

# **Susceptibilidade a antibióticos em isolados bacterianos do ambiente em lares de 3ª idade**

**Andreia Inês Alves Amaro**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para  
obtenção do Grau de Mestre em Biotecnologia*

**Orientado por**

Maria da Conceição Fernandes

Maria José Félix Saavedra

Bragança

2011

## AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras, a Doutora Conceição Fernandes e a Doutora Maria José Saavedra, em muito especial a Doutora Conceição pelo apoio, orientação e dedicação que sempre demonstrou. Obrigada por tudo o que fez pela minha evolução e conhecimento.

À Carla Dias por todo o seu apoio, disponibilidade, paciência e compreensão.

Às Instituições de 3ª Idade pela sua disponibilidade aquando do meu pedido para efectuar o meu estudo.

A todos os meus amigos, obrigada por fazerem parte da minha vida.

Ao Carlos pela sua paciência e pelo seu apoio incondicional.

A toda a minha família, em especial aos meus pais e meu irmão por todo o apoio ao longo da minha vida, sem eles esta caminhada não seria possível, nada teria valor e nada poderia ter sido concretizado.

A todos, o meu sincero, muito obrigada!

## RESUMO

O envelhecimento populacional traz um número vasto de implicações que incluem, entre outras, condições de baixa imunidade. Esta situação implica maior risco de infecções no idoso, comparativamente ao jovem. Outras situações podem, também, contribuir para aumentar esse risco, nomeadamente má ventilação, aglomerado populacional, condições de humidade. Condições especiais, como o caso de indivíduos portadores, podem também contribuir para o risco de infecções no idoso.

O tratamento das infecções passa pela administração criteriosa de antibióticos. A identificação de espécies e estirpes é de grande importância, assim como a indicação adequada dos antibióticos. Nesse sentido, o Sistema Europeu de Vigilância da Resistência Antimicrobiana (EARSS) alerta para o desenvolvimento de bactérias multiresistentes aos antibióticos que deste modo representam uma ameaça crescente para a eficácia destes medicamentos.

O objectivo geral deste trabalho foi o de isolar e caracterizar estirpes bacterianas de Gram positivo provenientes de isolados ambientais em Lares de 3ª idade, bem como descrever o seu perfil de resistência a diversos grupos de antibióticos. Como complemento, estudou-se também a sua susceptibilidade a dois tipos de desinfectantes comumente utilizados.

As amostras foram recolhidas num único tempo de recolha e estas foram transportadas para laboratório no meio Cary Blair. Este estudo fará referência às amostras de zaragoas de superfície provenientes de três lares de 3ª idade, localizados no distrito de Bragança.

No isolamento foi utilizado um meio selectivo (Ágar Chapman), de acordo com os géneros a estudar. Para a identificação preliminar dos isolados utilizaram-se métodos morfo-fisiológicos, nomeadamente a coloração de Gram e um conjunto de provas bioquímicas (oxidase, catalase e coagulase). Para a identificação dos géneros dos isolados de Gram positivo em estudo utilizou-se o sistema de identificação numérica API Staph (bioMérieux).

A susceptibilidade aos agentes antibacterianos foi determinada pela técnica de difusão em disco (método Kirby Bauer), avaliando-se o comportamento dos isolados estudados face a diversos grupos de antibióticos:  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídicos, quinolonas, tetraciclina, fenicolis, sulfonamidas, macrólidos, fosfomicinas,

glicopéptidos, fluoroquinonas e ansamicinas. A susceptibilidade das bactérias aos desinfetantes também foi determinada pela técnica de difusão em disco.

Da análise do perfil de susceptibilidade aos antibióticos verificou-se que dois dos três lares de 3ª idade estudados apresentaram multiresistência a antibióticos, nomeadamente ao ácido nalidíxico (quinolonas), sulfametoxazol (sulfonamidas) e eritromicina (macrólidos). Os resultados mostram que os isolados apresentaram maior resistência ao ácido nalidíxico e apresentaram maior sensibilidade, isto é, maior eficácia à vancomicina e teicoplanina (glicopeptídeos) e à rifampicina (ansamicinas).

Relativamente aos desinfetantes, verificou-se eficácia para ambos, no entanto em termos relativos o desinfetante à base de compostos clorados mostrou-se mais eficaz.

Das bactérias identificadas destaca-se *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus epidermidis*, estas duas últimas espécies apresentaram um perfil de multi-resistência.

*Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus cohnii* são espécies da microbiota normal dos humanos e geralmente poderão resultar de contaminação hospitalar (nosocomiais), enquanto que *Staphylococcus xylosus* normalmente é isolada de produtos lácteos e carne e é comumente usada para a fermentação de carnes, e a sua presença no Lar poderá ser devida a contaminação cruzada do ambiente das cozinhas.

Estes resultados vêm confirmar a importância de consciencializar utentes e funcionários para correctas práticas de higiene pessoal.

---

## ABSTRACT

Population aging brings a vast number of implications that include, among others, low immunity conditions. This implies a higher risk of infections in the elderly compared to young people. Some situations can increase this risk, including poor ventilation, crowded population and moist conditions. Special conditions, as the case of individuals with infections, may also contribute to the risk of contamination in the elderly.

The treatment of infections involves the careful administration of antibiotics, knowing that the identification of species and strains is of great importance, as well as appropriate antibiotics indication. In this sense, the European System of Antimicrobial Resistance Surveillance (EARSS) alert to the development of antibiotic-resistant bacteria, which thus represent a growing threat to the effectiveness of these drugs. The overall objective of this study was to isolate and characterize gram-positive bacterial strains, derived from environmental isolates in nursing homes, and to describe the profile of resistance to several groups of antibiotics. In addition, we also studied their susceptibility to two types of commonly used disinfectants.

Samples were collected on a single sampling time, and these were transported to the laboratory in a Cary Blair medium. This study refers to the surface swab samples from three nursing homes located in the district of Bragança.

On insulation was used in a selective medium (Chapman agar), according to study gender. For preliminary identification of isolates were used morphological and physiological methods, including Gram stain and a set of biochemical tests (oxidase, catalase and coagulase), and for the identification of genera of the Gram-positive isolates, we used the numeric identification system API Staph (bioMérieux).

Resistance to antibacterial agents was determined by disk diffusion technique (Kirby Bauer method), evaluating the behavior of the isolates against various groups of antibiotics:  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, quinolones, tetracycline, fenicol, sulfonamides, macrolides, fosfomicin, glycopeptides, ansamycin and fluoroquinolones. The susceptibility of bacteria to disinfectants was also evaluated by the disk diffusion technique.

From the profile analysis of antibiotic susceptibility tested in Gram positive bacteria, it was found that two of the three nursing homes studied showed multidrug

resistance to antibiotics, including nalidixic acid (quinolones), sulfamethoxazole (sulfonamide) and erythromycin (macrolide). The results showed that the more resistant isolated was to nalidixic acid and that the higher sensitivity, ie, the most effective were to vancomycin, teicoplanin (glycopeptide) and rifampicin (ansamicin).

Regarding to disinfectants, we seen that both were effective, however, in relative terms, the disinfectant based on chlorine was more effective. From bacteria identified, stands out the *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus epidermidis*, showing both of them a multi-resistance profile.

*Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus cohnii* are species of the normal microbiota of humans and can often result from hospital contamination (nosocomial), while *Staphylococcus xylosus* is usually isolated from dairy products and meat. It is usually used for fermentation of meat and its presence in the home, may be due to cross contamination of the environment of the kitchen. These results confirm the importance of user and staff awareness to correct personal hygiene practices.

## ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS .....	i
RESUMO .....	ii
ABSTRACT .....	iv
ÍNDICE GERAL.....	vi
ÍNDICE DE QUADROS .....	ix
ÍNDICE DE TABELAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ABREVIATURAS .....	xii
<b>I. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 Envelhecimento .....	1
1.2 Esperança Média de Vida .....	2
1.3 O idoso e a sua Institucionalização .....	3
1.4 Resistência a Antibióticos .....	3
1.5 A problemática da 3ª Idade e a Resistência a Antibióticos .....	5
1.6 Célula Bacteriana.....	6
1.6.1 Bactérias Gram Positivo e Gram Negativo.....	7
1.7 Estafilococos .....	8
1.7.1 Estafilococos Coagulase Negativos .....	9
1.7.2 <i>Staphylococcus xylosus</i> .....	9
1.7.3 <i>Staphylococcus cohnii</i> .....	10
1.7.4 <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	10
1.8 Antimicrobianos .....	10
1.8.1 Mecanismos gerais de acção.....	11
1.8.2 Grupos de Antibióticos .....	13
(i) $\beta$ -Lactâmicos .....	13
(ii) Aminoglicosídicos .....	13
(iii) Quinolonas .....	14
(iv) Tetraciclina .....	15
(v) Fenicolina .....	15
(vi) Sulfonamidas .....	15
(vii) Macrólidos .....	16
(viii) Fosfomicinas .....	16

(ix) Glicopeptídeos .....	16
(x) Fluroquinolonas .....	16
(xi) Ansamicinas .....	17
1.9 Conceitos de Higienização.....	17
1.9.1 Desinfetantes .....	18
<b>II. OBJECTIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>III. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 Origem das amostras .....	21
3.2 Processamento Laboratorial .....	26
3.2.1 Inoculação do meio selectivo .....	26
3.2.2 Isolamento e obtenção de culturas puras .....	26
3.2.3 Conservação das estirpes .....	27
3.3 Provas Morfo-Fisiológicas para Identificação .....	27
3.3.1 Coloração diferencial pelo método de Gram .....	28
3.3.2 Prova da Citocromo-Oxidase .....	29
3.3.3 Prova da Catalase .....	30
3.3.4 Prova da Coagulase .....	30
3.4 Identificação e perfil de Susceptibilidade dos Isolados Bacterianos .....	31
3.4.1 Determinação do perfil de Susceptibilidade a agentes antimicrobianos..32	
3.4.2 Biotipificação numérica.....	34
3.4.2.1 Sistema de Identificação numérica API Staph (bioMérieux).....	34
3.4.3 Susceptibilidade das bactérias aos desinfetantes .....	35
<b>IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>37</b>
4.1 Origem das amostras .....	37
4.1.1 Colecção de isolados .....	37
4.2 Provas Morfo-Fisiológicas .....	39
4.2.1 Coloração de Gram, Citocromo-Oxidase, Catalase e Coagulase.....	39
4.2.2 Biotipificação Numérica .....	40
4.3 Perfil de Susceptibilidade a Agentes Bacterianos .....	42
4.4 Susceptibilidade dos Isolados aos Desinfetantes .....	53
<b>V. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>56</b>
<b>VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>
6.1 Webgrafia .....	60
<b>VII. ANEXOS .....</b>	<b>61</b>

<b>ANEXO I – MEIOS DE CULTURA .....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO II – SOLUÇÕES, REAGENTES E CORANTES .....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO III – FICHAS TÉCNICAS E SEGURANÇA DOS DESINFECTANTES .....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO IV – PEDIDO DE CONSENTIMENTO .....</b>	<b>74</b>

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 1.6.1-</b> Composição química da parede celular bacteriana.....	7
<b>Quadro 3.2.1.1</b> – Procedimentos para obtenção de culturas iniciais.....	26
<b>Quadro 3.2.2.1</b> – Procedimentos para o isolamento e obtenção de culturas puras.....	27
<b>Quadro 3.2.3.1</b> – Conservação das estirpes.....	27
<b>Quadro 3.3.1.1</b> – Coloração diferencial - Método de Gram.....	28
<b>Quadro 3.3.2.1</b> – Prova da oxidase.....	29
<b>Quadro 3.3.3.1</b> – Prova da catalase.....	30
<b>Quadro 3.3.4.1</b> – Prova da coagulase.....	31
<b>Quadro 3.4.1</b> – Antibióticos testados, no âmbito deste estudo, para avaliação do perfil de susceptibilidade.....	32
<b>Quadro 3.4.1.1</b> – Metodologia empregue na técnica de difusão em disco (método Kirby Bauer).....	33
<b>Quadro 3.4.2.1.1</b> – Metodologia empregue na galeria Api Staph (bioMérieux® 20 590).....	35
<b>Quadro 3.4.3.1</b> - Técnica de difusão em agar com discos brancos, para avaliação da susceptibilidade aos desinfetantes.....	36

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.9.1.1</b> – Características de diferentes Desinfetantes.....	18
<b>Tabela 3.1.1</b> – Número de utentes por género em cada um dos lares em estudo.....	23
<b>Tabela 4.1.1.1</b> – Descrição dos isolados obtidos por cada amostra de zaragatoas de superfície.....	38
<b>Tabela 4.2.2.1</b> – Identificação dos isolados pelo sistema Api Staph (bioMérieux® 20590).....	41
<b>Tabela 4.3.1</b> – Halos de inibição (mm) e categorias para avaliação do perfil de susceptibilidade a agentes antimicrobianos de <i>Staphylococcus</i> spp testados.....	46
<b>Tabela 4.4.1</b> – Halos de inibição (mm) e categorias para avaliação do perfil de susceptibilidade dos isolados aos desinfetantes testados.....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.6.1</b> – Estrutura de uma célula bacteriana.....	6
<b>Figura 1.8.1</b> – Locais de actuação dos diferentes grupos de antibióticos.....	12
<b>Figura 3.1.1</b> – Aspecto das poltronas individuais do Lar C.....	21
<b>Figura 3.1.2</b> – Aspecto das poltronas individuais do Lar S .....	22
<b>Figura 3.1.3</b> – Aspecto das poltronas individuais do Lar F.....	22
<b>Figura 3.1.4</b> – Esquema da metodologia empregue neste estudo.....	25
<b>Figura 3.4.1.1</b> – Metodologia usada no estudo do perfil de susceptibilidade das estirpes isoladas de amostras de zaragatoas de superfície.....	32
<b>Figura 3.4.2.1.1</b> – Imagem de várias galerias API Staph.....	33
<b>Figura 4.2.1.1</b> – (A) Coloração de estirpes de Gram negativo, (B) Coloração de estirpes de Gram positivo.....	38
<b>Figura 4.2.2.1</b> – Sistema de Identificação numérica API Staph (bioMérieux® 20 590).....	40
<b>Figura 4.3.1</b> – Metodologia e resultados do estudo.....	44
<b>Figura 4.3.2</b> – Antibiograma efectuado para o isolado CP <sub>4</sub> CHAP <sub>3</sub> .....	45
<b>Figura 4.3.3</b> - Perfil de susceptibilidade a antibióticos das estirpes de <i>Staphylococcus</i> spp testadas.....	49

## ABREVIATURAS

**CNS** – Estafilococos Coagulase Negativo

**MRS** – Estafilocos Meticilina Resistente

**PC** – Parede Celular

**BHI** – Meio brain heart infusion

**WHO** – World Health Organization

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**DGS** – Direcção Geral da Saúde

**INE** – Instituto Nacional de Estatística

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**RNA** – Ácido Ribonucleico

**PABA** – Ácido *p*- aminobenzóico

**EARSS** – Sistema Europeu de Vigilância de Resistência Antimicrobiana

**CO<sub>2</sub>** – Dióxido de Carbono

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – Peróxido de Hidrogénio

**NaCl** – Cloreto de Sódio

**EDTA** – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

**CLSI** - Clinical and Laboratory Standards Institute

**API** – Analytical Profile Index

# I. INTRODUÇÃO

## 1.1 ENVELHECIMENTO

O idoso é uma pessoa considerada de terceira idade. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), um idoso é uma pessoa com mais de 65 anos, independentemente do sexo ou do estado de saúde aplicável (WHO, 2011).

A definição de idoso segundo a OMS está directamente ligada à qualidade de vida propiciada pelo país aos seus cidadãos. Devido ao aumento da longevidade actual do indivíduo, definem-se 3 grupos etários: os idosos, entre os 65 e os 74 anos; os muitos idosos, entre os 75 e os 84 anos; os extremamente idosos, a partir dos 85 anos (Candeias, 2006).

O envelhecimento humano tem cada vez mais assumido um papel importante em várias investigações, devido ao aumento acelerado da fracção de população idosa em relação às restantes faixas etárias da população mundial (Candeias, 2006). Segundo este autor, o termo envelhecimento, num contexto popular, traduz-se num conjunto de características relacionadas com as alterações morfológicas dos indivíduos, como por exemplo, o aparecimento de rugas e de cabelos brancos e paralelamente, uma perda progressiva das capacidades físicas, cognitivas e sociais.

O envelhecimento segundo Faria e colaboradores (2004) é descrito como um processo, ou conjunto de processos, próprio de todos os seres vivos que se manifesta pela perda da capacidade de adaptação e pela diminuição da funcionalidade, logo está relacionado com alterações físicas e fisiológicas.

Sendo assim, pode-se dizer que o envelhecimento é um processo que envolve muitas variáveis tais como: genéticas, estilo de vida e doenças crónicas que vão interagir entre si e vão influenciar o modo como se envelhece (Faria *et al.*, 2004).

Tendo em conta a Direcção Geral de Saúde (2004), o envelhecimento demográfico e as suas alterações no padrão epidemiológico e na estrutura e comportamentos sociais e familiares da sociedade portuguesa, faz com que sejam criadas novas necessidades em saúde, logo é urgente organizar soluções mais adequadas. Apesar do enorme progresso das ciências da saúde nas últimas décadas, com um papel muito importante no aumento da longevidade das populações, a realidade de Portugal fica muito aquém das médias dos países europeus e é demonstrado que os

últimos anos de vida são, muitas vezes, acompanhados de situações de fragilidade e de incapacidade.

O envelhecimento não é um problema, mas sim uma parte natural do ciclo de vida de uma pessoa, sendo desejável que constitua uma oportunidade para viver de forma saudável e autónoma o máximo de tempo possível, o que vai exigir uma mudança de comportamentos e atitudes da população em geral e da formação dos profissionais de saúde e de outros campos de intervenção social (Direcção Geral da Saúde (DGS), 2004).

## **1.2 ESPERANÇA MÉDIA DE VIDA**

Os progressos obtidos através do desenvolvimento em geral e pelas ciências da saúde em particular, foram decisivos para um aumento da esperança média de vida, de 30 anos, no decorrer do século XX. O aumento desta longevidade, ao qual Portugal não está alheio causa um profundo impacto na saúde pública (Direcção-Geral da Saúde (DGS), 2004).

O processo demográfico de envelhecimento com que nos estamos a deparar, devido às mudanças na estrutura e comportamentos familiares e sociais, vai fazer com que nos próximos anos, haja novas necessidades na saúde, levando a grandes desafios nos sistemas de saúde não só no que diz respeito a garantir acessibilidade e qualidade dos cuidados, como na sustentabilidade dos próprios sistemas, fazendo com que o aumento de esperança de vida à nascença, corresponda a um aumento da esperança de vida “com saúde” (Direcção-Geral da Saúde (DGS), 2004).

Em relação ao processo de envelhecimento tem de se ter em consideração o factor genético, pois o indivíduo nasce com um padrão genético de envelhecimento herdado dos pais biológicos. Em termos de sexo, a mulher vive, em relação ao homem, mais 8 anos. O indivíduo, ao longo da sua vida está sujeito a factores externos e agressões do meio ambiente, assim como a infecções, traumatismos, stress, isto é, uma série de fenómenos que o vão agredindo e que vão interferir no padrão genético, acelerando assim o processo de envelhecimento (de Castro, 2010).

A população humana vive cada vez até mais tarde. A esperança média de vida à nascença tem vindo a aumentar na população portuguesa, tendo em conta as Tábuas de Mortalidade para o triénio 2008 / 2010 divulgadas pelo Instituto Nacional de Estatística (INE).

### 1.3 O IDOSO E A SUA INSTITUCIONALIZAÇÃO

Os lares para idosos, surgiram como uma alternativa, especialmente para idosos em situação de maior risco de perda de independência e/ou autonomia. Estes foram criados segundo objectivos específicos tais como:

- Assegurar as necessidades básicas dos idosos;
- Contribuir para a estabilização ou retardamento do processo de envelhecimento;
- Criar condições que permitam preservar e incentivar as relações familiares;
- Facultar habitação de forma a garantir ao idoso uma vida confortável e um ambiente calmo e humanizado;
- Favorecer condições que permitam vencer o isolamento;
- Proporcionar serviços permanentes e adequados à problemática biopsicossocial

Devido ao fenómeno progressivo e irreversível do envelhecimento da população portuguesa, associado a outras situações como a desertificação de áreas significativas, mobilidade e progressiva desresponsabilização familiar, faz com que o Lar de Idosos seja a última residência para um número que cresce inflexivelmente de idosos com o decorrer dos tempos ([www.solidariedade.pt/sartigo](http://www.solidariedade.pt/sartigo)).

A institucionalização surge normalmente para a família ou para os idosos sem família como a última alternativa quando todas as outras são inviáveis (Martins, 2009).

### 1.4 RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS

A descoberta dos antibióticos foi determinante no controlo das doenças bacterianas fazendo baixar a morbilidade e a mortalidade dessas infecções. Por tudo isto, os antibióticos são considerados os fármacos mais importantes do século XX (Sousa, 2006). No entanto, a saúde das pessoas na Europa está a ser ameaçada por um fenómeno crescente: bactérias que causam infecções estão a tornar-se cada vez mais resistentes aos antibióticos e por isso correndo o risco de serem potencialmente fatais. Tal deve-se ao facto do uso generalizado e indiscriminado de antibióticos em humanos e animais. Também a utilização destes compostos em outros ambientes, por exemplo fitofármacos, tem contribuído para o aparecimento de estirpes multirresistentes.

