

JOÃO BATISTA DE OLIVEIRA

**PERFIL DE SENSIBILIDADE DE
STAPHYLOCOCCUS SP. FRENTE À *CYMBOPOGON*
CITRATUS STAPF (CAPIM CIDRÃO): ESTUDO
EXPERIMENTAL IN VITRO E IN VIVO**

Trabalho de conclusão do Mestrado Profissional, apresentado à Universidade do Vale do Sapucaí, para obtenção do título de Mestre em Ciências aplicadas à Saúde.

**POUSO ALEGRE – MG
2016**

JOÃO BATISTA DE OLIVEIRA

**PERFIL DE SENSIBILIDADE DE
STAPHYLOCOCCUS SP. FRENTE À *CYMBOPOGON
CITRATUS* STAPF (CAPIM CIDRÃO): ESTUDO
EXPERIMENTAL IN VITRO E IN VIVO**

Trabalho de conclusão do Mestrado Profissional, apresentado à Universidade do Vale do Sapucaí, para obtenção do título de Mestre em Ciências aplicadas à Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Araújo Teixeira

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Maria José Azevedo de Brito Rocha

**POUSO ALEGRE – MG
2016**

UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

**MESTRADO PROFISSIONAL EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**

COORDENADOR: Prof. Dr. Taylor Brandão Schnaider

Linha de Atuação Científico-Tecnológica: Fitoterapia em feridas.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, que nos criou e foi criativo nesta tarefa. Seu fôlego de vida me foi sustento, me deu coragem para questionar realidade e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr MANOEL ARAUJO TEIXEIRA, professor orientador do programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas a Saúde da Universidade do Vale do Sapucaí (UNIVÁS), orientador deste trabalho, pelo direcionamento, orientações, correções, sugestões e por sua incansável paciência no decorrer de todo o processo e principalmente por me ensinar a ser pesquisador.

À Prof.^a Dr.^a MARIA JOSÉ AZEVEDO DE BRITO ROCHA, professora orientadora do programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas a Saúde da UNIVÁS, pela coorientação deste trabalho, pelas correções e sugestões.

À Prof.^a Dr.^a ADRIANA RODRIGUES DOS ANJOS MENDONÇA, professora orientadora do programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas a Saúde da UNIVÁS pelas orientações e sugestões, a minha admiração por tanta dedicação e competência.

A LUIZ FRANCISLEY DE PAIVA, funcionário do Laboratório de Pesquisas básicas da UNIVÁS por seu importante ajuda no preparo dos meios de cultura, na realização das diluições das amostras dos lavados das feridas dos ratos e na realização das culturas.

A WELLINGTON DELFINO, coordenador do Comitê de Ética no Uso de Animais-CEUA e veterinário do biotério por seu auxílio nos processos de anestesia, confecção das feridas, coleta do material biológico e eutanásia dos animais no final do experimento.

A IVAN LÚCIO DE MELO funcionário do Laboratório de Cirurgia Experimental, por suas sugestões que foram de muita ajuda para que todo o experimento decorresse da melhor forma e por dispor recursos da estrutura laboratorial da UNIVÁS.

A JOSÉ DONIZETI DOS REIS, funcionário do Laboratório de Botânica da UNIVÁS por sua indispensável ajuda na obtenção do óleo de *Eucalyptus* sp, *Melaleuca* sp e *Capim cidrão*.

Aos Professores LYDIA MASAKO FERREIRA, DIBA MARIA SEBBA TOSTA DE SOUZA, JOSÉ DIAS SILVA NETO, GERALDO MAGELA SALOMÉ, TAYLOR BRANDÃO SCHNAIDER, BEATRIZ BERTOLACIN, DANIELA FRANCESCATO VEIGA e ANA BEATRIZ ALKMIM TEIXEIRA LOYOLA por

todos os ensinamentos, orientações e sugestões tão importantes para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr NEIL FERREIRA NOVO e à Prof.^a Dr.^a YARA JULIANO, professores de bioestatística do programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas a Saúde da UNIVÁS, pela orientação e condução da análise estatística dos resultados deste trabalho.

