of Infection Control - AJIC* 2006;34(1):6-9. doi: 10.1016/j.ajic.2005.08.006
- Chojcka A, Wiercińska O, Röhm-Rodowald E, et al. Glucoprotamin antimicrobial activity against selected standard antibiotic-resistant bacteria and reference strains used in the assessment of disinfection efficacy. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2015;66(3):281-8.
- Svidzinski AE, Posseto I, Pádua RAF de, et al. Eficiência do ácido peracético no controle de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente. *Ciênc Cuid Saúde* 2007;6(3):312-8. doi: 10.4025/ciencucsaude.v6i3.3991
- Guimarães MA, Tibana A, Nunes MP, et al. Disinfectant and antibiotic activities: a comparative analysis in Brazilian hospital bacterial isolates. *Braz J Microbiol* 2000;31(3):193-9. doi: 10.1590/S1517-83822000000300008
- Altieri KT, Sanitá PS, Machado AL, et al. Effectiveness of two disinfectant solutions and microwave irradiation in disinfecting complete dentures contaminated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JADA* 2012;143(3):270-7. doi: 10.14219/jada.archive.2012.0152
- Zhang Y, Liu X, Zhu L, et al. Study on the resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to iodophor and chlorhexidine. (*Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi = Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi*) [Internet]. *Chinese J Epidemiol* 2004 [citado em: 2016 março 15];25(3):248-50. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/med/15200941>.
- Miyazaki NHT. Análise molecular associada ao estudo dos genes de resistência em *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina. 2006. [Tese]. Rio de Janeiro (RJ): Instituto Nacional de Controle de Qualidade e Saúde, Fundação Osvaldo Cruz; 2006. Disponível em: <http://arca.icict.fiocruz.br/handle/icict/8247>.
- Smith K, Gemmell CG, Hunter IS. The association between biocide tolerance and the presence or absence of *qac* genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA isolates. *Antimicrob. Chemother* 2008;61(1):78-84. doi: 10.1093/jac/dkm395
- Reynaldo MB, Flores MB, Caetano JAV, et al. Eficácia de algunos biocidas contra estafilococos hospitalarios sensibles y resistentes a la metilicina en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev Panam Salud Publica* 2004;16(3):187-192.
- Wan MT, Chou CC. Class 1 integrons and the antiseptic resistance gene (*qacEΔ1*) in municipal and swine slaughterhouse wastewater treatment plants and wastewater—associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Environ Res Public Health* 2015;12(6):6249-60. doi: 10.3390/ijerph120606249
- Slifierz MJ, Friendship RM, Weese JS. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in commercial swine herds is associated with disinfectant and zinc usage. *Applied and Environmental Microbiology* 2015;81(8):2690-5. doi: 10.1128/AEM.00036-15
- Wales AD, Davies RH. Co-selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and Its relevance to foodborne pathogens. *Antibiotics* 2015;4(4):567-604. doi: 10.3390/antibiotics4040567
- Russell AD. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect Dis* 2003;3(12):794-803. doi: 10.1016/S1473-3099(03)00833-8
- Brumfitt W, Dixon S, Hamilton-Miller JMT. Resistance to antiseptics in methicillin and gentamicin resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet* 1985;325(8443):1442-3.
- Mycop G. Methicillin/antiseptic-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet* 1985;326(8461):949-950.
- Lacey RW, Barr KW, Catto AJ. Antiseptic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet* 1985; 326(8467):1307-8.
- Condell O, Iversen C, Cooney S, et al. Efficacy of biocides used in the modern food industry to control salmonella enterica, and links between biocide tolerance and resistance to clinically relevant antimicrobial compounds. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(9):3087-97. doi: 10.1128/AEM.07534-11
- Couto N, Belas A, Tilley P, et al. Biocide and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant staphylococcal isolates from horses. *Veterinary Microbiology* 2013;166(1-2):299-303. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.05.011