Desde a sua descoberta há mais de setenta anos, os antibióticos foram as principais armas no tratamento de infecções bacterianas, incluindo infecções fatais em hospitais ([www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)).

Na União Europeia, actualmente a cada ano, estima-se que 25 000 pessoas morrem devido a graves infecções por estirpes bacterianas resistentes, onde a maior parte é adquirida em instituições de saúde (infecções nosocomiais).

A OMS apela ao público, aos prescritores, à indústria farmacêutica e ao sector de produção animal para tomar medidas, isto é, prescrever o uso de antibióticos de forma responsável, monitorizar e controlar o uso de antibióticos e promover o desenvolvimento de novos antibióticos ([www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)).

Os antibióticos só devem ser usados, apenas quando são necessários e não o contrário. O surgimento da resistência aos antimicrobianos é um problema complexo, impulsionado por vários factores interligados, sendo que uma resposta multi-sectorial é urgente.

Vários países europeus têm mostrado o que se pode fazer para combater a resistência aos antibióticos, mas, em muitos países, não existe qualquer regulamentação nacional sobre o uso de antibióticos, como por exemplo, animais saudáveis são tratados com antibióticos como promotores de crescimento ou para prevenir doenças.

Os antibióticos em muitos países podem ser comprados ao balcão pelo público em geral, sem receita médica e estes podem ser usados à vontade. Além disso, os médicos prescrevem antibióticos frequentemente e as pessoas ingerem-nos facilmente de forma inadequada, e muitas das vezes prescrevem-nos para tratar infecções virais como a gripe ou um resfriado comum, que muitos, (erroneamente) acreditam serem tratados com antibióticos ([www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)).

Um estudo informal a 21 países da parte oriental da região europeia demonstrou que em 14 deles, a compra de antibióticos sem receita médica é uma prática comum. Somente 7 dos 21 tem um plano de acção nacional sobre a resistência antibiótica, e 7 em cada 21 possui um comité nacional de coordenação no local. Menos de metade dos países têm directrizes nacionais sobre a importância da higienização das mãos em ambientes de cuidados de saúde, e apenas um terço apresenta um sistema nacional de vigilância e um banco de dados sobre a resistência a antibióticos ([www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)).

O uso abusivo de antibióticos levou a que os seus poderes de transformação estejam ameaçados, o que provocou resistência aos antibióticos, e em muitos casos leva à falta de eficácia destes. A resistência aos antibióticos é um mecanismo natural e

esperado e faz referência a uma situação onde um antibiótico, que normalmente faria parar o crescimento de um certo tipo de bactéria, não o faz. Não há assim eficácia relativamente ao seu mecanismo de acção/modo de actuação.

Do uso abusivo de antibióticos em humanos e animais pode resultar bactérias resistentes. Além disso, a resistência pode ser transmitida entre humanos, entre animais e entre seres humanos, animais e meio ambiente. A utilização terapêutica de novas moléculas de antibióticos veio criar novos tipos de problemas, uma vez que as bactérias são melhores engenheiros genéticos que o Homem (Sousa, 2006). A transmissão e propagação de bactérias, ou genes que contêm a informação de resistência, pode ocorrer em hospitais, na comunidade e através da cadeia alimentar.

As infecções por bactérias resistentes podem ser difícil e às vezes impossível de curar, e estas estão a aumentar. Enquanto isso, a investigação sobre o desenvolvimento de novos antibióticos é muito cara e demorada, e muitas das vezes a resistência desenvolve-se muito rapidamente após o uso dos novos antibióticos comercializados.

Actualmente, muito poucos novos antibióticos estão em processo de desenvolvimento. Sem novas e eficazes moléculas e com o aumento da sua resistência, a sociedade poderia retornar às condições de uma era pré-antibiótica ([www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)).

## **1.5 A PROBLEMÁTICA DA TERCEIRA IDADE E A RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS**

Os idosos, como convivem com problemas crónicos de saúde são os que usam com maior frequência os serviços de saúde e são os consumidores de grande número de medicamentos, apesar de em muitas ocasiões serem necessários, mas quando mal utilizados podem desencadear graves complicações para a saúde (Marin *et al.*, 2008).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) mais de 50% dos medicamentos são prescritos erradamente e 50% dos doentes tomam os medicamentos de forma incorrecta o que leva a um elevado índice de morbilidade e mortalidade ([www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)).

Os tipos mais comuns do mau uso de medicamentos estão relacionados com as pessoas que recorrem à polifarmácia, assim como ao uso inadequado de antibióticos e medicamento injectáveis, a auto-medicação e a má prescrição (Marin *et al.*, 2008).

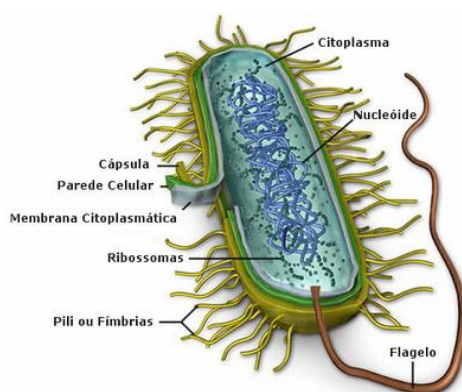
O uso de medicamentos entre os idosos assume, cada vez mais, uma importância inegável como estratégia terapêutica para compensar as alterações sofridas com o processo de envelhecimento ou controlando as doenças crônicas recorrentes na terceira idade. Apesar disso, verifica-se que muitas vezes o esquema terapêutico implementado com antibióticos é pouco eficaz no combate a infecções comuns.

## 1.6 CÉLULA BACTERIANA

As células representam a unidade estrutural e funcional de todos os seres vivos. A microscopia eletrônica divulgou nos seres vivos dois tipos de organização celular: procariota e eucariota (Azevedo, 1999; Sousa, 2006).

As bactérias têm uma estrutura celular procariótica, pois não possuem um “verdadeiro” núcleo e são designados procariotas. As bactérias são células estruturalmente muito simples, como se pode observar na figura 1.6.1, o que lhe permite manifestar uma elevada taxa de crescimento, conferindo-lhe uma vantagem biológica, quando as bactérias competem em nutrientes com outros microrganismos (Azevedo, 1999).

Tendo em conta o género, as células bacterianas são constituídas por parede celular, membrana citoplasmática, ribossomas, nucleóide, citoplasma (estruturas constantes) e fímbrias, flagelo(s) e cápsula (estruturas inconstantes).



**Figura 1.6.1** – Estrutura de uma célula bacteriana.

[Fonte: <http://ocogumelo.blogspot.com/2011/03/celula-bacteriana.html>]

A parede celular (PC) constitui o principal suporte mecânico da célula e confere-lhe estabilidade, além disso actua como uma barreira física perante uma variedade de

agentes potencialmente nocivos e é responsável pelas diferentes formas encontradas nas bactérias, permitindo assim explicar o comportamento diferencial das bactérias em relação à coloração de Gram. Esta técnica permite distinguir os dois principais grupos bacterianos em microscopia óptica. De acordo com a coloração apresentada face ao método de Gram (método de coloração diferencial) as bactérias dividem-se em bactérias Gram positivo e Gram negativo (Azevedo, 1999). As bactérias Gram positivo adquirem a cor roxa do corante primário (cristal violeta) e as Gram negativo adquirem a cor vermelha do corante secundário (fucsina básica).

A estrutura da parede celular (Quadro 1.6.1), constitui uma protecção mecânica para a bactéria, evitando a ruptura osmótica; o composto que confere esta rigidez à parede celular é o peptidoglicano, mucopeptídeo ou mureína (Sousa., 2006).

**Quadro 1.6.1** – Composição química da parede celular bacteriana.

<b>Componentes</b>	<b>Gram positivo</b>	<b>Gram negativo</b>
Peptidoglicano	+++	+
Ácidos Teicóicos	++	-
Polissacarídeos	+	-
Proteínas	+/-	+
Lipopolissacarídeos	-	+
Lípidos	+/-	+

[Fonte: Ferreira *et al.*, 1998].

### **1.6.1 Bactérias Gram positivo e Gram negativo**

A forma das bactérias pode ser observada através de coloração de Gram, que divide as bactérias em dois grupos: Gram positivo e Gram negativo. A reacção das bactérias à técnica de Gram expressa diferentes características, de modo especial no que diz respeito à composição química, estrutura, permeabilidade da parede celular, fisiologia, metabolismo e patogenicidade.

Sendo que a parede celular da célula Gram positivo consiste numa única camada que retém o corante aplicado, não adquirindo a coloração do segundo corante, isto é, fica com uma coloração roxa. Já a parede celular da célula Gram negativo é constituída

por estruturas de múltiplas camadas bastante complexas, que não retêm o corante, fica com coloração vermelha.

A parede celular (PC) das bactérias Gram positivo apresenta-se como uma monocamada justaposta à membrana celular, sendo uma célula praticamente sem periplasma. Em muitos casos a PC é permeável a macromoléculas, não oferecendo assim resistência à difusão dos antibióticos para exercerem as suas propriedades de antibiose, por interacção com os seus alvos que se encontram na célula bacteriana. É constituída predominantemente por peptidoglicano (cerca de 30-70% do peso da parede seca). Nas bactérias Gram negativo a PC é muito mais complexa quanto à composição química e quanto à ultraestrutura. O peptidoglicano (cerca de 5-10% do peso da parede seca) é disposto em monocamada e funciona como estrutura de suporte, impedindo assim, a lise osmótica (Azevedo, 1999; Sousa, 2006).

## 1.7 ESTAFILOCOCOS

O género *Staphylococcus* encontra-se distribuído na natureza, com algumas espécies que habitam nichos ecológicos específicos. Estes encontram-se normalmente na pele e nas membranas mucosas de animais de sangue quente e de seres humanos, mas também podem ser isolados de uma vasta variedade de géneros alimentícios, como carne, queijo e leite e de fontes ambientais, como por exemplo terra, areia, ar e água (Irlinger, 2008).

O número de espécies do género *Staphylococcus* está a aumentar cada vez mais. Embora sendo um dos mais comuns patogénicos do homem, a maior parte das espécies são consideradas comensais e nunca foram associadas a qualquer tipo de infecção. No entanto, espécies deste género podem causar uma variedade de doenças devido à produção de uma série de enzimas e toxinas (Zell *et al.*, 2008). Das possíveis doenças destacam-se doenças sistémicas potencialmente fatais, infecções cutâneas, infecções oportunistas e infecções das vias urinárias.

As bactérias do género *Staphylococcus* são Gram positivos, esféricas que ocorrem em aglomerados microscópicos, em cachos. Estes são aeróbios ou anaeróbios facultativos, nutricionalmente exigentes e catalase positiva (Irlinger, 2008).

### 1.7.1 Estafilococos Coagulase Negativos

Estafilococos Coagulase Negativos (CNS) encontrados, normalmente na microbiota normal da pele e nas membranas mucosas, chamaram a atenção como um potencial patogénico, especialmente para as infeções nosocomiais (Koksal *et al.*, 2007). Os CNS são microrganismos, essencialmente oportunistas que podem causar infeções graves, especialmente entre as pessoas imunodeprimidas, e muitas vezes são difíceis de tratar devido à alta prevalência de estirpes multirresistentes (Sánchez *et al.*, 2004; Zell *et al.*, 2008).

Antigamente os CNS eram considerados bactérias comensais inofensivas, neste momento a sua importância em infeções hospitalares está a aumentar, uma vez que estão associados ao uso de dispositivos médicos em pacientes gravemente doentes e imunocomprometidos (de Mattos *et al.*, 2002). Os CNS multirresistentes podem aderir aos dispositivos médicos e superfícies através de biofilmes de estrutura mucopolissacarídea, contribuindo assim para se poderem colonizar facilmente e disseminar em ambiente hospitalar (Koksal *et al.*, 2007). A terapia para tratar infeções de estafilococos multirresistentes pode tornar-se difícil num futuro próximo. Devido a este facto, é importante tomar medidas preventivas, a fim de limitar a colonização e disseminação de estafilococos multirresistentes em ambientes hospitalares aquando do início de uma infeção nosocomial. Por causa disso é importante monitorizar o consumo de antibióticos e a resistência dos estafilococos nosocomiais (de origem hospitalar), especialmente as medidas de controlo da infeção, de modo a evitar o aparecimento e a propagação de bactérias multirresistentes em ambiente hospitalar (Koksal *et al.*, 2007).

Algumas espécies de CNS comuns em humanos incluem, entre outros, *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. xylosus* e *S. capitis* (Zadoks *et al.*, 2009). Destes, a espécie *S. epidermidis* embora não produza toxinas e faça parte da microbiota endógena humana, pode causar infeções geralmente oportunistas e nosocomiais.

### 1.7.2 *Staphylococcus xylosus*

*Staphylococcus xylosus* são considerados organismos comensais não patogénicos que se encontram na pele de uma variedade de mamíferos e ocasionalmente de humanos

e raramente tem sido associado a infecções. Esta é uma espécie geralmente isolada de produtos lácteos e carne e é comumente usada para a fermentação de carnes, como por exemplo, salsichas. Também pode ser isolada a partir de fontes ambientais, tais como superfícies de equipamentos de processamento de carnes ou de equipamentos médicos (Dordet-Frisoni *et al.*, 2008; Irlinger, 2008).

### **1.7.3 *Staphylococcus cohnii***

*Staphylococcus cohnii* é reconhecido como um microrganismo componente da microbiota normal de humanos e outros primatas, podendo estar envolvido em casos raros de endocardites, pneumonias, infecções do trato urinário, abscessos cerebrais, artrites sépticas, entre outras infecções. Pode ser encontrado em ambiente hospitalar. É um coco Gram positivo, catalase positivo, coagulase negativo, aeróbio (Azevedo *et al.*; 2008).

### **1.7.4 *Staphylococcus epidermidis***

A espécie *Staphylococcus epidermidis* é principalmente típica da microbiota normal da pele humana e da microbiota das mucosas e sendo uma bactéria comensal, tem um potencial de baixa patogenicidade (de Matos *et al.*; 2002; Ziebuhr *et al.*; 2006).

## **1.8 ANTIMICROBIANOS**

Em 1928, Alexander Fleming descobre o primeiro antibiótico, a penicilina, uma substância natural produzida por um fungo dotada de propriedades antibacterianas. Esta descoberta foi considerada por muitos um milagre médico, pois ajudou a erradicar muitas das doenças causadas por bactérias. Em 1942, Waksman definiu o termo antibiótico para denominar todos os compostos naturais produzidos por microrganismos, que inibem o crescimento microbiano (antibiótico bacteriostático) ou que eliminam os microrganismos (antibiótico bactericida) (Ribeiro *et al.*, 2009; Sousa, 2006).

Pouco tempo depois, foram descobertos outros antibióticos. Esta descoberta e a sua utilização no tratamento de doenças infecciosas constitui um dos maiores avanços

da Medicina no século XX, uma vez que, na era pré-antibiótica estas doenças infecciosas eram a causa primordial de morte no Homem (Sousa, 2006).

Os agentes quimioterapêuticos possuem a capacidade de inibir o crescimento microbiano, actuando na ruptura de determinados processos, como se pode ver pela figura 1.8.1, até que os mecanismos de defesa ataquem e destruam o agente patogénico.

Existem várias classificações de antibióticos de acordo com os critérios referentes à sua origem, mecanismo de acção e espectro e modo de acção (Neuman, 1990; Mckane e Kandel, 1996; Sousa, 2006).

O uso terapêutico dos antibióticos requer o conhecimento e compreensão das diversas características dos agentes microbicidas, sendo a sua prescrição um acto complexo, pois todos estes aspectos devem ser tidos em consideração.

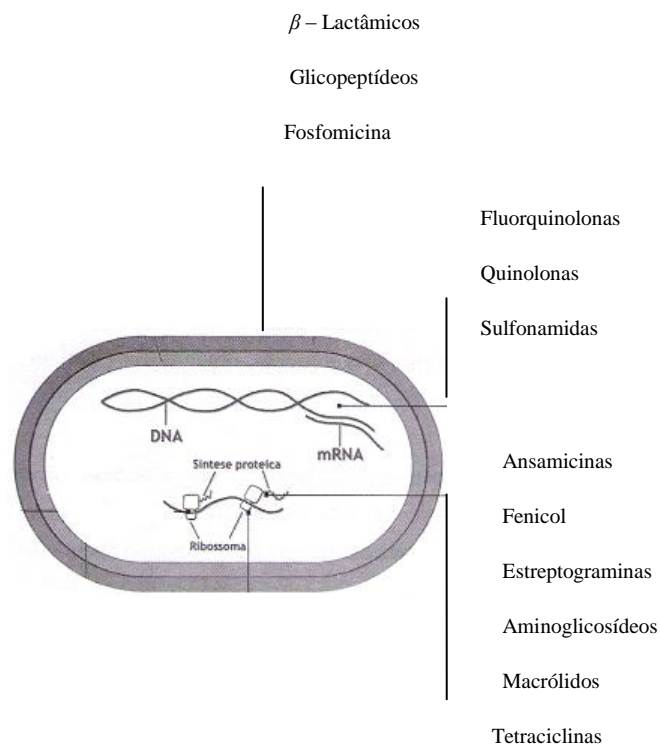
Devido ao uso de antibióticos em grande escala, chegou-se a um ponto em que se promoveu o aumento da incidência de estirpes resistentes aos antibióticos, principalmente a nível hospitalar o que dificulta a terapêutica, daí que a sua prescrição tem de ser cuidada e devem ser conhecidas e compreendidas todas as características dos pacientes (hospedeiro) (Sousa, 2006; Ribeiro *et al.*, 2009).

### **1.8.1 Mecanismos gerais de acção**

A escolha do antibiótico no tratamento das infecções bacterianas não se deve basear exclusivamente na relação binomial antibiótico *versus* agente etiológico. O uso de antibióticos tem em conta os seguintes critérios:

- O espectro de acção, isto é, o tipo de bactérias sobre as quais um dado antibiótico actua;
- Os órgãos e tecidos onde a sua difusão é facilitada;
- A existência de alergia do doente a uma família de antibióticos e o seu risco de toxicidade sobre o rim, o sistema nervoso, o sangue e o feto;
- A facilidade de utilização dos antibióticos (Sousa, 2006; Enciclopédia LAROUSSE, 2007).

De acordo com a figura 1.8.1, os diferentes grupos de antibióticos podem actuar em vários locais alterando determinados processos fundamentais para a sobrevivência dos microrganismos invasores, tais como: síntese da parede celular, permeabilidade da membrana, síntese proteica e síntese de ácidos nucleicos.



**Figura 1.8.1** - Locais de actuação dos diferentes grupos de antibióticos.  
 [Fonte: Sousa, 2006].

Os antibióticos constituem um importante passo na terapêutica, mas a elevada toxicidade de alguns, a falta de etitropismo e a ausência de mecanismos de defesa do organismo a doses elevadas, impedem assim, a difusão do seu emprego (Nova Enciclopédia Portuguesa, Volume I, 1996).

O aumento da resistência de alguns microrganismos aos antibióticos explica-se pelo facto da sobrevivência sistemática das suas formas mutantes, e estas desenvolveram uma resistência pela pressão selectiva (Dicionário Temático LAROUSSE, 2007).

Os vários grupos de antibióticos com relevância para este estudo de susceptibilidade em bactérias de Gram positivo de isolados provenientes de zaragoatós de superfície foram:

- **$\beta$ -lactâmicos:** Amoxicilina (AML<sub>10</sub>) e Meticilina (MET<sub>5</sub>);
- **Aminoglicosídicos:** Gentamicina (CN<sub>10</sub>) e Estreptomicina (S<sub>10</sub>);
- **Quinolonas:** Ácido Nalidíxico (NA<sub>30</sub>) e Ciprofloxacina (CIP<sub>5</sub>);
- **Tetraciclina:** Tetraciclina (TE<sub>30</sub>);
- **Fenicóis:** Cloranfenicol (C<sub>30</sub>);
- **Sulfanamidas:** Sulfametoxazol (RL<sub>25</sub>);

- **Macrólidos:** Eritromicina (E<sub>15</sub>);
- **Fosfomicinas:** Fosfomicina (FOS<sub>50</sub>);
- **Glicopeptídeos:** Vancomicina (VA<sub>30</sub>) e Teicoplanina (TEC<sub>30</sub>);
- **Fluroquinolonas:** Levofloxacina( LEV<sub>5</sub>);
- **Ansamicinas:** Rifampicina (RD<sub>5</sub>).

## 1.8.2 Grupo de antibióticos

### (i) $\beta$ -Lactâmicos

Os antibióticos  $\beta$ -Lactâmicos inserem-se no grupo de antibióticos antiparietais, isto é, são inibidores da síntese do peptidoglicano. Os antibióticos  $\beta$ -Lactâmicos são os antibióticos de maior importância devido ao facto de terem uma terapêutica bastante eficiente e terem uma baixa toxicidade para os animais, incluindo o Homem.

Estes antibióticos possuem em comum um anel  $\beta$ -lactâmico, na sua estrutura química, que interfere com a síntese do peptidoglicano da parede celular bacteriana (Neuman 1990; Sousa, 2006).

Segundo Sousa e seus colaboradores (1998), existem antibióticos que inibem ou interferem na síntese da parede bacteriana nas suas diversas etapas e os  $\beta$ -lactâmicos actuam na fase terminal, inibindo a transpeptidação.

Neste grupo de antibióticos incluem-se as penicilinas, cefalosporinas (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> geração), monobactâmicos e carbapenemos (Sousa, 2006; Marin *et al.*, 2003).