À KEILA PEREIRA JERÔNIMO, CARLA ROSIANE FARIA, DANIELA EIKO IBA, RAFAELA SANTOS AMARAL, THALITA PEREIRA A. OLIVEIRA e STAFANIE DE O. SILVA, acadêmicas do curso de Fisioterapia, pelo auxílio durante todo o decorrer da pesquisa, no preparo da anestesia dos ratos, no processo de confecção, limpeza e curativo das feridas e na realização das culturas no Laboratório de Cirurgia Experimental da UNIVÁS.

À KELLEN ROBERTA e CONCEIÇÃO ÁQUILA, acadêmicas do curso de biologia, pelo auxílio durante a contagem dos microrganismos na etapa experimental desse trabalho.

A RAFAELA FARIA DE OLIVEIRA, acadêmica do curso de medicina da UNIVÁS por sua ajuda na realização no processo de confecção, limpeza e curativo das feridas no Laboratório de Cirurgia Experimental da UNIVÁS.

Agradeço a minha esposa **ANA CRISTINA F. OLIVEIRA** e aos meus filhos, **PEDRO F.OLIVEIRA, RAFAELA F. OLIVEIRA e JULIANA F. OLIVEIRA** pela compreensão nos momentos ausentes e pelo apoio quando precisei para seguir em frente no desenvolvimento dessa pesquisa

Agradeço aos familiares e aos recém-nascidos internados em UTIN e Berçário do HCSL que muito colaborou para a realização do nosso estudo.

Agradeço aos ratos que foram sacrificados neste experimento. Sacrificar animais para completar este experimento, e aliás, fazer isto com as MINHAS próprias mãos, coloca a morte em uma nova perspectiva.

Eu tentei 99 vezes e falhei, mas a centésima tentativa eu consegui, nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.

Albert Einstein

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	I
AGRADECIMENTOS	II
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABELAS	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	IX
RESUMO	XI
ABSTRACT	XII
1 CONTEXTO	1
2 OBJETIVO	5
3 MÉTODOS	6
3.1 Delineamentos do estudo.....	6
3.2 Casuísticas da coleta dos microrganismos dos recém-nascidos.....	6
3.2.1 Critérios de inclusão	6
3.2.2 Critérios de não inclusão	7
3.2.3 Critérios de exclusão	7
3.3 Extração dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon citratus stapf</i> , <i>Eucalyptus</i> sp. e <i>Melaleuca</i> sp.....	7
3.4 Testes microbiológicos.....	8
3.4.1 Coleta dos microrganismos da pele	8
3.4.2 Isolamento das bactérias <i>Staphylococcus</i> sp.	8
3.4.3 Manutenção e estocagem das linhagens	8
3.5 Identificação dos microrganismos.....	9
3.5.1 Teste de coloração de Gram	9
3.5.2 Fermentação do Manitol	9
3.5.3 Teste da Coagulase	9
3.6 Teste de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos.....	10
3.6.1 Preparo do inóculo	10
3.6.2 Antibiograma	10
3.6.3 Teste de suscetibilidade aos óleos essenciais	10
3.7 Teste de concentração mínima inibitória CIM.....	11
3.7.1 Preparo da solução estoque para o teste da concentração inibitória mínima de óleos essenciais (CIM)	11

3.7.2	Preparação das concentrações dos óleos	11
3.7.3	Execução do teste e leitura da CIM	11
3.7.4	Concentração bactericida mínima dos óleos essenciais	12
3.8	Atividade antimicrobiana in vivo	12
3.8.1	Adaptação dos ratos	12
3.8.2	Confecção das feridas nos ratos	12
3.8.3	Infecção por <i>S. aureus</i> nos ratos	13
3.8.4	Limpeza das feridas e aplicação do princípio ativo	14
3.8.5	Quantificação do número de microrganismos nas lesões pelo método da irrigação-aspiração	15
3.9	Análise estatística	15
4	RESULTADOS	17
4.1	Isolamento e identificação dos microrganismos	17
4.2	Avaliação da resistência dos microrganismos isolados aos antibióticos	17
4.3	Avaliação da susceptibilidade dos microrganismos isolados aos óleos essenciais	18
4.4	Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do óleo de <i>Cymbopogon citratus</i>	20
4.5	Tratamentos em ratos com capim cidrão e Vancomicina	21
5	PRODUTO	24
6	APLICABILIDADE	25
7	IMPACTO SOCIAL	29
8	CONCLUSÃO	30
9	REFERENCIAS	31
10	ANEXOS	35
10.1	Anexo I - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVÁS	35
10.2	Anexo II - Aprovação do Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNIVÁS	40
10.3	Anexo III – Padrões Interpretativos de Diâmetros do Halo de inibição e Pontos de corte equivalentes das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) para <i>Staphylococcus spp.</i>	41
10.4	Anexo IV – Informativo sobre o Tegaderm filme de cobertura da ferida	46
11	APÊNDICE	49
11.1	Apêndice I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	49
11.2	Apêndice II - Autorização de Instituições de Coparticipantes	51

INDÍCE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Técnica de epilação manual dos ratos	13
FIGURA 2 - Incisão e a ressecção da pele e do panículo dos ratos	13
FIGURA 3 - Gel carbopol + Vancomicina, carbopol + <i>Cymbopogon citratus</i> e carbopol puro	14
FIGURA 4 - Suscetibilidade de <i>Staphylococcus</i> sp. frente aos óleos essenciais.	18
FIGURA 5 - Evolução das médias de Ufc ao longo do experimento para os três tratamentos, em conjunto, representados em um gráfico de linhas múltiplas.	22

INDÍCE DE TABELAS

TABELA 1 - Cepas encontradas por recém-nascidos nas áreas de coleta.	17
TABELA 2 - Perfil de resistência aos antibióticos em porcentagem	18
TABELA 3 - Suscetibilidade por disco-difusão de óleos essenciais	19
TABELA 4 - Suscetibilidade por disco difusão de óleos essenciais	20
TABELA 5 - Concentração inibitória mínima de capim cidrão frente a <i>Staphylococcus</i>	20
TABELA 6 - Concentração bactericida mínima capim cidrão frente a <i>Staphylococcus</i> .	21
TABELA 7 - Comparação de médias, medianas e desvios-padrão para os tratamentos Óleo e Vancomicina, com análise pelo teste de Mann-Whitney	22
TABELA 8- : Comparação de médias, medianas e desvios-padrão para os tratamentos Óleo e grupo Controle, com análise pelo teste de Mann-Whitney.....	23
TABELA 9 - Teste de Friedman para detecção de efetividade de tratamentos.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ac. - Ácido

ATCC - American Type Culture Collection

BHI - Brain Heart Infusion

CTIs - Centro de Terapia Intensiva

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

°C - graus Celsius

CSLI - Clinical Laboratory Standard Institute

cm - centímetro

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CBM - Concentração Bactericida Mínima