### (ii) Aminoglicosídeos

Os antibióticos aminoglicosídicos inserem-se no grupo de antibióticos inibidores da síntese proteica. Estes constituem um grupo bastante heterogéneo quanto à sua composição química, propriedades antibacterianas e propriedades farmacológicas. As moléculas destes antibióticos possuem em comum um anel aminociclitol, derivado do inositol, unido a açúcares aaminados, através de ligações glicosídicas (Sousa, 2006).

O mecanismo de acção dos aminoglicosídicos baseia-se na penetração do fármaco na célula, e este liga-se à subunidade 30S do ribossoma bacteriano e vai interferir no complexo de iniciação da formação do péptido. O sistema de transporte

destes antibióticos é dependente de oxigénio o que torna estes agentes inofensivos contra bactérias anaeróbias.

Entre os representantes desse grupo destacam-se a neomicina, gentamicina, tobramicina, amicacina e estreptomicina (Sousa, 2006).

### **(iii) Quinolonas**

As quinolonas, são antibióticos de síntese química. Estas derivam do ácido nalidíxico que inibem a topoisomerase IV e a DNA girase interferindo assim com o enrolamento do DNA bacteriano, impedindo a replicação e a transcrição do DNA. Sendo assim, a estrutura química das quinolonas determina o seu modo de acção bacteriano.

As quinolonas são classificadas em quatro gerações:

- 1ª Geração – formada por moléculas com moderada actividade contra bactérias Gram negativo. Praticamente sem actividade contra bactérias Gram positivo, como por exemplo, o ácido nalidíxico.
- 2ª Geração – constituída por moléculas com boa actividade contra bactérias Gram negativo, contra patogénicos atípicos intracelulares e com limitada acção contra bactérias Gram positivo, como por exemplo, ciprofloxacina.
- 3ª Geração – constituída por antibióticos com boa actividade contra bactérias Gram negativo, contra patogénicos atípicos intracelulares e uma boa acção contra bactérias Gram positivo, como por exemplo, levofloxacina.
- 4ª Geração - constituída por moléculas com boa actividade contra bactérias Gram negativo, com muita boa acção contra bactérias Gram positivo, contra bactérias atípicas e com boa actividade contra anaeróbios estritos, como por exemplo, trovafloxacina.

As quinolonas apresentam efeito prolongado, permitindo assim, intervalos de dose de 12 horas, o que favorece a adesão ao tratamento (Sousa, 2006).

### **(iv) Tetraciclinas**

As tetraciclinas constituem uma família de antibióticos contendo um núcleo hidroxinaftaceno, formado por quatro anéis benzénicos fundidos.

A partir de *Streptomyces aureofaciens* descreveu-se a primeira tetraciclina, em 1947 e cronologicamente foi o terceiro antibiótico a ser usada na terapêutica.

O progresso científico na área das tetraciclinas não tem acompanhado o verificado em outros grupos de antibióticos, tal deve-se ao facto das moléculas das tetraciclinas terem poucos locais susceptíveis de alteração, sem perder a sua actividade antimicrobiana. Sendo assim, as alterações estruturais que ocorrem produzem derivados semi sintéticos com fraca actividade antimicrobiana.

As tetraciclinas agem inibindo a síntese proteica bacteriana, actuando através da subunidade 30S dos ribossomas. Com esta acção as tetraciclinas impedem o crescimento dos microrganismos, actuando como bacteriostáticas (Sousa, 2006).

#### (v) **Fenicóis**

O cloranfenicol foi utilizado na terapêutica com a característica de ser um antibiótico de largo espectro, abrangendo bactérias Gram positivo e Gram negativo e foi obtido pela actividade fermentativa de *Streptomyces venezuelae*.

Este é um antibiótico inibidor da síntese proteica bacteriostático, actuando na subunidade 50S (Sousa, 2006).

#### (vi) **Sulfonamidas**

As sulfonamidas constituíram um dos grupos mais utilizados, devido ao seu baixo custo e à sua relativa eficácia em algumas doenças bacterianas comuns, mas actualmente elas são usadas sozinhas devido à sua baixa actividade, quando comparada com outros antimicrobianos (WHO, 2003).

As sulfonamidas são análogos estruturais do ácido *p*-aminobenzoico (PABA) e impedem a sua incorporação na molécula de ácido fólico, dificultando assim, a sua biossíntese que é essencial para o crescimento e multiplicação bacteriana. Assim, as sulfonamidas têm um efeito bacteriostático, impedindo o crescimento bacteriano por carência do ácido fólico. Estas inibem tanto os microrganismos Gram positivo e Gram negativo (Sousa, 2006).

### (vii) Macrólidos

Os macrólidos são antibióticos que se caracterizam pela presença de um anel lactâmico. Estes são antibióticos inibidores da síntese proteica, ligam-se de forma reversível à subunidade 50S dos ribossomas. Podem actuar como bacteriostáticos e bactericidas, de acordo com sua concentração, densidade populacional bacteriana e a fase de crescimento. A eritromicina foi o primeiro macrólido importante a ser isolado, através da extracção de culturas de *Streptomyces erythreus* (Sousa, 2006).

### (viii) Fosfomicinas

A fosfomicina é um antibiótico bacteriolítico, que actua nas fases iniciais da biossíntese do peptidoglicano, isto é, intracelularmente. Esta é mais activa contra bactérias Gram negativo do que contra Gram positivo devido ao seu espectro de acção (Sousa, 2006).

### (ix) Glicopeptídeos

A vancomicina e a teicoplanina inserem-se no grupo dos glicopeptídeos e são antibióticos que actuam na fase citoplasmática da biossíntese do peptidoglicano. A vancomicina é um antibiótico produzido por *Streptomyces orientalis* e é um antibiótico bactericida, activo contra bactérias em crescimento e é inibidor da biossíntese do peptidoglicano na fase membranar. Esta é dotada de fraca actividade contra bactérias Gram negativo.

A teicoplanina é um antibiótico produzido por *Actinoplanes teichomyceticus*. Possui um mecanismo de acção e resistência bacteriana semelhante ao da vancomicina. Quimicamente é semelhante à vancomicina, mas exige maior lipofilia do que a vancomicina, o que facilita a sua rápida entrada através dos tecidos e para o interior dos fagócitos (Sousa, 2006).

### (x) Fluroquinolonas

As fluroquinolonas têm sofrido uma grande evolução, descrevendo-se a partir de 1980, gerações de fluroquinolonas, estas possuem como peculiaridade em relação às

quinolonas, a apresentação de um átomo de flúor na posição 6, daí designarem-se fluoroquinolonas.

Estas apresentam uma boa acção bactericida contra Gram negativo (Sousa, 2006).

#### (xi) **Ansamicinas**

Os grupos de antibióticos ansamicinas incluem-se no grupo de antibióticos antituberculosos de 1ª linha.

A rifampicina, conhecida também por rifampim, é um dos derivados semisintéticos da rifamicina B, e é produzida por *Amycolatopsis mediterranei*.

Esta inibe a transcrição nas células bacterianas, através da inibição da RNA polimerase (Sousa, 2006).

### **1.9 CONCEITOS DE HIGIENIZAÇÃO**

A higienização deverá assegurar a eliminação das sujidades visíveis e não visíveis e a destruição de microrganismos patogénicos e de deterioração até níveis que não coloquem em causa a saúde dos consumidores e a qualidade do produto. Deverá ser respeitada a integridade das superfícies de trabalho e deverá haver o cuidado de eliminar qualquer químico utilizado no processo de higienização.

Dependendo do tipo de produto, do tipo de superfícies e do nível de higiene requerido, a higienização pode ser efectuada apenas através de uma limpeza (L), ou de uma limpeza seguida de desinfecção (L+D).

O processo de **limpeza** consiste essencialmente na eliminação de restos de alimentos e outras partículas que ficam sobre as superfícies enquanto a **desinfecção** consiste na destruição ou remoção dos microrganismos.

Especialmente no caso da desinfecção química, a limpeza deve, em grande parte das situações, preceder a desinfecção para que esta seja eficaz, pois a combinação entre compostos interfere com os agentes de desinfecção.

Uma higienização correctamente efectuada deve conduzir à eliminação, tanto quanto possível, dos microrganismos presentes tanto nas superfícies como na atmosfera dos locais de trabalho e dos equipamentos (AESBUC, 2003).

### 1.9.1 Desinfetantes

Existem vários tipos de desinfetantes tendo em conta o tipo de microrganismos que eliminam. Entre eles, destacam-se os desinfetantes anti-fúngicos (eliminam bolores) e os desinfetantes bactericidas (eliminam bactérias). Em termos da forma de apresentação, podem ser líquidos (ex: álcoois), sólidos (em pó para diluição em água, ex: pastilhas de cloro) ou gasosos (ex: gás de cloro).

A composição química dos desinfetantes vai condicionar a sua aplicação e efectividade (Tabela 1.9.1.1). Da grande diversidade de desinfetantes existentes no mercado, os 3 mais usados são (i) o cloro e compostos de cloro, (ii) os compostos de iodo e (iii) os compostos de amónio quaternário (AESBUC, 2003).

**Tabela 1.9.1.1** – Características de diferentes Desinfetantes (AESBUC, 2003).

Desinfetante	Vantagens	Desvantagens
<b>Cloro e compostos de cloro</b>	-São bons anti-bacterianos e não deixam sabores nos produtos se usados nas concentrações adequadas; -São baratos.	-Podem mostrar-se ineficientes na presença de alguns produtos orgânicos; -As soluções muito concentradas podem ser corrosivas especialmente para as ligas de alumínio.
<b>Compostos de iodo</b>	- Podem ser usados em combinação com agentes de limpeza ácidos; -Precisam de pouco tempo de contacto com as superfícies; - Eliminam um largo espectro de bactérias.	- São inactivados na presença de resíduos alimentares e sujidades; - Podem ser corrosivos, sendo necessário um enxaguamento abundante com água limpa.
<b>Compostos de amónio quaternário</b>	- Apresentam uma boa capacidade de higienização; - Têm uma baixa actividade corrosiva; - Não são tóxicos.	- Tendem a permanecer nas superfícies, pelo que é importante enxaguar cuidadosamente com água limpa depois de desinfetar; -A sua actividade contra bactérias Gram negativo é menor do que no caso do cloro.

A eficácia dos desinfetantes depende, essencialmente, de seis factores: tempo de contacto, temperatura, concentração, pH, limpeza prévia e dureza da água.

A escolha dos desinfetantes depende de vários factores, nomeadamente, a flora microbiana existente, já que os microrganismos que se encontram nas superfícies podem apresentar maior ou menor resistência aos desinfetantes.

Os microrganismos patogénicos (geralmente não são os mais numerosos) são bastante sensíveis à acção do calor, de desinfetantes e da variação do pH do meio; os

microrganismos termo resistentes são difíceis de destruir pelo calor pois crescem a 80-90° C, no entanto são sensíveis aos desinfetantes.

Em termos de aplicação prática, pode dizer-se que deve ser conhecida qual a microbiota típica associada ao produto, já que este ponto é essencial para a adequação do desinfetante ao tipo de contaminação a destruir (AESBUC, 2003; Carrelhas, 2008).

## **II.OBJECTIVOS**

O objectivo geral deste trabalho foi o de isolar e caracterizar estirpes bacterianas de Gram positivo provenientes de isolados ambientais em Lares de 3ª idade, bem como descrever o seu perfil de resistência a diversos grupos de antibióticos. Como complemento, estudou-se também a sua susceptibilidade a dois tipos de desinfectantes comumente utilizados.

- i. Para isso procedeu-se à recolha das amostras biológicas, mediante a utilização de zaragatoas estéreis, e sua sementeira em meios selectivos e diferenciais com vista à caracterização inicial dos géneros bacterianos presentes.
- ii. Após a obtenção de culturas puras procedeu-se por métodos morfo-fisiológicos, à identificação das famílias e/ou géneros.
- iii. O estudo de susceptibilidade a diferentes grupos de agentes antibacterianos foi realizado nos isolados considerados mais relevantes, utilizando o método de difusão em discos.
- iv. Foi também estudada a susceptibilidade das bactérias aos desinfectantes, avaliada pela técnica de difusão em disco.

### III. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ORIGEM DAS AMOSTRAS

As amostras utilizadas neste trabalho foram recolhidas em três lares de 3<sup>a</sup> idade localizados no distrito de Bragança. Os Lares foram escolhidos de acordo com a sua localização geográfica e disponibilidade de cooperação neste estudo, apresentada pelos Presidentes da Direcção de cada Lar. Estes foram identificados pelas letras C, S e F, respectivamente.

Este estudo envolveu amostras de zaragoas de superfícies, nomeadamente dos apoios dos braços das poltronas, numa área de 10x10 cm, já que é onde preferencialmente os utentes colocam as suas mãos e antebraços.

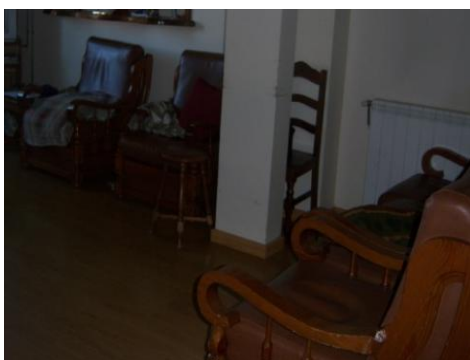
Para cada instituição a frequência de amostragem foi feita em função do número total de poltronas, isto é, por cada 10 poltronas foi analisada uma, conforme o esquema da figura 3.1.4. Foram analisadas um total de 8 poltronas, tendo as amostras sido obtidas numa única recolha.

O Lar C tem utentes com idades compreendidas entre os 50 e 95 anos, num total de 40 utentes, sendo que 31 dos utentes são do sexo feminino e 9 são do sexo masculino, conforme tabela 3.1.1. Alguns dos utentes estão acamados. Muitos dos utentes são diabéticos, hipertensos, sofrem de Alzheimer e são doentes oncológicos. Este Lar possui 45 poltronas individuais, do tipo apresentado na figura 3.1.1, pelo que se analisaram 4, por zaragoas de superfície.



**Figura 3.1.1** – Aspecto das poltronas individuais do Lar C.

O Lar S tem utentes com idades compreendidas entre os 50 e 90 anos, num total de 17 utentes, sendo que 10 são do sexo feminino e 5 são do sexo masculino, conforme tabela 3.1.1. Alguns dos utentes estão acamados. Muitos dos utentes são diabéticos, sofrem de Alzheimer e alguns são esquizofrénicos. Possui 5 poltronas individuais, do tipo apresentado na figura 3.1.2, 2 cadeirões de dois lugares e 2 cadeirões de três lugares. Neste Lar foram analisados duas das poltronas individuais, por zaragatoas de superfície.



**Figura 3.1.2** – Aspecto das poltronas individuais do Lar S

O Lar F tem utentes com idades compreendidas entre os 65 e 85 anos, num total de 17 utentes, sendo que 6 são do sexo feminino e 11 são do sexo masculino, conforme tabela 3.1.1. Alguns dos utentes estão acamados. Muitos dos utentes são diabéticos, hipertensos e sofrem de Alzheimer. Possui 17 poltronas individuais, conforme figura 3.1.3, pelo que neste foram analisadas duas por zaragatoas de superfície.



**Figura 3.1.3** - Aspecto das poltronas individuais do Lar F.

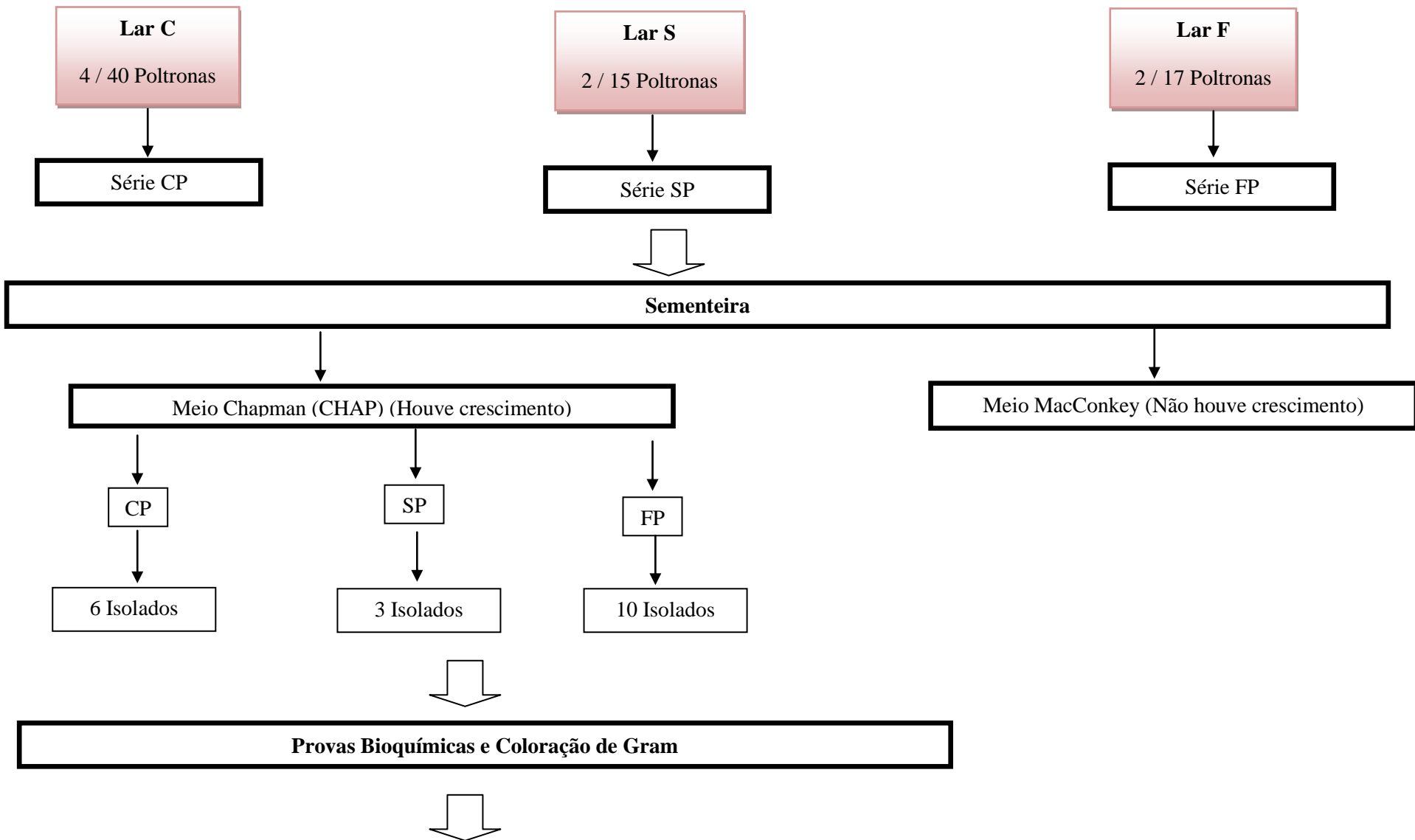
**Tabela 3.1.1** – Número de utentes por género em cada um dos lares em estudo.

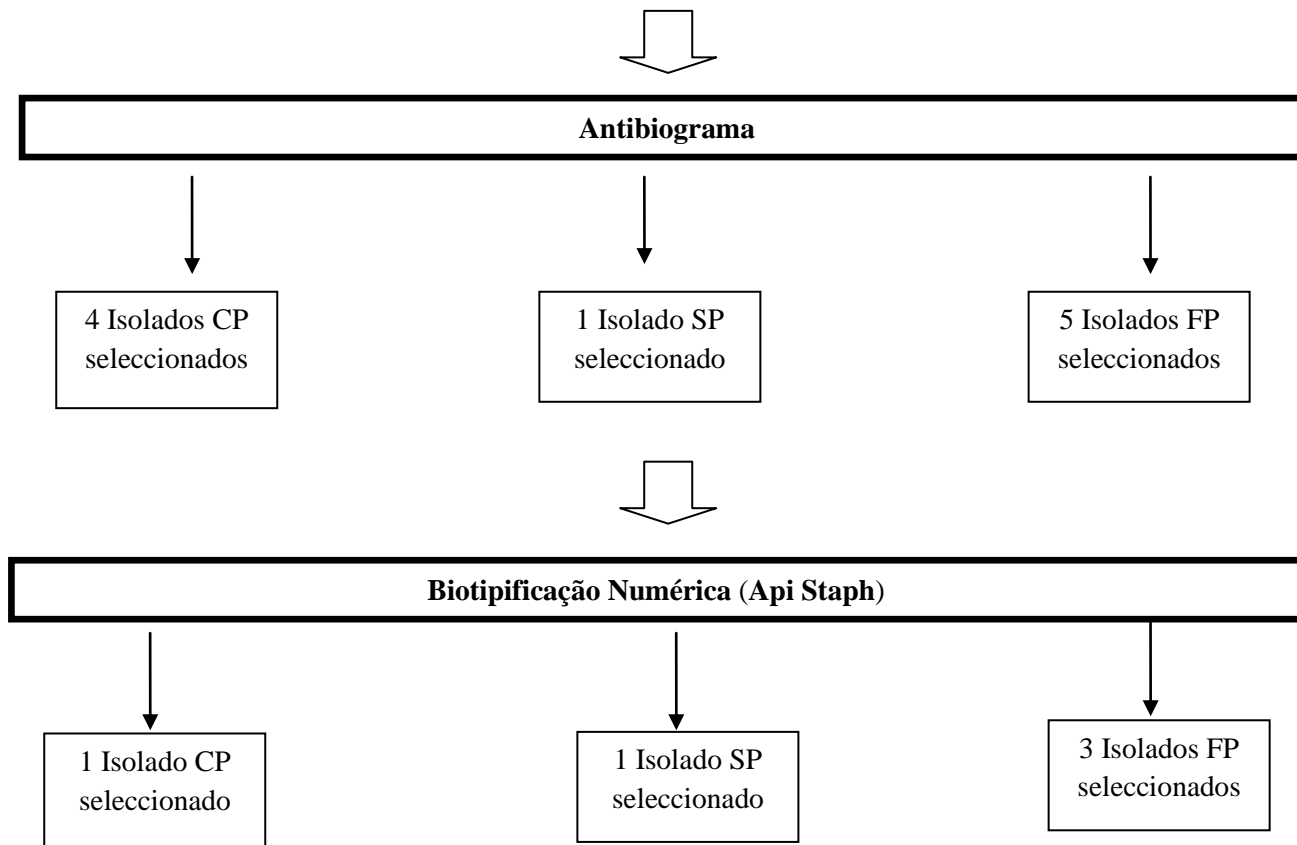
Lares	Utentes	
	Sexo Feminino	Sexo Masculino
<b>C</b>	31 (78%)	9 (23%)
<b>S</b>	10 (67%)	5 (33%)
<b>F</b>	6 (35%)	11 (65%)

Neste estudo as amostras foram analisadas no Laboratório de Microbiologia Médica do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). De todas as estirpes isoladas, procedeu-se somente à conservação, dos microrganismos de Gram positivo, de acordo com o objectivo principal deste estudo que visa a caracterização de bactérias de Gram positivo e o estudo do perfil de resistência a antimicrobianos.