Cip - Ciprofloxacino

Cli - Clindamicina

CTI – Centro de Terapia Intensiva

DMSO - Dimetilsulfóxido

Eri – Eritromicina

ESBL - Enterobacter produtora de β -lactamase

EUA – Estados Unidos da América

Gram (+) - Gram positivo

Gram (-) - Gram Negativo

Gen - Gentamicina

HCSL - Hospital das Clínicas Samuel Libânio

IH - Infecções Hospitalares

IgE - Imunoglobulina E

MG - Minas Gerais

mL - mililitro

mm - milímetro

mg/kg - miligramas por quilograma

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina

ng/mL - nomograma por mililitros

nm – nanômetro

Oxa - Oxacilina

sp. - Subspecies

SPSS. - *Software Statistical Package for the Social Sciences*

S.aureus - *Staphylococcus aureus*

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

UTIN – Unidade de Terapia Intensiva Neonatal

UNIVAS - Universidade do Vale do Sapucaí

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

Van - Vancomicina

VRE - Vancomicina Resistente *Enterococcus*

VRSA - Vancomicina Resistente *Staphylococcus aureus*

µL - microlitro

µg - micrograma

RESUMO

Contexto: O principal agente infeccioso de UTIN e Berçário são estafilococos, sendo *Staphylococcus aureus* o mais importante entre os patógenos. Seu controle tem sido dificultado e a resistência bacteriana tem aparecido para um grande número de antibióticos. **Objetivos:** o presente trabalho teve dois objetivos, o primeiro foi avaliar a suscetibilidade in vitro de cepas de *Staphylococcus* sp. isolados de pacientes de UTIN e do berçário frente ao óleo *Cymbopogon citratus* (capim cidrão), *Melaleuca* sp. e *Eucalyptus* sp. O segundo foi avaliar a suscetibilidade in vivo da cepa de código DRJ80, a mais resistente entre os *Staphylococcus* sp., de paciente de UTIN e do berçário frente ao óleo *Cymbopogon citratus* (capim cidrão). **Métodos:** Óleos de *Cymbopogon citratus*, *Melaleuca* sp., *Eucalyptus* sp. e antibióticos, dentre eles Vancomicina foram testados in vitro, quanto a eficácia de controlar cepas de *Staphylococcus aureus* e não aureus, isolados da pele de recém-nascidos hospitalizados em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) e berçários do hospital regional Dr. Samuel Libânio. Para os tratamentos que apresentaram os melhores resultados foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração bactericida mínima (CBM). A cepa que apresentou o menor halo de inibição em relação aos tratamentos aplicados foi utilizada para o estudo em ratos. Para o teste experimental foram utilizados 30 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variação *albinus*, *wistar*), com 120 dias de idade e massa corpórea de aproximadamente 300 gramas. Lesões de 2,5 cm de diâmetro foram realizadas no dorso do animal e infectadas com a bactéria *Staphylococcus aureus* (código DRJ80) na concentração de $1,5 \times 10^6$ UFC/mL. Após dois dias da infecção os animais foram tratados com formulações de carbopol mais vancomicina, carbopol mais capim cidrão e somente carbopol. **Resultado:** Foram isolados 120 microrganismos da pele de recém-nascidos, das quais 13 não cresceram durante algum teste do experimento in vitro e por isso foram eliminadas. As 107 cepas restantes foram sensíveis à Vancomicina e à *Cymbopogon citratus* (capim cidrão), 31 ao óleo de *Eucalyptus* sp. e 11 ao óleo de *Melaleuca* sp. Nas condições in vivo a Vancomicina teve o resultado semelhante ao do capim cidrão, que por sua vez foram efetivos no combate a bactéria *Staphylococcus aureus* com *p* de 0,003 e 0,001, respectivamente. **Conclusão:** O *Cymbopogon citratus* possui potencial para controlar *S. aureus* e não aureus provenientes do Hospital Samuel Libânio, tanto em testes laboratoriais como em testes experimentais em ratos.

Palavras-chave: Fitoterapia; *Cymbopogon*; *Staphylococcus aureus*; MRSA, Ferida.

ABSTRACT

Context: The main infectious agent in the NICU and nursery are staphylococci, and *Staphylococcus aureus* the most important among pathogens. His control has been hindered and bacterial resistance has appeared for a large number of antibiotics.