As amostras foram recolhidas para o meio de transporte Cary Blair. O meio Cary Blair é um meio de transporte e é usado na recolha de espécimes clínicos. Originalmente este meio desenvolvido a partir do meio Stuart. Este meio é preparado com nutrientes mínimos para aumentar a sobrevivência dos organismos sem a sua multiplicação. Sendo que, o tioglicolato de sódio é incorporado ao meio para fornecer um potencial de oxidação e redução baixo. O pH do meio é relativamente alcalino o que minimiza a destruição bacteriana devido à formação de ácido. O vermelho de fenol é adicionado como indicador, que é vermelho em pH alcalino e amarelo em pH ácido. O meio pode manter a viabilidade de microrganismos exigentes por apenas um curto período.

Em seguida, efectuaram-se sementeiras em diferentes meios para a caracterização dos géneros bacterianos. Devemos realçar que, apesar de neste trabalho se estudarem apenas os isolados de Gram positivo, também se fizeram sementeiras para isolamento de bactérias de Gram negativo. No estudo do perfil de susceptibilidade a antibióticos foi usado o método de difusão em disco, utilizando a técnica de Kirby-Bauer.





**Figura 3.1.4** – Esquema da metodologia empregue neste estudo.

## 3.2 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

### 3.2.1 Inoculação do meio selectivo

Após a chegada das amostras de material biológico ao Laboratório de Microbiologia Médica do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), estas foram inoculadas em meio selectivo e diferencial, agar MacConkey (Meio 2 - Anexo I) e meio selectivo agar Chapman (Meio 3 - Anexo I), para o isolamento primário de espécies de microrganismos de Gram negativo e de Gram positivo, respectivamente. A metodologia utilizada está referida no Quadro 3.2.1.1.

**Quadro 3.2.1.1** - Procedimentos para obtenção de culturas iniciais.

1.	Identificar as placas;
2.	Efectuar a sementeira em Agar MacConkey e Agar Chapman (Meio 2 e 3 - Anexo I);
3.	Para realizar a sementeira, retirar a zaragatoa do meio de transporte (Cary Blair) (Meio 5 - Anexo I) e, junto à extremidade superior da placa, semear a amostra nos dois primeiros quadrantes. Posteriormente semear pelo método dos quatro quadrantes;
4.	Incubar a 37 °C durante 24 horas, tendo o cuidado de inverter as placas.

### 3.2.2 Isolamento e obtenção de culturas puras

Para caracterizar individualmente um microrganismo é necessário obtê-lo em cultura pura, após sementeira nos meios adequados. As culturas puras podem ser obtidas por vários métodos, nomeadamente pelo método das estrias, método por espalhamento e método por incorporação.

O método utilizado no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD) é o método das estrias pelos quatro quadrantes, conforme Quadro 3.2.2.1.

**Quadro 3.2.2.1** - Procedimentos para o isolamento e obtenção de culturas puras.

1.	Identificar as placas com o número da amostra, produto biológico e data;
2.	Com uma ansa esterilizada, efectuar a sementeira pelo método dos quatro quadrantes, de modo a obter colónias perfeitamente isoladas;
3.	Colocar as placas na estufa em posição invertida, em atmosfera de aerobiose, necessárias para a cultura de diferentes microrganismos patogénicos em laboratório. A temperatura e a humidade também devem ser tidas em consideração.

Após o tempo de incubação as placas eram observadas para verificar a existência de crescimento. Se necessário repetia-se o processo, partindo de uma colónia perfeitamente isolada, de forma a obter uma cultura pura.

**3.2.3 Conservação das estirpes**

A partir de colónias isoladas, procedeu-se à inoculação das culturas em meio líquido de Brain Heart Infusion (BHI) (Meio 1 - Anexo I), incubando-se a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente, conservaram-se as alíquotas de BHI em criotubos contendo 300 µL de glicerol (70%), (Reagente 1 - Anexo II) a -70 °C conforme descrito no Quadro 3.2.3.1.

**Quadro 3.2.3.1** - Conservação das estirpes.

1.	Inocular as estirpes em meio de BHI (Meio 1 - Anexo I);
2.	Incubar as culturas a temperaturas adequadas;
3.	Conservar alíquotas de BHI em criotubos.

**3.3 PROVAS MORFO-FISIOLÓGICOS PARA IDENTIFICAÇÃO**

Para a identificação das espécies bacterianas, deve ser realizada previamente, a coloração de Gram (coloração diferencial), que faz a diferenciação entre

bactérias de Gram negativo e bactérias de Gram positivo (Quadro 3.3.1.1). Realizaram-se provas complementares de identificação (pontos 3.3.1 a 3.3.4).

Existe uma grande variedade de provas que podem ser realizadas, no entanto, os testes considerados neste trabalho foram a coloração diferencial pelo método de Gram (ponto 3.3.1), a prova da oxidase (ponto 3.3.2), catalase (ponto 3.3.3) e coagulase (ponto 3.3.4). As provas complementares auxiliam a identificação, proporcionando resultados de grande utilidade para decidir quais os procedimentos que se deverão considerar subsequentemente.

### 3.3.1 Coloração diferencial pelo método de Gram

Após uma prévia identificação das espécies bacterianas, como prova complementar com o intuito de confirmar a sua identificação, realizou-se a coloração diferencial de Gram (Quadro 3.3.1.1).

**Quadro 3.3.1.1** - Coloração diferencial - Método de Gram.

<b>Esfregaço</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Depositar uma gota do meio de cultura sobre a lâmina e espalhar em camada muito fina;</li><li>2. Deixar secar ao ar, ou colocar sobre a chama de um bico de Bunsen a uma altura onde, com a mão, se suporte o calor, para se evitar a carbonização do Esfregaço;</li><li>3. Passar lentamente a lâmina três vezes pela chama;</li><li>4. Deixar arrefecer;</li></ol>
<b>Técnica de coloração</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>5. Fixar a lâmina numa pinça de Morais Sarmento;</li><li>6. Cobrir o esfregaço com Vermelho de Metilo (Reagente 3 - Anexo II) durante 1 minuto;</li><li>7. Despejar o excesso do corante;</li><li>8. Adicionar Lugol (Reagente 4 - Anexo II), que actua durante 30 segundos;</li><li>9. Remover o mordente;</li><li>10. Lavar com álcool e/ou acetona até que o produto da lavagem fique transparente;</li></ol>

	<p>11. Lavar com água;</p> <p>12. Fazer actuar o corante de contraste, Vermelho Neutro (Reagente 5 - Anexo II), durante 1 a 2 minutos;</p> <p>13. Lavar de novo com água;</p> <p>14. Secar a lâmina entre duas folhas de papel de filtro;</p> <p>15. Observar com objectiva x100, utilizar óleo de imersão.</p>
--	---

### 3.3.2 Prova da citocromo-oxidase

A prova da oxidase baseia-se na capacidade que algumas bactérias possuem de produzir a enzima oxidase, enzima importante no sistema de transporte de electrões durante a respiração aeróbia. Esta prova permite distinguir os membros da família *Enterobacteriaceae* com reacção negativa de outras espécies de microrganismos de Gram negativo que apresentam reacção positiva a esta prova (família não *Enterobacteriaceae*).

O reagente usado para a realização desta prova é uma solução aquosa a 1% de dicloro N-tetrametil p-fenilenodiamina (Merck 8821102) - Reagente oxidase (Reagente 2 - Anexo II), que deve ser preparada no momento da sua utilização e mantida ao abrigo da luz para evitar a sua oxidação.

O Quadro 3.3.2.1 refere a metodologia utilizada na execução desta prova.

#### Quadro 3.3.2.1 - Prova da oxidase.

<b>1.</b>	Colocar uma tira de papel de filtro sobre uma tampa de uma placa de Petri, colocando duas a três gotas do reagente oxidase (Reagente 2 - Anexo II) sobre a tira;
<b>2.</b>	Retirar com uma pipeta de Pasteur, uma pequena porção de uma colónia e colocá-la sobre a tira de papel de filtro;
<b>3.</b>	Se houver mudança de cor (azul escuro) na zona onde se colocou a colónia, a reacção é positiva.

**Nota:** A leitura da reacção deve ser realizada rapidamente (10-15 segundos após a execução)

### 3.3.3 Prova da catalase

A catalase é uma enzima hemoproteica que contém ferro e decompõe o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) em água e oxigénio. A actividade da catalase manifesta-se na maior parte das bactérias aeróbias, e em algumas anaeróbias.

A prova da catalase permite fazer a distinção entre os géneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, ambos cocos Gram positivos. Os estafilococos manifestam uma reacção positiva (catalase positiva), enquanto os estreptococos revelam uma reacção negativa (catalase negativa).

Esta prova realiza-se colocando uma porção de cultura da estirpe em estudo em peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), a metodologia utilizada encontra-se descrita no Quadro 3.3.3. 1.

**Quadro 3.3.3.1** - Prova da catalase.

1.	Numa lâmina desengordurada e passada previamente ao bico de Busen, colocar uma gota de água oxigenada;
2.	De um meio sem sangue, recolher um pedaço de uma colónia e colocá-la sobre a gota de água oxigenada;
3.	Ao verificar efervescência diz-se que a reacção é positiva, ou seja, revela-se a produção de catalase.

### 3.3.4 Prova da Coagulase

A coagulase actua sobre o fibrinogénio transformando-o em fibrina, logo caso se verifique aglutinação o teste é positivo (*Staphylococcus aureus*); sendo válido para estirpes que não apresentem autoaglutinação.

Esta prova realiza-se colocando uma porção de cultura da estirpe em estudo com uma gota de plasma de coelho com EDTA, a metodologia utilizada encontra-se descrita no Quadro 3.3.4.1.

**Quadro 3.3.4.1 - Prova da coagulase.**

1. Numa lâmina desengordurada colocar duas porções de uma colónia em estudo nos extremos de uma lâmina;
2. Em seguida faz-se uma suspensão;
3. Adiciona-se a uma delas uma gota de água destilada (controlo) e à outra uma gota de plasma de coelho com EDTA;
4. Homogeneiza-se bem e observa-se, ao fim de uns minutos;
5. Se o aspecto é idêntico ao controlo, a prova é negativa, ou se ocorreu formação de pequenos agregados resultantes do facto das bactérias ficarem aprisionadas na rede de fibrina, então a prova é positiva.

**3.4 IDENTIFICAÇÃO E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DOS ISOLADOS BACTERIANOS**

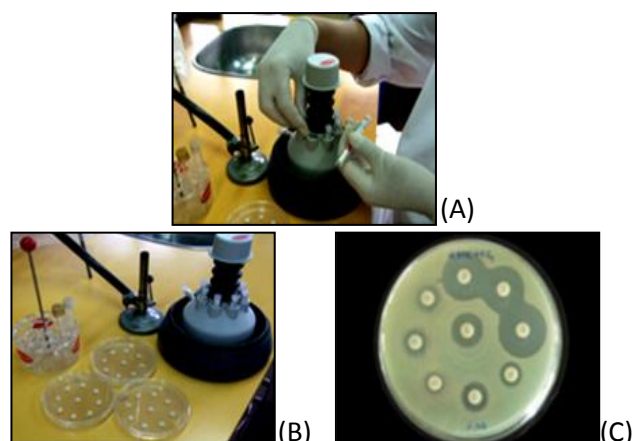
Os antibióticos testados no estudo do perfil de resistência incluíram um largo espectro de antibióticos considerados apropriados para uso terapêutico. O Quadro 3.4.1 apresenta os 18 antibióticos (OXOID) pertencentes a vários grupos, considerados neste estudo.

**Quadro 3.4.1** - Antibióticos testados, no âmbito deste estudo, para avaliação do perfil de susceptibilidade.

<b>Grupo</b>	<b>Antibiótico</b>	
<b><math>\beta</math>-lactâmicos</b>	<b>MET<sub>5</sub></b>	Meticilina
	<b>AML<sub>10</sub></b>	Amoxicilina
<b>Aminoglicosídeos</b>	<b>CN<sub>10</sub></b>	Gentamicina
	<b>S<sub>10</sub></b>	Estreptomicina
	<b>N<sub>10</sub></b>	Neomicina
	<b>NET<sub>30</sub></b>	Netilmicina
<b>Quinolonas</b>	<b>NA<sub>30</sub></b>	Ácido Nalidíxico
	<b>CIP<sub>5</sub></b>	Ciprofloxacina
<b>Tetraciclina</b>	<b>TE<sub>30</sub></b>	Tetraciclina
	<b>OT<sub>30</sub></b>	Oxitetraciclina
<b>Fenicóis</b>	<b>C<sub>30</sub></b>	Clorofenicol
<b>Sulfonamidas</b>	<b>RL<sub>25</sub></b>	Sulfametoxazol
<b>Macrólidos</b>	<b>E<sub>15</sub></b>	Eritromicina
<b>Fosfomicinas</b>	<b>FOS<sub>50</sub></b>	Fosfomicina
<b>Glicopéptidos</b>	<b>VA<sub>30</sub></b>	Vancomicina
	<b>TEC<sub>30</sub></b>	Teicoplanina
<b>Fluroquinolonas</b>	<b>LEV<sub>5</sub></b>	Levofloxacina
<b>Ansamicinas</b>	<b>RD<sub>5</sub></b>	Rifampicina

### 3.4.1 Determinação do perfil de susceptibilidade a agentes antibacterianos

O ensaio de susceptibilidade a diferentes grupos de antibióticos foi realizado pelo método de difusão em disco em agar Mueller-Hinton (Meio 4 - Anexo I), seguindo o procedimento descrito na Figura 3.4.1.1 e no Quadro 3.4.1.1.



**Figura 3.4.1.1** – Metodologia usada no estudo do perfil de susceptibilidade das estirpes isoladas de amostras de zangãos de superfície.

**Legenda:** (A) Colocação dos tubos com os antibióticos no dispensador; (B) Aspecto das placas após colocação dos discos dos diferentes 18 antibióticos; (C) Exemplo do perfil de susceptibilidade obtido para 9 antibióticos.

Os resultados foram analisados de acordo com as normas do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007*), segundo as quais o diâmetro do halo de inibição observado, classifica as estirpes nas categorias, sensível (S), resistente (R) ou intermédio (I). Em situações que não foi possível testar um determinado antibiótico é referido nos resultados uma categoria de não determinado (ND). Posteriormente, os halos de inibição foram determinados respeitando as normas do CLSI (Quadro 3.4.1.1).

**Quadro 3.4.1.1** - Metodologia empregue na técnica de difusão em disco (método Kirby Bauer).

Preparação do inóculo	1.	Preparar uma suspensão bacteriana da estirpe em estudo em soro fisiológico. Ajustar a densidade da suspensão de acordo com a turvação da escala de MacFarland 0,5;
<b>Pré –Incubação</b>	2.	Semear o inóculo em meio Mueller-Hinton (Meio 4 - Anexo I) com uma zangão;
Pré-Difusão	3.	Distribuir com o dispenser os discos de antibióticos sobre a superfície do meio de cultura. Colocar o disco central com uma pinça em condições de assepsia;
<b>Incubação</b>	4.	Incubar na estufa a 37 °C, durante 18-24 horas;
Leitura e observação dos resultados	5.	Medir com uma craveira os halos das zonas de inibição das bactérias face aos diversos antibióticos utilizados (Anexo IV).

### 3.4.2 Biotipificação numérica

A identificação de algumas das estirpes foi complementada pelo sistema de biotipificação numérica API (**Analytical Profile Index**) Staph (bioMérieux), com o objectivo de obter o conhecimento do comportamento bioquímico das estirpes em estudo. A metodologia seguida foi a indicada pelo fabricante, conforme Quadro 3.4.2.1.1.

#### 3.4.2.1 Sistema de identificação numérica API Staph (bioMérieux)

A galeria API Staph é um sistema padronizado para a identificação dos géneros *Staphylococcus*, *Micrococcus* e *Kocuria*, que utiliza testes bioquímicos miniaturizados e especialmente um banco de dados adaptado.



**Figura 3.4.2.1.1** – Imagem de várias galerias API Staph.

[Fonte: Este trabalho].

Este sistema é composto por 20 microtubos contendo substratos desidratados. Estes microtubos são inoculados com uma suspensão bacteriana, preparada em meio API Staph que reconstitui os testes (Quadro 3.4.2.1.1). Durante a incubação o metabolismo produz mudanças de cor ou é revelada pela adição de reagentes (Figura 3.4.2.1.1). As reacções são lidas de acordo com a Tabela de Leitura e a identificação é obtida através do índice analítico do perfil ou usando um software de identificação.

**Quadro 3.4.2.1.1 – Metodologia empregue na galeria API Staph (bioMérieux® 20 590).**

1. Preparar a câmara de incubação, colocando aproximadamente 5 mL de água destilada nos alvéolos para criar uma atmosfera húmida. Após retirar a galeria do invólucro hermético, colocá-la na câmara.
2. Para a preparação do inóculo deve abrir uma ampola de meio Api Staph. Realizar uma suspensão com uma concentração correspondente a 0,5 da escala McFarland, retirando algumas colónias de uma cultura pura.
3. Com uma pipeta encher todos os microtubos com os inoculados do meio Api Staph. Apenas preencher a parte dos tubos dos microtubos e não as cúpulas. Para evitar a formação de bolhas de ar, deve-se ter o cuidado de colocar a ponta da pipeta junto à parede da cúpula.
4. Garantir anaerobiose nos testes ADH e URE, preenchendo as cúpulas com parafina líquida para formar um menisco convexo.
5. Fechar a câmara de incubação e colocar a 37 °C durante 24-48 horas.

### 3.4.3 SUSCEPTIBILIDADE DAS BACTÉRIAS AOS DESINFECTANTES

Conforme mencionado, um desinfectante é uma substância que elimina total ou parcialmente os microrganismos. Quando a eliminação é parcial, tem de resultar um nível não prejudicial de microrganismos para a saúde humana. A sua acção é mais eficaz se for utilizado após uma correcta limpeza. Deixa-se o produto actuar num intervalo de tempo definido, sendo depois removido com água limpa e potável.

Para testar a susceptibilidade das bactérias aos desinfectantes usaram-se dois desinfectantes comerciais, um deles constituído por cloro e compostos de cloro, nomeadamente o desinfectante CROSAN da marca comercial KITER e outro composto por sais de amónio quaternário, o desinfectante SPITZ da marca comercial KITER.

O desinfectante CROSAN é um detergente de manutenção à base de cloro activo, utilizado para a higienização quotidiana de todas as superfícies laváveis. Este pode ser empregue para a desinfecção cruzada combinado com outros desinfectantes, alternadamente. Pode ser utilizado para a desinfecção de pavimentos, paredes, equipamentos, enfermarias, laboratórios, cozinhas, serviços higiénicos nos sectores hospitalares e em comunidades.

Uma das recomendações é não misturar com produtos ácidos e manter protegido da incidência directa da luz e de fontes de calor. Este produto é considerado irritante para os olhos e a pele.

O desinfetante SPITZ é um detergente líquido à base de sais de amónio quaternário de elevado grau de pureza, assegurando uma higienização e limpeza óptimas. Este garante uma acção higienizante eficaz contra uma grande variedade de microrganismos.

Está especialmente indicado para a limpeza e higienização de pavimentos, paredes, equipamentos e artigos sanitários e superfícies laváveis em geral. É recomendado a sua utilização em estabelecimentos de ensino, hospitais, ginásios, casas de repouso e locais públicos. Este produto não é considerado perigoso.

Como referido, a susceptibilidade dos isolados aos desinfetantes foi avaliada pela técnica de difusão em disco (método Kirby Bauer), conforme Quadro 3.4.3.1.

**Quadro 3.4.3.1** – Técnica de difusão em agar com discos brancos, para avaliação da susceptibilidade aos desinfetantes.

Preparação do inóculo	1.	Preparar uma suspensão bacteriana da estirpe em estudo em soro fisiológico. Ajustar a densidade da suspensão de acordo com a turvação da escala de MacFarland 0,5;
<b>Pré -Incubação</b>	2.	Semear o inóculo em meio Mueller-Hinton (Meio 4 - Anexo I) com uma zaragatoa;
Pré-Difusão	3.	Distribuir com o dispenser 3 discos brancos sobre a superfície do meio de cultura. Colocar 15 µL de água num dos discos brancos (usado como controlo negativo), nos restantes discos brancos colocar 15 µL de cada detergente;
<b>Incubação</b>	4.	Incubar na estufa a 37 °C, durante 18-24 horas;
Leitura e observação dos resultados	5.	Medir com uma craveira os halos das zonas de inibição das bactérias face aos detergentes utilizados (em mm).

---

## IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ORIGEM DAS AMOSTRAS

A recolha e posterior tratamento das amostras utilizados neste trabalho, decorreu durante os meses de Abril a Maio de 2011 (período de 1 mês).

Os isolados obtidos durante a realização deste trabalho foram provenientes de 3 lares de idosos, localizados no distrito de Bragança, num total de 8 amostras, nomeadamente 4 amostras do Lar C e 2 amostras, respectivamente, do Lar S e F. As amostras resultaram de zaragatoas à superfície dos apoios de mão das poltronas.

Nas sementeiras utilizou-se um meio sólido selectivo para estirpes de Gram positivo, nomeadamente agar Chapman (características referidas na secção de Material e Métodos).

#### 4.1.1 Colecção de isolados

Aos isolados obtidos, conforme a metodologia descrita nos pontos 3.1 e 3.2, foi-lhes sendo atribuída uma referência constituída por letras e números. O conjunto das letras identificam o local da recolha e o meio de cultura utilizado, os números reconhecem a diversidade das colónias.

Na tabela 4.1.1.1 pode-se observar a descrição dos isolados de Gram positivo obtidos por cada amostra recolhida dos lares em estudo, bem como a referência atribuída a cada um.

**Tabela 4.1.1.1** - Descrição dos isolados obtidos por cada amostra de zaratogas de superfície.

Lar	Referência	Meios de Cultura		Nº Isolados	
		MacConkey	Chapman	Chapman	
C	CP <sub>1</sub>	CP <sub>1</sub> MAC	CP <sub>1</sub> CHAP	CP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub>	1
	CP <sub>2</sub>	CP <sub>2</sub> MAC	CP <sub>2</sub> CHAP	CP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	1
	CP <sub>3</sub>	CP <sub>3</sub> MAC	CP <sub>3</sub> CHAP	-	0
	CP <sub>4</sub>	CP <sub>4</sub> MAC	CP <sub>4</sub> CHAP	CP <sub>4</sub> CHAP <sub>1</sub> CP <sub>4</sub> CHAP <sub>2</sub> CP <sub>4</sub> CHAP <sub>3</sub> CP <sub>4</sub> CHAP <sub>4</sub>	4
S	SP <sub>1</sub>	SP <sub>1</sub> MAC	SP <sub>1</sub> CHAP	-	0
	SP <sub>2</sub>	MAC	SP <sub>2</sub> CHAP	SP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub> SP <sub>2</sub> CHAP <sub>2</sub> SP <sub>2</sub> CHAP <sub>3</sub>	3
F	FP <sub>1</sub>	FP <sub>1</sub> MAC	FP <sub>1</sub> CHAP	FP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub> FP <sub>1</sub> CHAP <sub>2</sub> FP <sub>1</sub> CHAP <sub>3</sub> FP <sub>1</sub> CHAP <sub>4</sub>	4
	FP <sub>2</sub>	FP <sub>2</sub> MAC	FP <sub>2</sub> CHAP	FP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub> FP <sub>2</sub> CHAP <sub>2</sub> FP <sub>2</sub> CHAP <sub>3</sub> FP <sub>2</sub> CHAP <sub>4</sub> FP <sub>2</sub> CHAP <sub>5</sub> FP <sub>2</sub> CHAP <sub>6</sub>	6

**Legenda:** CP<sub>1</sub> - Lar C Poltrona 1; CP<sub>2</sub> - Lar C Poltrona 2; CP<sub>3</sub> - Lar C Poltrona 3; CP<sub>4</sub> - Lar C Poltrona 4; SP<sub>1</sub> – Lar S Poltrona 1; SP<sub>2</sub> - Lar S Poltrona 2; FP<sub>1</sub> – Lar F Poltrona 1; FP<sub>2</sub> – Lar F Poltrona 2;

O presente trabalho fará referência às estirpes de Gram positivo obtidas após uma cuidadosa análise microbiológica. De acordo com a tabela obtiveram-se no total 19 isolados provenientes de amostras de zaratogas de superfície às poltronas dos três lares de terceira idade em estudo: no Lar C foram obtidos 6 isolados, no Lar S-3 isolados e no Lar F-10 isolados.

Após a respectiva colheita, as amostras foram inoculadas em meio sólido agar Chapman, que segundo especificação do fabricante é selectivo para de Gram positivo. Após o período de incubação, com o intuito de se obter cultura pura repicaram-se as colónias para diferentes placas. As amostras foram também inoculadas em meio agar MacConkey para se proceder a uma despistagem para bactérias de Gram negativo. Não se verificou qualquer tipo de crescimento de isolados neste meio diferencial.

As zaratogas correspondentes a CP<sub>3</sub> e SP<sub>1</sub>, não cresceram em nenhum dos meios de cultura, isto é, meio MacConkey e meio Chapman.

Para as restantes zaragatoas verificou-se o crescimento no meio Chapman, que é um meio selectivo de bactérias Gram positivo, contendo elevado teor de sal (NaCl).

Perante o crescimento observado, concluímos que estamos na presença de cocos Gram positivo, podendo fazer uma identificação preliminar.

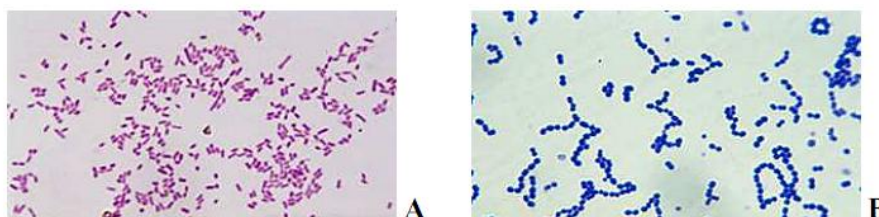
## 4.2 PROVAS MORFO-FISIOLÓGICAS

### 4.2.1 Coloração de Gram, Citocromo-oxidase, Catalase e Coagulase

Aos isolados obtidos foi realizada a coloração pelo método de Gram, bem como outras provas bioquímicas.

A observação de microrganismos reveste-se de dificuldades não só devido à sua reduzida dimensão mas, também, porque estes se apresentam praticamente incolores. Com o propósito de estudar as suas propriedades e/ou de diferenciar os microrganismos em grupos específicos para fins taxonómicos e de diagnóstico, recorre-se normalmente a técnicas de coloração.

A coloração de Gram é uma técnica utilizada em Microbiologia para diferenciar bactérias de Gram negativo (Figura 4.2.1.1 A), de bactérias de Gram positivo (Figura 4.4 B), sendo indispensável para a identificação de diversos microrganismos. As bactérias de Gram negativo devido à constituição da sua parede celular, não têm a capacidade de reter o corante violeta de metilo, apresentando uma cor avermelhada, conferida pelo vermelho neutro (corante de contraste utilizado na coloração de Gram).



**Figura 4.2.1.1 - (A) Coloração de estirpes de Gram negativo, (B) Coloração de estirpes de Gram positivo (Paradela, 2008).**

Através da coloração de Gram confirmou-se que todos os isolados são Gram positivo, isto é, são cocos Gram positivo em cacho.

A prova da oxidase permite diferenciar, dentro das bactérias, as que pertencem à família *Enterobacteriaceae* (oxidase negativa) daquelas que pertencem à família não *Enterobacteriaceae* (oxidase positiva). No entanto, é também utilizada como prova morfo-fisiológica em outros géneros bacterianos. Assim, de acordo com a prova da oxidase, todos os isolados bacterianos apresentaram oxidase negativa.

A prova da catalase permite fazer a distinção entre o género *Staphylococcus* e *Streptococcus*, ambos cocos positivos. De acordo com a prova da catalase, todos os isolados bacterianos apresentaram reacção positiva, ou seja, em relação a estes isolados identificou-se o género *Staphylococcus*.

A prova da coagulase permite identificar *Staphylococcus aureus*. De acordo com a prova da coagulase não se verificou aglutinação, coagulase negativa, logo não se está perante *Staphylococcus aureus*.

Assim, do total de isolados de Gram positivo (n=19), através do meio de crescimento agar Chapman e das provas morfo-fisiológicas efectuadas podemos inferir ter obtido isolados do género *Staphylococcus*.

#### **4.2.2 Biotipificação Numérica**

A identificação dos isolados Gram positivos, FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>, FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub>, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub>, SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>, CP<sub>4</sub>CHAP<sub>1</sub> foi realizada por biotipificação numérica, utilizando o sistema de identificação Api Staph ((bioMérieux® 20 590).

A biotipificação numérica só se efectuou nestes isolados uma vez que se pretendeu ter pelo menos um isolado por cada lar, também se teve em conta o resultado do antibiograma, pois os isolados FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> e CP<sub>4</sub>CHAP<sub>1</sub> apresentaram resistência ao antibiótico metilina e o isolado FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub> não tinha em meio Mueller Hinton, um crescimento muito acentuado.



**Figura 4.2.2.1** – Sistema de Identificação numérica API Staph (bioMérieux® 20 590).

[Fonte: Resultados deste trabalho].

Pelo sistema (bioMérieux® 20 590) foram identificadas três espécies bacterianas pertencentes a géneros distintos, nomeadamente a espécie *Staphylococcus epidermidis* (FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>), *Staphylococcus xylosus* (FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub>) e *Staphylococcus cohnii* (SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>). Com base no perfil bioquímico apresentado pelos isolados, o correspondente número de identificação obtido pelo sistema foi 6706113, 6736452 e 6734102 para os isolados FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>, FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub> e SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>, respectivamente.

Para os restantes isolados, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> e CP<sub>4</sub>CHAP<sub>1</sub> não foi possível obter qualquer identificação, uma vez que o código obtido pelo sistema numérico (6234151 e 6236111), não apresentou correspondência no respectivo livro de identificação. Este facto pode ocorrer pela diversidade bacteriana que o género *Staphylococcus* apresenta e teríamos que recorrer a outras abordagens para identificação nomeadamente a métodos genéticos, como a sequenciação.

**Tabela 4.2.2.1** – Identificação dos isolados pelo sistema Api Staph (bioMérieux® 20 590).

Referência	Provas Bioquímicas																			
	0	G L U	F R U	M N E	M A L	L A C	T R E	M N A	X L T	M E L	N I T	P A L	V P	R A F	X Y L	S A C	M D G	N A G	A D H	U R E
FP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
FP <sub>1</sub> CHAP <sub>4</sub>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+
FP <sub>2</sub> CHAP <sub>4</sub>	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-
SP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
CP <sub>4</sub> CHAP <sub>1</sub>	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-

**Legenda:** 0 – Controlo negativo; GLU – D-glucose; FRU – D-frutose; MNE – D-manose; MAL – D-maltose; LAC – D-lactose ; TRE – D-trehalose ; MAN – D-manitol ; XLT - Xilose ; MEL – D-melibiose; NIT – Nitrato de potássio; PAL – β- fostato de naftil; VP – Piruvato de sódio; RAF –D-rafinose; XYL – D-xilose; SAC - Sacarose; MDG - metil-αD-glucopiranoside; NAG - N-acetil-glucosamina; ADH - L-arginina; URE - Ureia.

### 4.3 Perfil de Susceptibilidade a Agentes Bacterianos

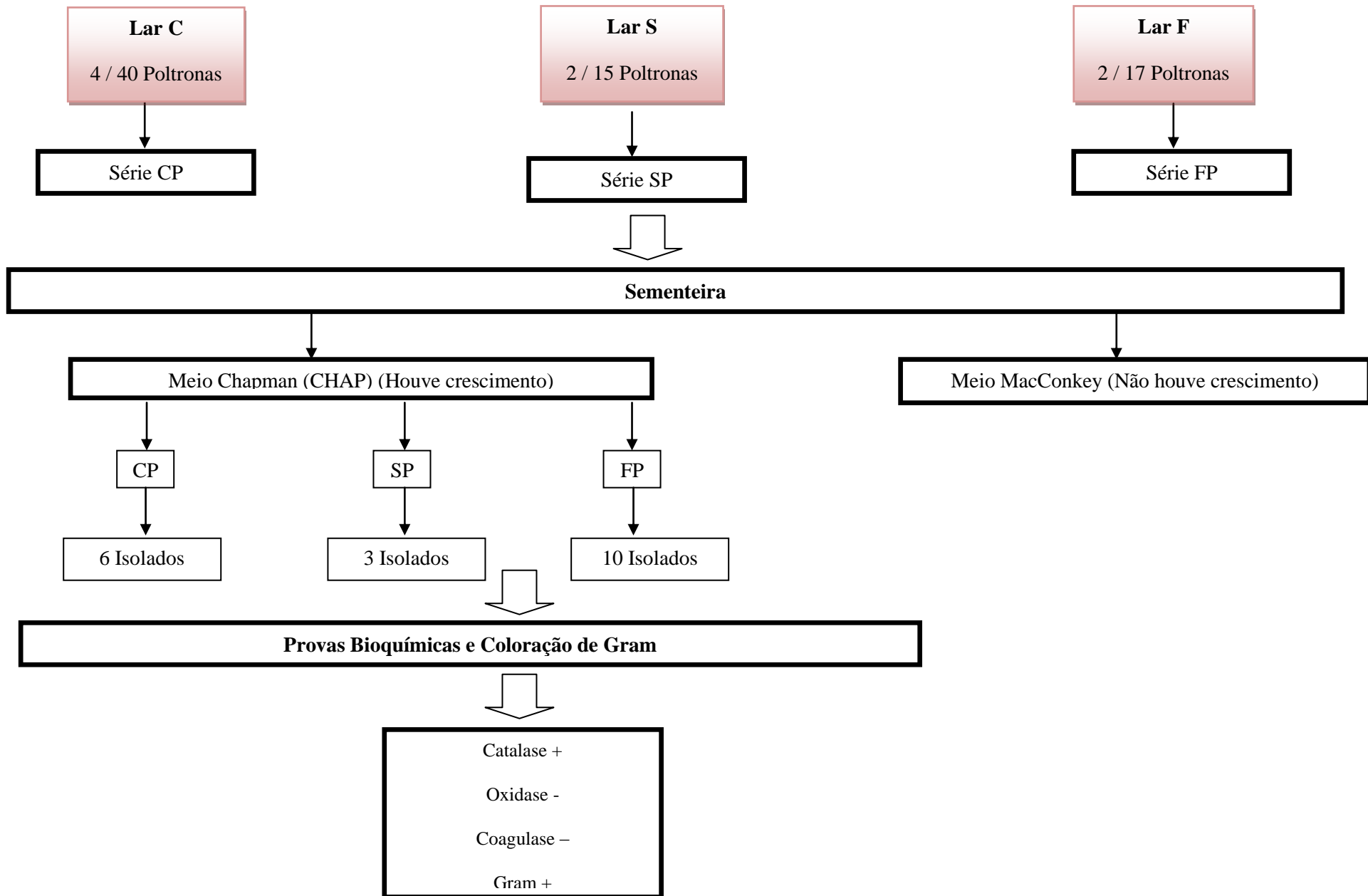
A resistência bacteriana ocorre quando a bactéria evolui, possuindo mecanismos de resistência, para combater o modo de acção do fármaco.

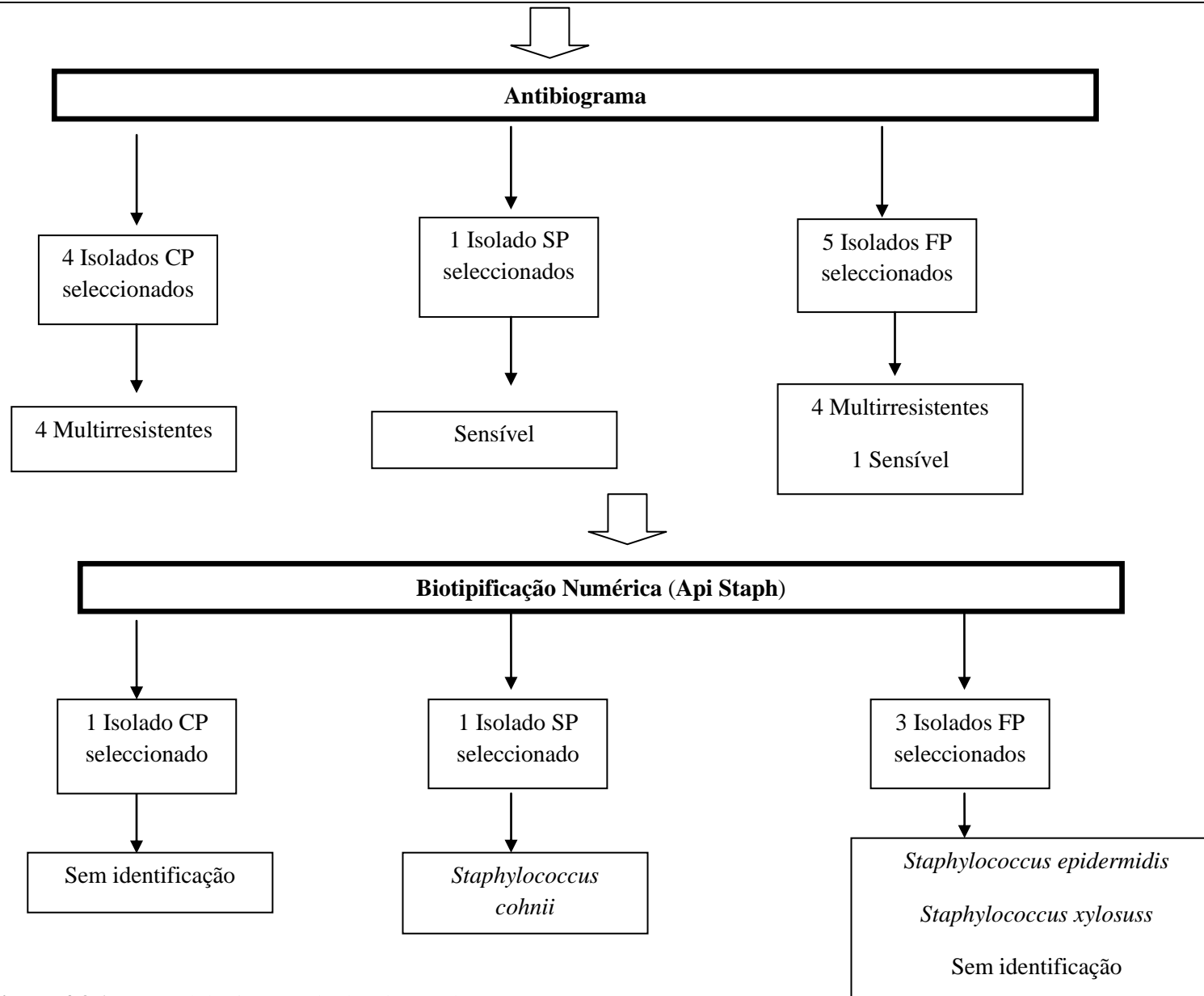
A sensibilidade da bactéria ao antibiótico constitui factor importante para o sucesso terapêutico da respectiva infecção bacteriana, e o ideal é que o antibiótico a ser usado para o tratamento de determinada infecção seja seleccionado após a identificação e determinação de sua sensibilidade ao fármaco.

O antibiograma corresponde à determinação, em laboratório de Microbiologia, do grau de sensibilidade de um microrganismo a determinados antibióticos ou antibacterianos. Serve como orientação para a prescrição do fármaco mais adequado para o tratamento.

Com o objectivo de se conhecer a resposta dos isolados à presença de um conjunto de antibióticos, realizaram-se provas de avaliação do perfil de susceptibilidade a agentes bacterianos. Escolhidos os grupos de antibióticos a utilizar foram elaborados os perfis de susceptibilidade pelo método de difusão em disco, estes foram escolhidos de acordo com o tipo de bactéria em estudo, isto é, estamos perante bactérias Gram positivo.

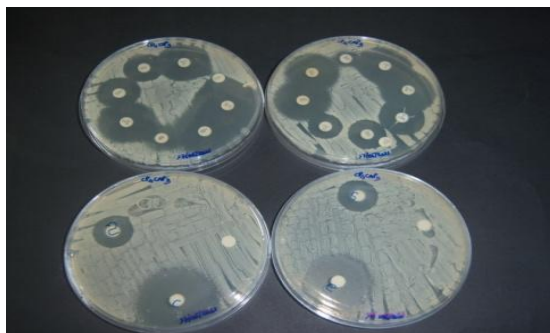
Foram estudados 10 isolados de Gram positivo, sendo presumivelmente todos do género *Staphylococcus*. Para se proceder à realização do antibiograma, foram seleccionados 10 isolados do total de 19. Esta selecção foi efectuada tendo em conta a presumível identificação pelo sistema numérico API e o número de isolados total obtidos em cada lar. Assim, dos 10 isolados do Lar F, foram testados 5; dos 6 isolados do Lar C, foram testados 4; e dos 3 isolados do Lar S, foi testado 1, conforme a Figura 4.3.1.





**Figura 4.3.1** – Metodologia e resultados do estudo.

Por outro lado, nesta selecção teve-se em conta o tamanho das colónias dos isolados, seleccionando-se representantes de cada uma das categorias: tamanho pequeno, médio e grande. Esta abordagem foi efectuada de modo a que a possível diversidade de estirpes obtidas fosse estudada.