Objective: This study had two goals, the first was to evaluate the In vitro susceptibility of strains of *Staphylococcus* sp. isolated NICU patients and Nursery front of *Cymbopogon citratus* oil (Lemon grass), *Melaleuca* sp. and *Eucalyptus* sp. The second was to evaluate the in vivo susceptibility of DRJ80 code strain, the toughest among *Staphylococcus* sp., patient NICU and nursery opposite the oil *Cymbopogon citratus* (Lemon grass)

Methods: *Cymbopogon citratus* oils, *Melaleuca* sp., *Eucalyptus* sp. and antibiotics, including Vancomycin were tested in vitro for efficacy of controlling strains of *Staphylococcus aureus* and not aureus isolated from the skin of hospitalized newborns in Neonatal Intensive Care Unit (NICU) and nurseries from Regional Hospital Dr. Samuel Libânio. To the treatments that showed the best results was determined Concentration Minimum Inhibitory (CMI) and minimum bactericidal concentration (MBC). The strain that showed the lowest inhibition zone in relation to the applied treatments was used for the study in rats. For the experimental test were used 30 male rats (*Rattus norvegicus*, *Albinus* variation, *Wistar*), with 120 days of age and body mass of approximately 300 grams. Injury 2.5 cm in diameter were performed in back of the animal and infected with *Staphylococcus aureus* (DRJ080 code) in concentration of 1.5×10^6 CFU/mL. After two days of infection the animals were treated with Carbopol formulations plus Vancomycin, Carbopol plus Lemon grass and only Carbopol.

Results: We isolated 120 microorganisms from the skin of newborn, of which 13 have not grown for some experiment in vitro test and that were eliminated. The 107 remaining strains were susceptible to Vancomycin and *Cymbopogon citratus* (Lemongrass), 31 to the *Eucalyptus* sp oil. and 11 to the oil *Melaleuca* sp. In the in vivo conditions Vancomycin had results similar to Lemon grass, which in turn were effective in combating bacteria *Staphylococcus aureus* P of 0.003 and 0.001, respectively.

Conclusion: *Cymbopogon citratus* has the potential to control *S. aureus* and not aureus from the Hospital Samuel Libânio both in laboratory tests and in experimental tests in rats.

Keywords: Phytotherapy; *Cymbopogon*; *Staphylococcus aureus*; MRSA, Wound.

1 CONTEXTO

Estudo realizado no Brasil descreveu que o país ocupa a décima posição entre os que mais nascem prematuros. Nos Estados Unidos da América (EUA), a frequência de nascimentos prematuros é cerca de 10 a 13%, enquanto que em outros países, também classificados como desenvolvidos a taxa varia de 5 a 9% (HOWSON *et al.*, 2012). A prematuridade ocorre em razão de crescentes indicações de cesariana e parto prematuro devido à gestação múltipla concebido artificialmente (GOLDENBERG *et al.*, 2008).

A maioria dos neonatos saudáveis permanece pouco tempo no hospital e, por isso, não adquirem a microbiota nosocomial. Assim, independente do peso de nascimento, ou do tipo de parto, o recém-nascido desenvolve a microbiota normal similar à do adulto em poucas semanas após o parto. Ao contrário dessa realidade temos os recém-nascidos internados em Unidades de Tratamento Intensivos Neonatos (UTIN), que tendem a tornar-se colonizados com a microbiota hospitalar, que possui microrganismos resistentes a antibióticos, como grande parte das bactérias Gram-negativas (MUSSI-PINHATA, *et al.*, 2001).

Os agentes infecciosos prevalentes nas UTIN são os estafilococos, sendo clássica a infecção pelo *Staphylococcus aureus* e, mais recentemente foi reconhecida a importância do *Staphylococcus epidermidis*, denominado na literatura de coagulase negativo. Eles pertencem ao grupo dos cocos Gram-positivos, podendo ser facilmente encontrado na pele e nas fossas nasais de indivíduos saudáveis (SANTOS, *et al.*, 2007). Além das narinas, esses microrganismos podem colonizar também a garganta e intestinos, a região perineal e trato urinário, regiões umbilical, axilar e interpododáctila, além de feridas abertas; (ANDRADE *et al.*, 2006; CARVALHO, *et al.*, 2005). Em hospitais, principalmente em berçários e UTINs tornou-se rotina o isolamento desses microrganismos em pacientes hospitalizados. Os estafilococos podem apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente com aspecto semelhante a um cacho de uvas (SANTOS *et al.*; 2007)