**Figura 4.3.2** – Antibiograma efectuado com o isolado CP<sub>4</sub>CHAP<sub>3</sub>.

Na tabela 4.3.1 estão representados os resultados obtidos dos antibiogramas realizados para os 18 antibióticos testados, pertencentes a 11 grupos, nos 10 isolados de Gram positivo, que presumivelmente, foram considerados *Staphylococcus*.

**Tabela 4.3.1** – Halos de inibição (mm) e categorias para avaliação do perfil de susceptibilidade a agentes antimicrobianos dos *Staphylococcus* spp testados.

Amostras		Grupos Antibióticos	β-Lactâmicos		Aminoglicosídeos			Quinolonas		Tetraciclinas		Fenicóis	Sulfonamidas	Macrólidos	Fosfomicina	Glicopéptidos		Fluroquinolonas	Ansamicinas	
		Antibióticos	MET <sub>(5)</sub>	AML <sub>(10)</sub>	CN <sub>(10)</sub>	S <sub>(10)</sub>	N <sub>(10)</sub>	NET <sub>(30)</sub>	NA <sub>(30)</sub>	CIP <sub>(5)</sub>	TE <sub>(30)</sub>	OT <sub>(30)</sub>	C <sub>(30)</sub>	RL <sub>(25)</sub>	E <sub>(15)</sub>	FOS <sub>(50)</sub>	VA <sub>(30)</sub>	TEC <sub>(30)</sub>	LEV <sub>(5)</sub>	RD <sub>(5)</sub>
Lar C	CP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub>		22 S	16 I	ND	18 S	19 S	25 S	12 R	30 S	20 S	20 S	20 S	0 R	27 S		19 S	15 S	30 S	30 S
	CP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>		ND	34 S	ND	18 S	18 S	26 S	14 I	32 S	24 S	26 S	10 R	0 R	26 S	ND	16 S	15 S	29 S	
	CP <sub>4</sub> CHAP <sub>1</sub>		0 R	ND	ND	18 S	20 S	27 S	0 R	16 I	20 S	30 S	30 S	22 S	0 R	0 R	20 S	20 S	17 I	36 S
	CP <sub>4</sub> CHAP <sub>3</sub>		23 S	ND	ND	20 S	20 S	26 S	10 R	27 S	27 S	25 S	26 S	12 I	0 R	ND	19 S	17 S	28 S	31 S

**Tabela 4.3.1 - Halos de inibição (mm) e categorias para avaliação do perfil de susceptibilidade a agentes antimicrobianos dos *Staphylococcus* spp testados. (Continuação)**

Lar F	FP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub>	0	13		18	19	22	0	16	20	17	24	0	0		18	15	16	30
	FP <sub>1</sub> CHAP <sub>3</sub>	23			19	15	27	10	30	24	22	26	0	0		18	18	26	36
FP <sub>1</sub> CHAP <sub>4</sub>	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
FP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	26	19	30	21	21	26	16		26		26	20	10		19	17			
FP <sub>2</sub> CHAP <sub>4</sub>	11	17	25	21	16	24	0	0	26	25	24	0	24	26	17	14	0	32	
Lar S	SP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	19	24	24	17	19	25	15	30	29	26	30	26	28	18	18	17	30	32
		R	R	ND	S	S	S	R	I	S	I	S	R	R	ND	S	S	I	S
		S	ND	ND	S	I	S	R	S	S	S	S	R	R	ND	S	S	S	S
		S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
		S	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
		I	I	S	S	I	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S
		S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

**Legenda:** Meticilina- MET<sub>(5)</sub>, Vancomicina- VA<sub>(30)</sub>, Teicoplanina- TEC<sub>(30)</sub>, Tetraciclina- TE<sub>(30)</sub>, Oxitetraciclina- OT<sub>(30)</sub>, Ácido nalidíxico- NA<sub>(30)</sub>, Levofloxacina-LEV<sub>(5)</sub>, Ciprofloxacina- CIP<sub>(5)</sub>, Fosfomicina- FOS<sub>(50)</sub>, Neomicina- N<sub>(10)</sub>, Netilmicina- NET<sub>(30)</sub>, Eritromicina-E<sub>(15)</sub>, Rifampicina- RD<sub>(5)</sub>, Cloranfenicol- C<sub>(30)</sub>, Sulfametoxazol- RL<sub>(25)</sub>, Gentamicina- CN<sub>(10)</sub>, Estreptomicina- S<sub>(10)</sub>, Amoxicilina- AML<sub>(10)</sub>.  
ND – Não Determinado  
Cor rosa – resistência; cor azul claro - intermédia

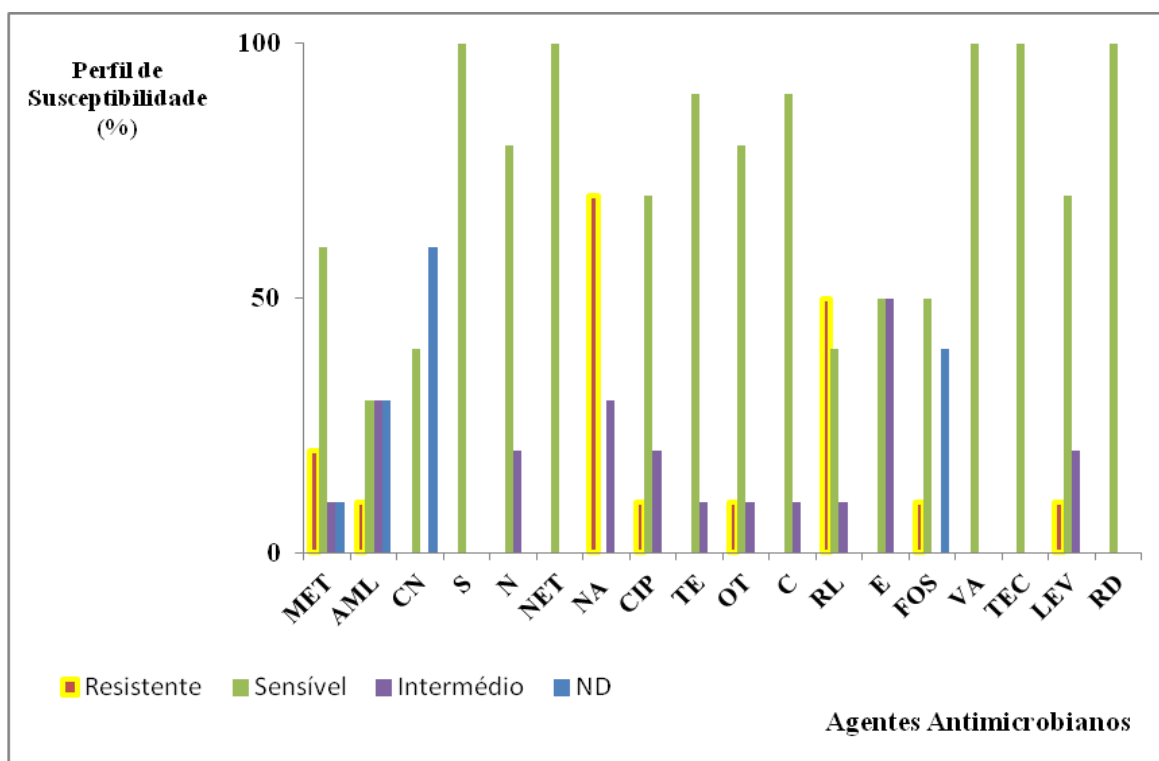
O aumento da incidência de estirpes bacterianas resistentes e multirresistentes é uma das grandes preocupações dos profissionais de saúde a nível mundial, nomeadamente, muitos dos esforços, têm sido direccionados para a gestão e monitorização do uso racional dos antibióticos e resistência bacteriana, em ambiente clínico (ADA, 1999; Paterson, 2006; Watkinson *et al.*, 2007).

O surgimento de estirpes bacterianas que apresentam resistência a uma variedade de antibióticos, ou seja, estirpes que são resistentes a múltiplas drogas está a tornar-se a principal causa de falha no tratamento de infecções em todo o mundo (Hancock, 2005).

O aumento significativo no número de infecções por bactérias Gram positivo observada ao longo dos últimos anos tem sido relacionado com muitos factores, incluindo o abuso de alguns agentes antimicrobianos anti-Gram negativos na terapêutica e profiláctica e em parte a um efeito colateral das mudanças no cuidado clínico dos pacientes (Borbone *et al.*, 2007). Com o aumento da prevalência de infecções por bactérias Gram positivo, existe a problemática da resistência de estafilococos, estreptococos e enterococos tornar-se mais comum, já que estes também desenvolveram resistência a muitos medicamentos que antes eram eficazes (Borbone *et al.*, 2007).

O aparecimento de resistência aos antibióticos para uma nova molécula antimicrobiana em hospitais e na comunidade em geral, geralmente ocorre pouco depois do novo agente começar a ser usado na terapia e muitas vezes pode ser observada já em ensaios clínicos. No início, o novo agente é altamente eficaz em matar a maioria dos microrganismos alvo. No entanto, relativamente pouco depois, estirpes resistentes podem ocorrer (Fernández *et al.*, 2011).

A compreensão dos mecanismos de acção dos antibióticos pode influenciar a escolha de combinações de antibióticos que são usados num esforço para evitar especialmente o antagonismo (Hancock, 2005). Neste trabalho, não se procedeu à realização do estudo dos mecanismos de resistência utilizados por estas estirpes, no entanto poderá ser efectuado em trabalhos subsequentes.



**Figura 4.3.3** - Perfil de susceptibilidade a antibióticos das estirpes de *Staphylococcus* spp. testadas.

Analisando os resultados da Tabela 4.3.1 e tendo em conta a Figura 4.3.3 verificamos que todas as estirpes estudadas foram susceptíveis à vancomicina e teicoplanina (Glicopéptidos), à netilmicina e estreptomicina (Aminoglicosídicos) e à rifampicina (Ansamícinas). No caso da gentamicina, das 4 estirpes testadas todas mostraram sensibilidade a este antibiótico.

O presente estudo, também evidenciou a prevalência de estirpes bacterianas multi-resistentes. Das 10 estirpes estudadas, 8 delas apresentaram um perfil multi-resistente, isto é, apresentaram resistência a 2 ou mais antibióticos. Os antibióticos que mostraram menos eficácia às estirpes estudadas foram o ácido nalidíxico (Quinolona), a eritromicina (Macrólido) e o sulfametoxazol (Sulfonamida) como se pode constatar analisando a Figura 4.3.3.

Dentro do grupo das quinolonas, tal como esperado, a ciprofloxacina foi mais eficiente que o ácido nalidíxico, o que poderá ser justificado pelo facto das fluoroquinolonas terem um espectro de acção mais alargado ao das quinolonas. A ciprofloxacina apresentou uma percentagem de resistência consideravelmente inferior à do ácido nalidíxico, sendo que este apresentou uma resistência em 7 de 10 estirpes testadas e a ciprofloxacina uma resistência de 1 em 10 estirpes.

A maioria das quinolonas actualmente no mercado ou em desenvolvimento são geralmente caracterizadas por um amplo espectro antibacteriano, mas a sua actividade clínica contra importantes cocos Gram positivos, incluindo estafilococos, estreptococos e enterococos é relativamente moderada. Esta actividade insuficiente não só é limitada ao seu uso em infecções causadas por estes organismos, como também contribuíram para o rápido desenvolvimento de resistência às quinolonas (Zhang *et al.*, 2010).

O ácido nalidíxico foi o primeiro antibiótico a ser administrado em ensaios clínicos em 1963, mas falhou devido ao seu desenvolvimento de resistência rápido (Skyrianou *et al.*; 2011). Posteriormente, a ciprofloxacina e as fluoroquinolonas foram introduzidas e estas últimas tornaram-se num fármaco muito importante na medicina humana. O uso mais frequente de ciprofloxacina em ambientes hospitalares levou a um aumento do nível de resistência, e há uma forte correlação entre a frequência de fluoroquinolona na prescrição e a sua resistência (Fernández *et al.*, 2011). O nível de resistência à ciprofloxacina varia de acordo com os mecanismos envolvidos (Skyrianou *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2011).

A resistência às quinolonas que são usadas, actualmente ocorre entre praticamente todas as estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina, mas também ocorre entre algumas estirpes sensíveis à meticilina (Appelbaum *et al.*, 2005), como se pode constatar através dos resultados da Tabela 4.3.1 nos isolados FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> e CP<sub>4</sub>CHAP<sub>1</sub> que são espécies de *Staphylococcus* Meticilina Resistentes (MRS).

Em relação às sulfonamidas, ao antibiótico sulfametoxazol, apresentou um perfil de resistência de 5 em 10 estirpes.

A resistência ao sulfametoxazol tem aumentado em todo o mundo, mesmo nas infecções comunitárias, limitando o seu uso como antibiótico empírico. Desde o final da década de 80 já se observava uma notável diminuição na susceptibilidade dos uropatógenos para esses antimicrobianos (Bail *et al.*, 2006).

Este aumento da resistência às sulfonamidas deve-se ao seu efeito bacteriostático, pois impede o crescimento bacteriano (Sousa, 2006).

O grupo dos macrólidos, (eritromicina) tal com o anterior apresentou um perfil de resistência de 5 em 10 estirpes.

Os antibióticos macrólidos, em geral, são fracos agentes anti-estafilocócicos e o seu espectro de acção para infecções estafilocócicas sistémicas é muito limitado (Danias *et al.*, 1998). A resistência aos macrólidos, em si aumentou ao longo do tempo devido a um grande aumento nas prescrições administradas (Fernández *et al.*, 2011).

Dos antibióticos testados com menor número de estirpes resistentes temos o grupo dos  $\beta$ -lactâmicos que apresentou um perfil de resistência de 2 em 10 estirpes para a meticilina e 1 em 10 para a amoxicilina.

Tanto as tetraciclina, como os fenicóis e a fosfomicina apresentaram uma resistência de 1 em 10 estirpes.

A fosfomicina é um antibiótico bactericida que interfere com a síntese da parede celular em bactérias Gram positivo e Gram negativo. Possui um amplo espectro de actividade contra uma gama ampla de bactérias Gram positivas e negativas. A fosfomicina pode ser eficaz em combinação com outros antibióticos, tais como antibióticos  $\beta$ -lactâmicos ou aminoglicosídicos (Michalopoulos *et al.*, 2011).

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos são relativamente seguros e inócuos, isto dependendo da sua forma de actuação comum, que consiste na interferência nos processos metabólicos da síntese de peptidoglicano (Sousa, 2006).

Relativamente aos glicopéptidos, aminoglicosídicos e ansamicinas estes antibacterianos revelaram-se uma boa opção terapêutica, uma vez que todas as estirpes em estudo se revelaram susceptíveis à sua actividade antimicrobiana, como se pode verificar na figura 4.3.3.

A rifampicina demonstra uma ampla gama de anti-actividade bacteriana contra a maioria das bactérias cocos, Gram positivo (Michalopoulos *et al.*, 2011).

O antibiótico glicopeptídeo vancomicina tem sido considerada a última linha de defesa para uma série de importantes patogénios resistentes a drogas (Stephenson *et al.*, 2005), e segundo Solomkin e colaboradores (2004), a vancomicina é um antibiótico que exerce actividade bactericida através da inibição da biossíntese da parede celular bacteriana. De acordo com Appelbaum e colaboradores (2005), os glicopeptídeos, como a vancomicina foram uma das poucas classes antimicrobianas que são activos contra todos os estafilococos e a teicoplanina permanece em grande parte eficaz contra estafilococos.

Tendo em conta o perfil de susceptibilidade de cada grupo de antibióticos para cada isolado verificou-se o seguinte:

- $\beta$ -lactâmicos: o isolado FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub> apresentou resistência tanto à meticilina como à amoxicilina, sendo que os restantes apresentaram sensibilidade.

- aminoglicosídeos: todos os isolados foram sensíveis à gentamicina, netilmicina, estreptomina e somente os isolados FP<sub>1</sub>CHAP<sub>3</sub>, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> apresentaram uma susceptibilidade intermédia.

- tetraciclina: todos os isolados apresentaram sensibilidade à tetraciclina e oxitetraciclina, excepto o isolado FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub> que apresentou um perfil de resistência.

- fenicóis: somente o isolado CP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub> apresentou resistência ao cloranfenicol.

-sulfonamidas: somente os isolados CP<sub>4</sub>CHAP<sub>1</sub>, FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub>, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub> e SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub> apresentaram um perfil de susceptibilidade, os restantes isolados apresentaram um perfil de resistência.

- macrólidos: metade dos isolados apresentou sensibilidade à eritromicina, isto é, os isolados CP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>, CP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>, FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub>, FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> e SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>, os restantes apresentaram um perfil de resistência.

- fosfomicina: o único isolado que apresentou resistência à fosfomicina foi o isolado FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub>.

- fluoroquinolonas: o isolado FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> foi o único que apresentou resistência à Levofloxacina.

O isolado FP<sub>2</sub>CHAP<sub>4</sub> apresentou resistência às quinolonas e às fluoroquinolonas. Segundo Fernández e colaboradores (2011), o uso recorrente de ciprofloxacina em ambientes hospitalares levou a um aumento do seu nível de resistência. Esta resistência aos antibióticos é observada frequentemente quando estes são utilizados por um período de tempo prolongado. Esta resistência é adquirida e pode-se desenvolver através de uma mutação no DNA do microrganismo ou por aquisição de genes localizados em elementos genéticos móveis. Os plasmídeos têm aproximadamente 10 genes codificadores de resistência a vários antibióticos. As bactérias podem transmitir essas características a outras bactérias (Gold e Mollering; 1996).

De entre os isolados obtidos identificaram-se 3 espécies diferentes de *Staphylococcus*, nomeadamente *S. epidermidis* (isolado FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub>), *S. xylosus* (isolado FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub>) e *S. cohnii* (isolado SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>).

Nos últimos anos, *Staphylococcus epidermidis* tem surgido como um agente etiológico frequente de infecções associadas a dispositivos médicos (Arciola et al., 2001). De acordo com Ziebuhr e colaboradores (2006) tem sido responsável por infecções hospitalares, especialmente em pacientes com factores predisponentes, tais como o uso de cateteres, pacemaker, cateterismo urinário e uma gama de outros polímeros e implantes metálicos. No nosso trabalho, *S. epidermidis* apresentou um perfil de elevada resistência.

Considerando o referido por Azevedo e colaboradores (2008), *Staphylococcus cohnii* é reconhecido como um microrganismo da microbiota normal de humanos e outros primatas. Também pode ser encontrado em ambiente hospitalar. Quando isolado de infecções em humanos usualmente apresenta um perfil de multi-resistência, mas tal não foi observado neste trabalho, uma vez que apresentou sensibilidade a todos os antibióticos.

A presença de *S. xyloso* no Lar poderá ser devida a contaminação cruzada do ambiente das cozinhas.

Por outro lado, as outras 2 espécies identificadas, poderão resultar de contaminação hospitalar (nosocomiais), o que não é de estranhar atendendo às características dos utentes dos Lares, logo a resistência que se verificou a determinados grupos de antibióticos não é surpreendente. De notar que estes indivíduos recorrem muitas vezes a Centros Hospitalares.

As espécies *S. epidermidis* e *S. xyloso* foram identificadas no Lar F, nomeadamente nos isolados, FP<sub>1</sub>CHAP<sub>1</sub> e FP<sub>1</sub>CHAP<sub>4</sub> e a espécie *S. cohnii* foi identificada no Lar S, no isolado SP<sub>2</sub>CHAP<sub>1</sub>.

Nestas instituições verificou-se que cada utente, normalmente usa sempre a mesma poltrona, logo podemos inferir que os resultados obtidos advêm do facto de haver falta de cuidados de higiene pessoal por parte destes e possivelmente dos próprios profissionais. Tendo em conta estes resultados recomenda-se a consciencialização de todos os intervenientes para uma boa prática de cuidados de higiene.

#### **4.4 Susceptibilidade dos isolados aos desinfetantes**

Com o objectivo de se conhecer a resposta dos isolados à presença de desinfetantes, realizaram-se provas de avaliação do perfil de susceptibilidade a 2 tipos de desinfetantes. Tal como anteriormente foram estudados os mesmos 10 isolados de bactérias de Gram positivo. Os desinfetantes avaliados foram o CROSAN e SPITZ através do método de difusão em disco (método Kirby Bauer).

Os resultados mostram (Tabela 4.4.1) que os isolados foram sensíveis a ambos os produtos.

**Tabela 4.4.1** – Halos de inibição (mm) e categorias para avaliação do perfil de susceptibilidade dos isolados aos desinfetantes testados.

AMOSTRAS	CROSAN		SPITZ		VANCOMICINA (controlo positivo)	
	Halos (mm)	Categoria	Halos (mm)	Categoria	Halos (mm)	Categoria
CP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub>	26 /30	S	25/26	S	19	S
CP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	22/22	S	24/24	S	16	S
CP <sub>4</sub> CHAP <sub>1</sub>	34/37	S	23/25	S	20	S
CP <sub>4</sub> CHAP <sub>3</sub>	34/31	S	17/18	S	18	S
FP <sub>1</sub> CHAP <sub>1</sub>	28/34	S	21/18	S	18	S
FP <sub>1</sub> CHAP <sub>3</sub>	31/23	S	27/22	S	*	S
FP <sub>1</sub> CHAP <sub>4</sub>	36/34	S	46/46	S	19	S
FP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	32/31	S	30/28	S	17	S
FP <sub>2</sub> CHAP <sub>4</sub>	30/30	S	24/24	S	18	S
SP <sub>2</sub> CHAP <sub>1</sub>	36/38	S	29/30	S	19	S

\* - Valor não medido, uma vez, que apresentou sensibilidade a todos os antibióticos testados.