Existem relatos que as infecções causadas por *S. aureus* são particularmente difíceis de serem tratadas devido ao perfil de resistência antimicrobiana, pois *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (MRSA) acaba sendo um endêmico prevalente nos ambientes hospitalares, em grande proporção no mundo (DIEKEMA, *et al.*, 2001). Na verdade os pacientes alocados em UTI são considerados grupos

vulneráveis a maiores riscos de contaminação por infecção com MRSA, além dos inúmeros elementos predispostos ao risco como permanência hospitalar prolongada, maior consumo de antimicrobianos e presença de dispositivos intravenosos (FERREIRA, *et al.*, 2011).

No Brasil, não se conhece o real problema sobre às Infecções Hospitalares (IH), pelo fato dos dados não serem divulgados e até mesmo não fornecidos por muitos hospitais (ARANTES, *et al.*, 2013).

Estudo realizado no hospital geral de Sumaré-SP no período de 2007-2008 mostrou que houve o registro de 286 óbitos, nos quais 133 estava associado a IH e dessas 75 diretamente relacionadas com a infecção adquirida no hospital e destacando o *S. aureus* como o principal microrganismo causador (GUIMARÃES, *et al.*, 2011).

Um total de 174 pacientes foi avaliado em um estudo em dezesseis Centros de Terapias Intensivas (CTIs) do estado do Rio Grande do Sul, desses 122 estavam infectados, sendo que 51 adquiriram infecção no CTI. As áreas mais frequentemente acometidas pelo quadro infeccioso foram o pulmão, trato urinário e sepse sem foco definido e o microrganismo mais isolado foi *S. aureus*, sendo que destes, 63% eram cepas resistentes a meticilina (LISBOA, *et al.*, 2007).

Em um hospital-escola de São Paulo foi verificado que a incidência de pacientes com sepse hospitalar por MRSA atingiu 73,22%, o índice de mortalidade foi de 56,33% (RATTI e SOUSA, 2009). Em Londrina, também em um hospital universitário, a colonização por *S. aureus* foi de 17,68% em membros da equipe médica e sendo de 1,19% deles eram portadores de MRSA (PEREIRA e CUNHA, 2009).

O surgimento de microrganismos cada vez mais resistentes, principalmente daqueles encontrados na microbiota hospitalar, como é o caso do *S. aureus*, é motivo de preocupação, e ressalta a importância do investimento nas pesquisas tanto sobre a prevalência das infecções nosocomiais por este agente, quanto para a descoberta de novas estratégias terapêuticas e novos antibióticos (LIMA, *et al.*, 2015).

O uso de óleos essenciais de algumas plantas na saúde tem ficado mais populares nos últimos anos como alternativa para alguns tratamentos devido ao fato de muitas drogas sintéticas estarem relacionadas a efeitos colaterais desagradáveis, como a nefrotoxicidade e a ototoxicidade (LANG e BUCHBAUER, 2012). Em países desenvolvidos o mercado de medicamentos fitoterápicos em 2011 alcançou a cifra de

US\$ 26 bilhões, variando esse valor de acordo com as condições econômicas e sociais de cada região do mundo (ALVES, 2013).

Entre as plantas com bom desempenho na produção de óleos essenciais estão as espécies de *Eucalyptus*, pertencentes à família Myrtaceae, nas quais podemos descrever várias espécies como a *Eucalyptus citriodora*, a *Eucalyptus globulus*, a *Eucalyptus polybractea* e *Eucalyptus camaldulensis* (HILL e JOHNSON, 1995). Em um estudo com *E. globulus* e *S. aureus* resistente a Metecilina ficou demonstrados o potencial antimicrobiano do óleo em relação a cepa testada com uma concentração mínima inibitória de 250 ng/ mL (PEREIRA, *et al.*, 2014). Em outro estudo voltado para a área da odontologia foi descrito que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* foi superior ao da clorexidina, quando comparado ao controle da bactéria *Staphylococcus aureus*, e comportamento igual para as bactérias Gram-negativas como: *Escherichia coli* e *Proteus vulgaris*, e a levedura *Candida albicans* (DE SIQUEIRA MOTA, *et al.*, 2015).