A escolha de um agente químico desinfetante é difícil frente ao grande número de produtos encontrados no mercado; cada um afirmando eficácia contra uma variedade de microrganismos. A escolha do desinfetante deve levar em consideração aspectos como: espectro de actividade desejada, acção rápida e irreversível, toxicidade, estabilidade e natureza do material a ser tratado (Penna, 2011).

No âmbito deste estudo, a escolha dos desinfetantes incidiu em tipos de desinfetantes disponíveis no mercado para uso recomendado, entre outros, em lares de terceira idade.

Ao analisarmos a Tabela 4.4.1 verificamos que ambos os desinfetantes apresentam halos de inibição elevados, apresentado um perfil elevado de sensibilidade antimicrobiana, para os isolados testados neste trabalho e obtidos nas Instituições em

estudo. De referir que esta é uma abordagem muito preliminar e os resultados não podem ser globalizados.

Usando um antibiótico do grupo dos glicopeptídeos, nomeadamente a vancomicina como controlo positivo, verificamos que em termo de halos de inibição, o desinfectante CROSAN (Anexo III), marca comercial KITER, que é um desinfectante à base de cloro, apresenta halos de inibição superiores ao desinfectante SPITZ (Anexo III), marca comercial KITER, desinfectante à base de compostos de amónio quaternário, sugerindo que o desinfectante CROSAN é o mais eficaz.

Os desinfectantes à base de cloro são desinfectantes de baixo a alto nível, dependendo da concentração, valor de pH da solução e do tempo de exposição, os compostos libertadores de cloro são activos sobre bactérias Gram positivo e negativo. Quanto maior a concentração e/ou o tempo maior o espectro de acção, podendo ser utilizado como desinfectante de baixo e alto nível (Penna, 2011).

Tendo em conta as suas características e os resultados obtidos foi recomendado o desinfectante CROSAN para ser usado nos lares em estudo, com base no observado realçando, no entanto, o facto de ser um “pré-screening” e ter sido efectuado num número pequeno de isolados.

## V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho isolaram-se bactérias Gram positivo, nomeadamente estirpes de *Staphylococcus*, obtidas em lares da 3ª idade.

Detectou-se multi-resistência aos antibióticos utilizados, em quase todos os isolados testados, facto pelo qual se reforça a recomendação do uso racional dos agentes antimicrobianos. De referir, que somente um isolado apresentou susceptibilidade a todos os grupos de antibióticos.

Os grupos de antibacterianos que se mostraram mais eficazes para as estirpes em estudo foram os glicopeptídeos e as ansamicinas. É também de realçar que os isolados apresentaram uma maior resistência às quinolonas, seguindo-se as sulfonamidas e macrólidos, em igual percentagem. A resistência às sulfonamidas pode ser justificada pelo facto de estas serem utilizadas como cremes de tratamento tópico. A resistência às quinolonas é preocupante neste estudo uma vez que são antibióticos de amplo espectro e geralmente de uso exclusivamente hospitalar. Assim, podemos inferir sobre a disseminação dos genes de resistência a este grupo de antibióticos.

Seria de esperar que fossem isoladas estirpes de *Staphylococcus aureus*, uma vez que a maior parte dos indivíduos é portador deste tipo de bactéria na pele ou na nasofaringe. No entanto, quando se procedeu ao estudo da biotipificação numérica observamos que estávamos perante bactérias das espécies *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus cohnii* e *Staphylococcus xylosus*. Atendendo a este facto, é preocupante termos constatado a presença de microrganismos tipicamente isolados em ambiente hospitalar. De referir que uma eventual contaminação cruzada pode ser considerada.

Tendo em conta estes resultados é necessário consciencializar os elementos da Direcção de cada lar de idosos, para que se organizem várias acções de formação sobre o tema de Limpeza e Desinfecção, alertando para o problema global que é a resistência aos antimicrobianos e o seu efeito na Saúde Pública. Relativamente aos desinfetantes, verificou-se eficácia para ambos, no entanto em termos relativos o desinfetante à base de compostos clorados (lixívia) mostrou-se mais eficaz, pelo que se recomenda a sua utilização em instituições deste género. Por último, importa salientar que este estudo, pela sua reduzida dimensão, dá-nos meramente indicações sobre a problemática da multi-resistência de bactérias em instituições deste género, mas futuras abordagens são necessárias para complementar a informação preliminar obtida.

## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA (American Diabetes Association), (1999). Consensus Statement on Diabetic Foot Wound Care. *Diabetes Care*, 22, 1354-1360.
- Appelbaum, P. C., Jacobs, M. R., 2005. Recently approved and investigational antibiotics for treatment of severe infections caused by Gram-positive bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 8:510 – 517.
- AESBUC. Manual de Higienização na Indústria Alimentar. Porto: AESBUC, 2003
- Arciola, C. R., Campoccia, D., Gamberini, S., Donati, M., 2005. Antibiotic resistance in exopolysaccharide-forming *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from orthopaedic implant infections. *Biomaterials* 26 6530 – 6535.
- Azevedo, C., 1999. *Biologia Celular e Molecular*. 3ª Edição, Lidel - Edições Técnicas. Lisboa.
- Bail, L. I. C. A. S., E. L. A., 2006. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. *RBAC*, vol. 38 (1): 51-56.
- Banwan, K., Senokb, A.C., Rotimi, V.O., 2009. Antibiotic therapeutic options for infections caused by drug-resistant Gram-positive cocci. *Journal of Infection and Public Health* 2, 62— 73.
- Borbone, S., Lupo, A., Mezzatesta, M. L., Campanile, F., Santagati, M., Stefan, S. 2007. *International Journal of Antimicrobial Agents* 31 209 – 215.
- Candeias, I. M. N. I, 2006. Efeitos de um programa de Actividade Física, na Aptidão Física e qualidade de vida de idosos Institucionalizados e Não Institucionalizados. Universidade do Porto.
- Carrelhas, H. M., Código de Boas Práticas de Higiene e Segurança Alimentar: Aplicação dos princípios de HACCP para a Hotelaria e Restauração. Porto: APHORT Associação Portuguesa de Hotelaria, Restauração e Turismo, 2008.
- Castro, A. A. 2010. Qualidade de Vida e Capacidade funcional em Idosos adeptos a Educação Física Gerontológica. Universidade Federal do Amazonas. 39-55.
- Circular Normativa nº 13/ DGCG de 02/07/2004 da Direcção Geral da Saúde.

- Clinical and Laboratory Standards Institute Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, (2007). CLSI/NCCLS, M100-S16. Clinical and Laboratorial Standards Institute, Wayne, PA.
- d' Azevedo, P. A., Antunes, A. L. S., Martino, M. D. V., Pignatari, A. C. C. 2008. *Staphylococcus cohnii* spp *urealyticus*: relato de caso de um patógeno incomum. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 41 (2): 197-199.
- de Mattos, E. M., Teixeira, L. A., Alves, V. M. M., Elaine Marques de Mattos. 2002. Isolation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and comparison of different molecular techniques for discriminating isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 45 13 – 22.
- Danias, P. G., Chalevelakis G., Mylonakis E. E., Argyropoulou, A., Paniara, O., Raptis, S. A. 1998. Comparative In Vitro and In Vivo Efficacy of Roxithromycin and Erythromycin Against a Strain of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus epidermidis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 32:51–54.
- Dicionário Temático LAROUSSE, 2007. Volume 26. Temas e Debates.
- Enciclopédia LAROUSSE, 2007. Volume 2. Temas e Debates.
- Faria, L., Marino, C., 2004. Actividade Física, Saúde e Qualidade de Vida na Terceira Idade. *Revista Portuguesa de Psicossomática*. Volume 6, nº1, 93-104.
- Fernández, L., Breidenstein, E. B. M., Hancock, R. E.W., 2011. Drug Resistance Updates. *Drug Resistance Updates* 14 1 – 21.
- Ferreira, W.F.C., Sousa, J.C.F., 1998. *Microbiologia – volume 1*. Lidel – Edições Técnicas. Lisboa.
- Gold, H. S., Mollering, R.C., (1996). Antimicrobial drug resistance. *New Engl J Med*, 335, 1445-53.
- Hancock, R. E. W., 2005. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive Pathogens. *Lancet Infect Dis* 5: 209– 18.
- Irlinger, F. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: Coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Food Microbiology* 126 302 – 310.
- Koksal, F., Yasar, H., Samasti, M., 2007. Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiological Research* 164 404 - 410.
- Mackane, L., Kandel, J., 1996. *Microbiology, Essentials and Applications*. 2<sup>a</sup> Edition, International Editio.

- Marin, M. J. S., Cecílio, L. C. O, Perez, A. E. W. U. F., Santella, F., Silva, C. B. A, 2008. Caracterização do uso de medicamentos entre idosos de uma unidade do Programa Saúde da Família. *Caderno Saúde Pública*, 24 (7): 1545-1555.
- Martins, R. M. L, 2009. Envelhecimento e Políticas Sociais. *Educação Ciência e Tecnologia*. 126-140.
- Michalopoulos, A. S., Livaditis, I. G., Gougoutas, V. 2011. The revival of fosfomycin. *International Journal of Infectious Diseases* 1–8.
- Neuman, M. 1990. *Vade – Mecum des ANtibiotiques et Agents Chimiothérapiques Anti – Infectieux*. 5<sup>e</sup> Édition, Melaine. Paris.
- Nova Enciclopédia Portuguesa, 1996. Volume 1. Clube Internacional do Livro.
- Paradela, A. M. B. M., (2008). Disseminação de genes de resistência em estirpes clínicas de *Escherichia coli*. Universidade de Aveiro. 1-91.
- Paterson, D. L., (2006). Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *Am. J. Infect. Control*, 34, S20-S28.
- Penna, T. C. V., 2011. *Desinfecção e Esterilização Química*. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 1-63.
- Ribeiro, M., Pinto, I., Pedrosa, C., 2009. Comportamento da população do concelho de Vizela no consumo de antibióticos. *Revista Portuguesa de Saúde*. Volume 27, nº 2.
- Sánchez, A., Salso, S., Culebras, E., Picazo, J. J., 2004. Carbapenem resistance determined by metalloenzymes in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Ver. Esp. Quimioterap*, 17, 336-340.
- Skyrianou, K. C., Perdih, F., Papadopoulos, A. N., Turel I., Kessissoglou D. P., Psomas G., 2011. Nickel – quinolones interaction. Biological evaluation of nickel (II) complex with first-, second- and third-generation quinolones. *Journal of Inorganic Biochemistry* 105 1273 – 1285.
- Sousa, J.C.F., 2006. *Manual de Antibióticos Antibacterianos*. 2<sup>a</sup> Edição, Universidade Fernando Pessoa.
- Stephenson, K., Hoch, J. A., 2002. Virulence- and antibiotic resistance-associated two component signal transduction systems of Gram-positive pathogenic bacteria as targets for antimicrobial therapy. *Pharmacology & Therapeutics* 93 293 – 305.
- Watkinson, A. J., Micalizzi, G. R., Bates, J. R., Costanzo, S. D., 2007. Novel Method for Rapid Assessment of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Environmental Waters by Use of a Modified Chromogenic Agar. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 2224-2229.

- WHO. Essential Medicines 13<sup>a</sup> edition. The WHO Model List (revised in April 2003).
- Zadoks, R. N., Watts, J. L., 2009. Species identification of coagulase-negative staphylococci: Genotyping is superior to phenotyping. *Veterinary Microbiology* 134 20 – 28.
- Zell, C., Resch, M., Rosenstein, R., Albrecht, T., Hertel, C., Götz, F., 2008. Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. *International Journal of Food Microbiology* 127 246 – 251.
- Ziebuhr, W., Hennig, S., Eckart, M., Kozitskaya, S., 2006. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. *International Journal of Antimicrobial Agents* 28S S14 – S20.
- Zhang, Y., Li, G., Liu M., You X., Feng L., Cao, J., Guo, H., 2010. Synthesis and in vitro antibacterial activity of 7- (3-alkoxyimino-5-amino/methylaminopiperidin-1 yl) fluoroquinolone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21 928 – 931.

## 6.1 Webgrafia

- <http://pt.wikipedia.org/wiki/Idoso> (Acedido 10/09/2011)
- <http://www.solidariedade.pt/sartigo/index.php?x=3302> (Acedido 10/09/2011)
- <http://www.euro.who.int/en/who-we-are/whd/world-health-day-2011-antibiotic-resistance-no-action-today,-no-cure-tomorrow> (Acedido 10/08/2011)
- <http://www.euro.who.int/en/what-we-publish/information-for-the-media/sections/latest-press-releases/complacency-kills.-antibiotic-resistance-still-on-the-rise-in-europe> (Acedido 19/09/2011)
- <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/antibiotic-resistance> (Acedido 19/09/2011)
- <http://ocogumelo.blogspot.com/2011/03/celula-bacteriana.html> (Acedido 19/09/2011)
- <http://www.cmjornal.xl.pt/detalhe/noticias/nacional/portugal/esperanca-media-de-vida-sobe-para-os-79-anos> (Acedido 15/08/2011)

## **VII. ANEXOS**

## ANEXO I – MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura foram esterilizados em autoclave a 121 °C durante 15 minutos, logo após a sua preparação.

A composição dos meios de cultura é dada para volumes de 1 litro de água destilada estéril.

### Meio 1 – BHI (Brain Heart Infusion) (Oxoid)

Composição	g/L
Infusão sólida de cérebro de vitela	12,5
Infusão de carne de coração	5,0
Proteose de peptona	10,0
Glucose	2,0
Cloreto de sódio	5,0
Fosfato disódico	2,5

### Meio 2 – Agar MacConkey (Merck 1.05465.0500)

Composição	g/L
Peptona de caseína	17
Peptona de carne	3
Cloreto de sódio	5
Lactose	10
Mistura de sais biliares	1,5
Vermelho neutro	0,03
Cristal de violeta	0,001
Agar-agar	13,5

### Meio 3 – Agar Chapman (Merck)

Composição	g/L
Peptona de caseína	10
Extracto de levedura	25
Hidrogenofosfato dipotássico	5
Gelatina	30
Lactose	2
D-manitol	10
Cloreto de sódio	75
Agar-agar	12

**Meio 4 – Mueller- Hinton agar (BioMerieux 51861)**

<b>Composição</b>	<b>g/L</b>
Infusão de carne desidratada	2
Caseína hidrolisada	17,5
Amido	1,5
Agar-agar	17

**Meio 5 – Cary Blair (Oxoid)**

<b>Composição</b>	<b>g/L</b>
Hidrogenofosfato de sódio	1,1
Tioglicolato de sódio	1,5
Cloreto de sódio di-hidratado	5
Cloreto de cálcio	0,12
Agar	1,6

## ANEXO II – SOLUÇÕES, REAGENTES E CORANTES

### Reagente 1 – Glicerol (Panreac)

Composição	%
Glicerina 87	1,1

### Reagente 2 – Reagente de Oxidase (Merck)

Composição	Quantidade
Dihidroclorido de tetrametil-p-fenilenodiamina	0,1 g
Água destilada	10 mL

### Reagente 3 – Vermelho de Metilo (Merck)

Composição	Quantidade
Violeta de Metilo	5 g
Água destilada	1000 mL

### Reagente 4 – Lugol (Vaz Pereira)

Composição	Quantidade
Iodo sublimado	10g
Iodeto de potássio	20g
Água destilada	1000mL

### Reagente 5 – Vermelho Neutro (Merck)

Composição	Quantidade
Vermelho neutro	1g
Ácido acético a 1%	2mL
Água destilada	1000mL

### Reagente 6 – Soro Fisiológico

Composição	Quantidade
Cloreto de Sódio	0.9 g
Água destilada	100 mL

*Nota:* pH final 6.0

## **ANEXO III – FICHAS TÉCNICAS E SEGURANÇA DOS DESINFECTANTES**

# CROSAN



*Cloro higienizante*

**HACCP**

## DESCRIÇÃO

O CROSAN é um detergente de manutenção à base de cloro activo, utilizado para a higienização quotidiana de todas as superfícies laváveis.

O CROSAN pode ser empregue para a desinfecção cruzada, em combinação com a utilização alternada dos produtos EUSAN, SPITZ, SANIQUAT 44, SPITZ S.C.

## CAMPO DE APLICAÇÃO

O CROSAN é utilizado para a desinfecção de pavimentos, paredes, equipamentos, divisórias, enfermarias, laboratórios, cozinhas, serviços higiénicos nos sectores hospitalares, de preparação e distribuição de alimentos, comunidades.

Adequado para ambientes em conformidade com o sistema HACCP.

## MODO DE EMPREGO

Diluir com água, numa proporção de 1,5% (150 ml de CROSAN para 10 litros de água, equivalente a 600 ppm de cloro activo por cada litro de solução). Aplicar com um pano ou com uma esfregona. Tempo de contacto para uma higienização total: 15 minutos. Enxaguar muito bem.

Para uma higienização quotidiana preventiva diluir numa proporção de 0,5% (50 ml de CROSAN para 10 litros de água, equivalente a 200 ppm de cloro activo por cada litro de solução).

## CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

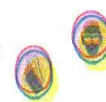
COMPOSIÇÃO:	Cloro activo 4%, agentes tensoactivos não iónicos, perfumes
ASPECTO FÍSICO:	Líquido transparente incolor
AROMA:	ligeiramente perfumado
PESO ESPECÍFICO:	1,09
TEOR DE ATIVOS:	10 %
pH tal qual	13 ± 0,5
pH em solução	9,5 ± 0,5
SOLUBILIDADE NA ÁGUA:	Completa
TEOR DE CLORO	400 ppm por solução a 1%
BIODEGRADABILIDADE:	Os tensoactivos contidos nesta preparação cumprem com os critérios de biodegradabilidade segundo o Regulamento (EC) nº 648/2004 relativo aos detergentes.

## NATUREZA DOS PERIGOS E CONSELHOS DE SEGURANÇA

O produto é IRRITANTE para os olhos e a pele.  
No caso de contacto com os olhos e a pele, lavar imediata e abundantemente com água.

## DISPOSITIVO DE PROTECÇÃO INDIVIDUAL

Óculos de segurança  
Luvas de borracha ou PVC



## INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

EXCLUSIVAMENTE PARA USO PROFISSIONAL - Não misturar com produtos ácidos. Manter protegido da incidência directa da luz solar e das fontes de calor.

## EMBALAGEM

4 x 3 lt.



 **KITER** S.r.l. - Via Assiano 7/B  
20019 Settimo Milanese (MI)  
ITALY - Tel. + 39 02 3285220  
info@kiter.it - www.kiter.it

 **AZIENDA CON SISTEMA DI  
GESTIONE PER LA QUALITÀ  
CERTIFICATO DA DNV**  
UNI EN ISO 9001:2000

CROSAN\_pt\_st  
26/04/2007  
PAG. 1/1



### DESCRIÇÃO

O SPITZ é um detergente líquido à base de sais quaternários de amónio de elevado grau de pureza, assegurando uma higienização e limpeza óptimas das superfícies laváveis de hospitais, estabelecimentos de ensino, institutos religiosos, locais de convívio, locais públicos e residências em geral. O detergente SPITZ garante uma acção higienizante eficaz contra uma grande variedade de microorganismos.

Por outro lado, o detergente SPITZ caracteriza-se por um perfume muito duradouro, que confere ao ambiente um odor agradável e fresco.

### CAMPO DE APLICAÇÃO

O SPITZ está especialmente indicado para a limpeza e higienização de pavimentos, paredes, equipamentos e artigos sanitários, casas de banho, instrumentos, placas e fogões, contentores de lixo e superfícies laváveis em geral.

O fabricante recomenda a sua utilização em estabelecimentos de ensino, hospitais, ginásios, quartéis, casas de repouso, locais públicos, hotéis, restaurantes, escritórios, salas de jantar, grandes armazéns, piscinas, etc.

### MODO DE EMPREGO

Utilização como higienizante e detergente: diluir o produto a 1-3% (100-300 gramas em 10 litros de água).

Utilização como desodorizante para casas de banho, lavabos, paredes e acessórios: verter umas gotas de SPITZ não diluído numa esponja e passar sobre as superfície a tratar.

Utilização como desinfetante e desodorizante para sanitários em geral e contentores de resíduos: diluir 1 litro de SPITZ por cada litro de água.

### CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

COMPOSIÇÃO:	agentes tensoactivos não iónicos, sais quaternários de amónio, solventes hidrossolúveis, aromatizantes, corantes
ASPECTO FÍSICO:	líquido transparente de cor azul
AROMA:	pinho mentolado
PESO ESPECÍFICO:	1
TEOR DE ATIVOS:	9 %
pH tal qual	7,5 ± 0,5
pH em solução	7,5 ± 0,5
SOLUBILIDADE NA ÁGUA:	Completa
BIODEGRADABILIDADE:	Os tensoactivos contidos nesta preparação cumprem com os critérios de biodegradabilidade segundo o Regulamento (EC) nº 648/2004 relativo aos detergentes.

### NATUREZA DOS PERIGOS E CONSELHOS DE SEGURANÇA

O produto não é considerado perigoso.

### INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

EXCLUSIVAMENTE PARA USO PROFISSIONAL

### EMBALAGEM

4 x 5 lt.  
12 x 1 lt.



 **KITER** S.r.l. - Via Assiano 7/B  
20019 Settimo Milanese (MI)  
ITALY - Tel. + 39 02 3285220  
info@kiter.it - www.kiter.it

**AZIENDA CON SISTEMA DI  
GESTIONE PER LA QUALITÀ  
CERTIFICATO DA DNV  
= UNI EN ISO 9001:2000 =**

SPITZ\_pt\_st  
18/04/2007  
PAG. 1/1

## Ficha de segurança SPITZ

<b>Ficha de Segurança de 15/03/2007, revisão 3</b>	
Em conformidade com:	Directiva 91/155/CEE e alterações posteriores Directiva 1999/45/CE e alterações posteriores
<b>1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/PREPARADO E DA EMPRESA</b>	
Nome comercial:	SPITZ
Código comercial:	14.051
Tipo de produto/utilização:	Detergente para superfícies laváveis
Fornecedor:	KITER S.r.l. - Via Assiano 7/B - 20019 SETTIMO MILANESE (MI) - Tel. ++39 02 3285220 - Fax ++39 02 33501173 – E-MAIL info.sicurezza@kiter.it
Número de telefone de emergência da empresa e/ou de um organismo oficial de consulta:	KITER S.r.l. - Tel. ++39 02 3285220 CIAV- Centro de Informação Antivenenos, Tel.: 808 250 143
<b>2. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS INGREDIENTES</b>	
Teor de substâncias perigosas conforme definidas pela directiva comunitária 67/548/CEE e respectiva classificação:	
1% - 5% Cloreto de Benzalcónio	67/548/CEE: - - - CAS: 68424-85-1 EINECS: 270-325-2 C R34 R22
1% - 5% álcool da série gorda etoxilado	CAS: 68439-46-3 Xn R41 R22
1% - 5% 2-propanol; álcool isopropílico	67/548/CEE: 603-117-00-0 CAS: 67-63-0 EINECS: 200-661-7 XI R36 R67
Contém (Artigo 11 do Regulamento (CE) N.º 648/2004): Inferior a 5%: agentes tensoactivos não iónicos, perfumes. Desinfectantes, limonene.	
<b>3. INDICAÇÃO DOS PERIGOS</b>	
Nenhum perigo específico no que respeita a sua normal utilização.	
<b>4. PRIMEIROS SOCORROS</b>	
Contacto com a pele: Lavar abundantemente com água e sabão.	
Contacto com os olhos: Lavar imediatamente com água por um período mínimo de 10 minutos. Ingestão: Induzir o vômito. RECORRER IMEDIATAMENTE A UMA CONSULTA MÉDICA, mostrando a ficha de segurança. É possível administrar carvão activo suspenso em água, ou óleo de vaselina mineral medicinal. Não administrar líquidos, por via oral, no caso do indivíduo estar em estado inconsciente. Inalação: Arejar o ambiente. Remover imediatamente o paciente do ambiente contaminado e mantê-lo em repouso em ambiente bem arejado. No caso de má disposição deverá consultar um médico.	
<b>5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO</b>	
Afastar os contentores do produto para longe da zona de incêndio, e no entretanto arrefecê-los com água atomizada. Extintores recomendados: Água atomizada, CO2, Espuma, Pós químicos conforme os materiais envolvidos no incêndio. Extintores proibidos: Nenhum em particular. Riscos de combustão: Evitar respirar os fumos. Medidas de protecção: Utilizar protecção para as vias respiratórias.	
<b>6. MEDIDAS A ADOPTAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS</b>	
Precauções individuais: Preste atenção para que não deslizem. Usar luvas e roupa de protecção.	

spitz\_pt\_ss/3  
Página n.º 1 de 3

## Ficha de segurança

### SPITZ

Precauções ambientais: Cobrir os desperdícios com terra ou com areia.  
Se o produto for deitado num percurso de água, ou se contaminou o solo ou a vegetação deverão ser avisadas as autoridades competentes.

Métodos de limpeza:

Recolher o produto para reutilização, se possível, ou para eliminação.

Eventualmente adsorvê-lo com material inerte.

Após a recolha deverá lavar com água a zona e os materiais em causa.

#### 7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAMENTO

Precauções de manipulação:

Apenas para uso profissional.

Evitar o contacto e a inalação dos vapores. Veja, por favor, o parágrafo 8 que se segue. Durante o tempo de utilização não deverá beber nem comer.

Não esfregar os olhos durante o tempo de utilização.

Evitar a projecção de líquido durante a trasfega ou diluição.

Depois de terminar o trabalho ou quando fizer qualquer pausa, deverá lavar primeiro as mãos com água e sabão.

Matérias incompatíveis:

Nenhuma em particular.

Condições de armazenagem:

Conservar fora do alcance das crianças.

Indicações para o local:

O local deve ser arejado adequadamente.

#### 8. PROTECÇÃO PESSOAL/CONTROLO DA EXPOSIÇÃO

Medidas de precaução:

Arejar adequadamente o local onde o produto estiver armazenado ou a ser manipulado.

Protecção das vias respiratórias:

Não é necessária para a utilização normal do produto.

Protecção das mãos:

Não é necessária para a utilização normal do produto.

Protecção dos olhos:

Não é necessária para a utilização normal do produto.

Protecção da pele:

Não há necessidade de adoptar nenhuma medida de precaução particular aquando da utilização normal do produto.

Limites de exposição das substâncias contidas:

2-propanol

TLV - TWA: 400 ppm -983 mg/m<sup>3</sup> TLV STEL: 500 ppm -1.230 mg/m<sup>3</sup>

#### 9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

Aspecto e cor: Líquido transparente azul

Odor: Perfumado com pinho mentolado

pH: 7,5 +/- 0,3

Ponto de ebulição: 100 °C

Densidade relativa: 1,00

Hidrossolubilidade: Completa

#### 10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE

Condicionantes a evitar:

Estável em condições normais.

Substâncias a evitar:

Nenhuma em particular.

#### 11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA

Deve ter-se presente a concentração de todas as substâncias com o fim de se avaliar os efeitos toxicológicos provocados pela exposição ao preparado. Seguidamente damos informações toxicológicas respeitantes às principais substâncias presentes no preparado: Cloreto de Benzalcónio

LD50 (oral, rato): 720 mg/kg sobre o produto a 100%

spitz\_pt\_ss/3

Página n.º 2 de 3

## Ficha de segurança SPITZ

### 12. INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

O produto deve utilizar-se segundo as boas práticas laborais, evitando dispersar o produto no meio ambiente. Os tensoactivos contidos nesta preparação cumprem com os critérios de biodegradabilidade segundo o Regulamento (EC) nº 648/2004 relativo aos detergentes.

### 13. OBSERVAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO

Recuperar se possível. Operar segundo as disposições locais e nacionais vigentes. Limpar as embalagens antes da sua eventual eliminação.

### 14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE

Rodoviário (ADR): Não regulamentado .

### 15. INFORMAÇÕES SOBRE A REGULAMENTAÇÃO

Classificação e etiquetagem em conformidade com a directiva comunitária 1999/45/CE e alterações posteriores:  
O preparado não é considerado perigoso.

Disposições especiais:

Ficha com os dados de segurança disponibilizada a pedido aos utilizadores profissionais.

Sempre que aplicável deve fazer-se referência às seguintes normas:

Regulamento (CE) N.º 648/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de Março de 2004 relativo a Detergentes.

### 16. OUTRAS INFORMAÇÕES

As informações mencionadas nesta ficha de segurança baseiam-se no nosso conhecimento sobre o produto até à data supra citada. Referem-se exclusivamente ao produto indicado e não constitui garantia de qualidades particulares e propriedades específicas. O utilizador deverá assegurar-se da idoneidade e da plenitude de tais informações no que respeita as instruções de utilização do produto.

Esta ficha de segurança anula e substitui todas as edições precedentes.

Texto das frases R utilizadas no parágrafo 2:

R34 Provoca queimaduras.

R22 Nocivo por ingestão.

R36 Irritante para os olhos.

R67 Pode provocar sonolência e vertigens, por inalação dos vapores.

R41 Risco de graves lesões oculares.

Parágrafos modificados em relação à revisão anterior: 2, 16.

Ficha técnica dos ingredientes (em conformidade com o disposto no Anexo VII (D) do Regulamento (CE) N.º 648/2004):  
[Tabelas de correspondência entre denominações INCI: [http://europa.eu.int/comm/enterprise/cosmetics/html/cosm\\_mci\\_list.htm](http://europa.eu.int/comm/enterprise/cosmetics/html/cosm_mci_list.htm)]

Aqua
C9-C11 pareth-6
Benzalkonium chloride
Isopropyl alcohol
Parfum
Colorant
Limonene

## Ficha de segurança CROSAN



### Ficha de segurança do dia 15/03/2007, revisão 3

Em conformidade com: Directiva 91/155/CEE e alterações posteriores  
Directiva 1999/45/CE e alterações posteriores

#### 1. IDENTIFICAÇÃO DA SUBSTÂNCIA/PREPARADO E DA EMPRESA

Nome comercial: CROSAN  
Código comercial: 14.020  
Tipo de produto e emprego: Detergente para superfícies laváveis  
Fornecedor:  
KITER S.r.l. - Via Assiano 7/B - 20019 SETTIMO MILANESE (MI) - Tel. ++39 02 3285220 - Fax ++39 02 33501173 -  
E-MAIL info.sicurezza@kiter.it  
Número de telefone de emergência da empresa e/ou de um organismo oficial de consulta:  
KITER S.r.l. - Tel. ++39 02 3285220  
CIAV- Centro de Informação Antivenenos, Tel.: 808 250 143

#### 2. COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS INGREDIENTES

Contém substâncias perigosas conforme definidas pela directiva comunitária 67/548/CEE e respectiva classificação:

1% - 5% de hipoclorito de sódio, solução  
N.67/548/CEE: 017-011-00-1 CAS: 7681-52-9 EINECS: 231-668-3  
C R31 R34

0.5% - 1% de hidróxido de sódio  
N.67/548/CEE: 011-002-00-6 CAS: 1310-73-2 EINECS: 215-185-5  
C R35

Contém (Artigo 11 do Regulamento (CE) N.º 648/2004):  
Inferior a 5%: Agentes de branqueamento à base de cloro.  
Perfumes.

#### 3. IDENTIFICAÇÃO DA PERIGOSIDADE

Se em contacto com os olhos, este produto provoca irritações que podem durar mais de 24 horas e, se em contacto com a pele, provoca inflamações nítidas, com eritemas, escaras ou edemas.

#### 4. MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

Contacto com a pele:

Despir imediatamente as peças de vestuário contaminadas.

Lavar com água corrente abundante e, eventualmente, com sabão, as áreas do corpo que tenham entrado em contacto com o produto, inclusive as áreas do corpo de que haja mera suspeita de contacto com o produto.

Contacto com os olhos:

Lavar imediatamente com água corrente abundante, mantendo as pálpebras abertas, durante, pelo menos, 10 minutos; em seguida, proteger os olhos com gaze esterilizada ou com um lenço limpo e seco. CONSULTAR UM MÉDICO.

Ingestão:

Nunca induzir o vômito. RECORRER IMEDIATAMENTE A UMA CONSULTA MÉDICA.

Pode ser administrado carvão activo suspenso em água ou em óleo de vaselina mineral medicinal.

Nunca administrar líquidos por via oral se o indivíduo estiver inconsciente.

Inalação:

Arejar o ambiente. Remover imediatamente o paciente do ambiente contaminado e colocá-lo em repouso num ambiente bem arejado. Em caso de mal-estar consultar um médico.

#### 5. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Evacuar os recipientes, afastando-os da zona do incêndio e, em seguida, arrefecê-los com água vaporizada.

Meios de extinção recomendados:

Água vaporizada, CO<sub>2</sub>, espuma, pós químicos dependentes dos materiais envolvidos no incêndio.

Meios de extinção proibidos:

Nenhum em particular.

Riscos associados aos produtos da combustão:

Evitar a inalação dos fumos.

Meios de protecção:

Usar equipamento de protecção das vias respiratórias.

#### 6. MEDIDAS A ADOPTAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS

Precauções individuais:

Usar máscara, luvas e vestuário de protecção.

Evitar escorregar.

## Ficha de segurança CROSAN

<p>Precauções ambientais: Conter os derrames com terra ou areia. Se o produto se tiver escoado para um curso de água ou tiver contaminado o solo ou a vegetação, avisar as autoridades competentes.</p> <p>Métodos de limpeza: Recolher o produto com vista à sua reutilização, se for possível, ou à sua eliminação. Eventualmente, absorver o produto com material inerte. Após a recolha do produto, lavar a zona e os materiais afectados com água.</p>														
<p><b>7. MANUSEAMENTO E ARMAZENAMENTO</b></p> <p>Condições de manuseamento seguro: Exclusivamente destinado ao uso profissional. Evitar o contacto directo do produto e a inalação de vapores. Cumprir também o disposto no parágrafo 8 abaixo. Não ingerir líquidos nem alimentos durante a utilização deste produto. Não esfregar os olhos durante a utilização do produto. Evitar projecções de líquido durante a mudança de recipiente e a diluição. Lavar sempre as mãos com água e sabão depois de concluída a utilização do produto e antes de eventuais pausas.</p> <p>Materiais incompatíveis: Nunca misturar com produtos ácidos ou com outros detergentes (possibilidade de desenvolvimento de cloro)</p> <p>Condições de armazenamento: Conservar fora do alcance das crianças.</p> <p>Indicações relativas aos locais de armazenamento do produto: Locais bem arejados.</p>														
<p><b>8. PROTECÇÃO PESSOAL/CONTROLO DA EXPOSIÇÃO</b></p> <p>Medidas preventivas: Arejar adequadamente os locais onde o produto é armazenado/manuseado.</p> <p>Protecção das vias respiratórias: A utilização normal não obriga a protecção.</p> <p>Protecção das mãos: Usar luvas de protecção.</p> <p>Protecção dos olhos: A utilização normal não obriga a protecção.</p> <p>Protecção da pele: Usar vestuário de protecção completa da pele.</p>														
<p><b>9. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS</b></p> <table><tr><td>Aspecto e cor:</td><td>Líquido transparente incolor</td></tr><tr><td>Odor:</td><td>Levemente perfumado</td></tr><tr><td>pH:</td><td>13,0 +/- 0,5</td></tr><tr><td>Ponto de ebulição:</td><td>100 °C</td></tr><tr><td>Densidade relativa:</td><td>1,08 kg/l</td></tr><tr><td>Hidrossolubilidade:</td><td>Total</td></tr><tr><td>Lipossolubilidade:</td><td>Nenhuma</td></tr></table>	Aspecto e cor:	Líquido transparente incolor	Odor:	Levemente perfumado	pH:	13,0 +/- 0,5	Ponto de ebulição:	100 °C	Densidade relativa:	1,08 kg/l	Hidrossolubilidade:	Total	Lipossolubilidade:	Nenhuma
Aspecto e cor:	Líquido transparente incolor													
Odor:	Levemente perfumado													
pH:	13,0 +/- 0,5													
Ponto de ebulição:	100 °C													
Densidade relativa:	1,08 kg/l													
Hidrossolubilidade:	Total													
Lipossolubilidade:	Nenhuma													
<p><b>10. ESTABILIDADE E REACTIVIDADE</b></p> <p>Condições a evitar: Estável em condições normais.</p> <p>Substâncias a evitar: Nenhuma em particular.</p>														
<p><b>11. INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA</b></p> <p>Há que ter em conta a concentração das substâncias individuais para avaliar os efeitos toxicológicos inerentes à exposição ao preparado.</p> <p>Seguem-se as informações toxicológicas relativas às principais substâncias presentes no preparado:</p> <p>Hipoclorito de sódio, solução Fortemente irritante para a pele, para os olhos, para as vias respiratórias e para as mucosas.</p> <p>Hidróxido de sódio Os pós, as partículas e as soluções de soda cáustica são corrosivos para as mucosas do aparelho digestivo, para as vias respiratórias, para os olhos e para a pele sã. A dose mortal, numa toma única, para um indivíduo do sexo masculino adulto com um peso de 70 kg estende-se de 5 a 8 g.</p>														
<p><b>12. INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS</b></p> <p>Utilizar o produto de acordo com as boas práticas de trabalho, evitando a dispersão do produto no meio ambiente.</p>														

*crosan\_pt\_ss/3*  
Página n.º 2 de 3

## Ficha de segurança CROSAN

Os tensoactivos contidos nesta preparação cumprem com os critérios de biodegradabilidade segundo o Regulamento (EC) nº 648/2004 relativo aos detergentes.

### 13. OBSERVAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO

Recuperar se possível. Actuar de acordo com as normas locais e nacionais em vigor.  
Lavar as embalagens antes da sua eventual eliminação.

### 14. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE

Rodoviário (segundo as normas ADR): Não regulamentado

### 15. INFORMAÇÕES SOBRE A REGULAMENTAÇÃO

Classificação e etiquetagem de acordo com o disposto na directiva comunitária 1999/45/CE e alterações posteriores:

Símbolos:

Xi Irritante

Frases R:

R36/38 Irritante para os olhos e pele.

Frases S:

S26 Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.

S50 Não misturar com produtos ácidos.

S37 Usar luvas adequadas.

Contém:

Hidróxido de sódio

Sempre que aplicável deve fazer-se referência às seguintes normas:

Regulamento (CE) N.º 648/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de Março de 2004 relativo aos Detergentes.

### 16. OUTRAS INFORMAÇÕES

Todas as informações contidas na presente ficha se baseiam nos nossos conhecimentos na data acima indicada. Elas reportam-se exclusivamente ao produto indicado, não constituindo qualquer garantia de qualidade particular e de propriedades específicas.

Compete ao utilizador assegurar-se da idoneidade e integralidade das informações relativamente ao uso específico que deve fazer.

A presente ficha anula e substitui todas as edições anteriores da mesma.

Texto explicativo das frases R utilizadas no parágrafo 2:

R31 Em contacto com ácidos liberta gases tóxicos.

R34 Provoca queimaduras.

R35 Provoca queimaduras graves.

Parágrafos modificados em relação à revisão anterior: 2, 16.

Ficha técnica dos ingredientes (em conformidade com o disposto no Anexo VII (D) do Regulamento (CE) N.º 648/2004):

[Tabelas de correspondência entre denominações INCI: [http://europa.eu.int/comm/enterprise/cosmetics/html/cosm\\_inci\\_list.htm](http://europa.eu.int/comm/enterprise/cosmetics/html/cosm_inci_list.htm)]

Aqua
Sodium hypochlorite
Sodium hydroxide
Parfúm

## **ANEXO IV – PEDIDO CONSENTIMENTO**

**Autorização de consentimento para recolha de amostras de superfícies em Lares de Terceira Idade.**

Exm.º Sr. Presidente da Direcção,

O meu nome é Andreia Inês Alves Amaro, encontro-me a frequentar o 2º ano do Mestrado em Biotecnologia, ministrado no Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária. Pretendo efectuar a minha dissertação sob o tema *Susceptibilidade a antibióticos em isolados bacterianos do ambiente em lares de 3ª Idade*. Para esse efeito, necessito do vosso consentimento para recolha de amostras em superfícies, nomeadamente em poltronas e ar condicionados existentes na instituição que V. Ex.ª coordena.

Os resultados obtidos das amostragens efectuadas são de estrito carácter anónimo.


Ficaria muito grata se V. Ex.ª me facultasse a referida permissão, sem a qual não poderei prosseguir o referido estudo.

Agradecendo, desde já, toda a atenção dispensada e esperando de V. Ex.ª a melhor compreensão para esta solicitação, subscrevo-me com os mais respeitosos cumprimentos.

Bragança, 10 de Abril de 2011



Autorizo:

  
8/05/2011

**Autorização de consentimento para recolha de amostras de superfícies em Lares de Terceira Idade.**

Exm.º Sr. Presidente da Direcção,

O meu nome é Andreia Inês Alves Amaro, encontro-me a frequentar o 2º ano do Mestrado em Biotecnologia, ministrado no Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária. Pretendo efectuar a minha dissertação sob o tema *Susceptibilidade a antibióticos em isolados bacterianos do ambiente em lares de 3ª Idade*. Para esse efeito, necessito do vosso consentimento para recolha de amostras em superfícies, nomeadamente em poltronas e ar condicionados existentes na instituição que V. Ex.ª coordena.

Os resultados obtidos das amostragens efectuadas são de estrito carácter anónimo.

Ficaria muito grata se V. Ex.ª me facultasse a referida permissão, sem a qual não poderei prosseguir o referido estudo.

Agradecendo, desde já, toda a atenção dispensada e esperando de V. Ex.ª a melhor compreensão para esta solicitação, subscrevo-me com os mais respeitosos cumprimentos.

Bragança, 10 de Abril de 2011

Andreia Inês Alves Amaro

Autorizo:

Georgina -

10/05/2011

**Autorização de consentimento para recolha de amostras de superfícies em Lares de Terceira Idade.**

Exm.º Sr. Presidente da Direcção,

O meu nome é Andreia Inês Alves Amaro, encontro-me a frequentar o 2º ano do Mestrado em Biotecnologia, ministrado no Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária. Pretendo efectuar a minha dissertação sob o tema *Susceptibilidade a antibióticos em isolados bacterianos do ambiente em lares de 3ª Idade*. Para esse efeito, necessito do vosso consentimento para recolha de amostras em superfícies, nomeadamente em poltronas e ar condicionados existentes na instituição que V. Ex.ª coordena.

Os resultados obtidos das amostragens efectuadas são de estrito carácter anónimo.

Ficaria muito grata se V. Ex.ª me facultasse a referida permissão, sem a qual não poderei prosseguir o referido estudo.

Agradecendo, desde já, toda a atenção dispensada e esperando de V. Ex.ª a melhor compreensão para esta solicitação, subscrevo-me com os mais respeitosos cumprimentos.

Bragança, 10 de Abril de 2011

Andreia Inês Alves Amaro

Autorizo

Auc. 12 de Abril de 2011