Outra planta também bastante conhecida pelo emprego de seu óleo essencial na medicina é a árvore do chá (*Melaleuca alternifolia* Cheel), ela é uma das mais importantes, pois já demonstrou ação contra MRSA, *Streptococcus* sp. (CARSON *et al.*, 2006). A Austrália foi o país pioneiro a trabalhar com óleo desse gênero (CARSON *et al.*, 2006). No entanto, existem várias espécies diferentes espalhadas pelo mundo. No Brasil, pesquisadores trabalharam com óleo extraído de *Melaleuca* sp. cultivada no Sul de Minas Gerais, na cidade de Pouso Alegre – MG e detectaram relevante potencial bactericida *in vitro* contra isolados de *S. aureus*, isolado de membro inferior com lesão, quando o microrganismo foi avaliado *in vivo*, a capacidade de controle do óleo foi reduzida (FALCI, *et al.*, 2015).

Considerando, a relevância comercial e científica do óleo essencial *Cymbopogon citratus*, mais conhecido popularmente no Brasil como capim-limão, capim-cidró, capim-cheiroso, capim-cidreira, capim-cidrão, citronela-de-java e erva-cidreira. Pertence à família das Gramíneas, subfamília Panicoideae (GUIMARÃES, *et al.*, 2008). Esse óleo é amplamente utilizado para fins medicinais, sobretudo na forma de chá e tem o uso e aplicação nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos e perfumaria, devido ao óleo essencial, cujo principal componente é o citral (MARTINAZZO, *et al.*, 2010).

A planta é usada como um agente aromatizante e fragrância e na medicina popular como um antiespasmódico, hipotensor, anticonvulsivantes, analgésicos, antiemético, antitussígeno, anti-reumático, anti-séptico e tratamento para distúrbios gastrointestinais, nervoso e febres. É também usada como um agente antibacteriano, e os extratos etanólicos das folhas de capim cidrão possui propriedade potencial contra *Staphylococcus aureus*, acredita-se que os flavonóides e taninos encontrados nos extratos são responsáveis pela atividade. Esse óleo também possui ação de controle bastante eficiente contra outros patógenos humanos, principalmente a levedura *Candida albicans* (MANVITHA e BIDYA 2014).

Nos dias atuais, o apelo por uma medicina alternativa e causadora de menor sintomatologia colateral tem recebido a atenção entre os profissionais de saúde. A busca por compostos de origem natural e uso de plantas medicinais já é uma realidade para alguns tratamentos, principalmente no que diz respeito ao poder antimicrobiano de alguns compostos (AKINNIBOSUN, *et al.*, 2008). Elas produzem compostos secundários, que podem ser separados de acordo com as estruturas químicas em vários grupos, dentre eles os óleos essenciais, os quais apresentam atividades farmacológicas como antissépticas, antiinflamatórias, antimicrobianas, dentre outras, que são muito utilizadas na medicina popular e na fabricação de medicamentos (CARDOSO, *et al.*, 2000).

2 OBJETIVO

Avaliar a suscetibilidade in vitro de cepas de *Staphylococcus* sp. isolados de pacientes de UTIN e do berçário frente ao óleo *Cymbopogon citratus* (capim cidrão), *Melaleuca* sp. e *Eucalyptus* sp.

Avaliar a suscetibilidade in vivo da cepa de código 80, a mais resistente entre os *Staphylococcus* sp. isolados de pacientes de UTIN e do berçário frente ao óleo *Cymbopogon citratus* (capim cidrão).

3 MÉTODOS

3.1 Delineamentos do estudo

O estudo in vitro caracterizou-se por ser um estudo primário, observacional, analítico, prospectivo e longitudinal, realizado em parte no Hospital das Clínicas Samuel Libânio (HCSL) e também no laboratório de Microbiologia da unidade central da Universidade do Vale do Sapucaí (Univás). As coletas só tiveram início após Autorização da Instituições Coparticipantes do projeto, ou seja HCSL (apêndice 11.2) O projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de ética que emitiu liberação para coleta dos dados por meio do protocolo de número 810.001 (Anexo I).

O experimento com ratos caracterizou-se por se tratar um estudo primário, intervencional, prospectivo, analítico e controlado. Os princípios éticos para o uso de animais de laboratório foram seguidos conforme preconiza o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Universidade do Vale do Sapucaí, sob o protocolo 246/15 (Anexo II). Uma parte desse trabalho foi realizada no biotério e a outra no laboratório de Microbiologia do campus central da UNIVÁS.

3.2 Casuísticas da coleta dos microrganismos dos recém-nascidos

Foram incluídos 30 recém-nascidos da Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) e do berçário do Hospital das Clínicas Samuel Libânio (HCSL). A coleta das amostras de microrganismos somente foi realizada mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsáveis dos recém-nascidos (apêndice 11.1).

Os critérios de inclusão, não inclusão e exclusão estão descritos abaixo.

3.2.1 Critérios de inclusão

- Recém-nascidos com mais de 26 semanas (pré-termos com idade gestacional entre 26 e 36, e recém-nascidos a termo);
- Recém-nascidos internados na UTIN e berçário do HCSL;
- Recém-nascidos que tenham assinatura dos pais ou responsáveis e também do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);

- Recém-nascidos prematuros ou a termo com diagnóstico presumível ou confirmado de corioamnionite;
- Rotura prematura das membranas obstétricas com mais de 12 horas antes do parto para prematuros (menores que 36 semanas de idade gestacional), ou mais de 18 horas para partos a termo (com mais de 36 semanas de idade gestacional);
- Recém-nascidos com tempo de internação superior a dez (10) dias e inferior a quarenta (40) dias.

3.2.2 Critérios de não inclusão

- Recém-nascidos cujo parto não foi realizado no HCSL.

3.2.3 Critérios de exclusão

- Coleta sem colonização

3.3 Extração dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus stapf*, *Eucalyptus sp.* e *Melaleuca sp*

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas pelo método do arraste a vapor em aparelho do tipo Clevenger modificado, conforme a Farmacopéia Brasileira (1996), no Laboratório de Botânica da Univás.

Os óleos das folhas das plantas de *Eucalyptus sp.*, *Melaleuca sp.* e *Cymbopogon citratus* foram extraídos por meio da hidrodestilação, utilizando o equipamento do tipo Clevenger (Hermex Glasware – Brasil). Para cada extração foram colocados 400 gramas de folhas em um balão com 300 mL de água. Esse balão foi colocado sobre uma manta aquecedora que aqueceu a mistura até à ebulição, liberando o vapor que arrasta com ele o óleo de *Eucalyptus sp.*, *Melaleuca sp.* e *Cymbopogon citratus*. O vapor passando pelo condensador foi resfriado e voltou novamente à fase líquida. No balão de recolhimento, os líquidos que não solúveis entre si separam-se. Depois de retirados, os óleos foram acondicionados em frascos escuros e mantido em geladeira a uma temperatura de 5° C.

3.4 Testes microbiológicos

3.4.1 Coleta dos microrganismos da pele

A amostra biológica foi coletada da pele dos recém-nascidos internados em UTIN e Berçário em quatro regiões, a saber: membro superiores, membro inferiores, região nasal e axilar. Para isso foi utilizado swabs estéreis e descartáveis com embalagem individual (ABSORVE[®]).

Todos os swabs utilizados foram previamente umedecidos em uma solução estéril tamponada de salina fosfato com 3% de tween 80 (DIFCO[®]). Essa solução foi utilizada para neutralizar e remover maior quantidade de microrganismos da pele. Após a coleta, os swabs foram colocados em tubos esterilizados contendo 1 ml de solução fisiológica 0,9% e 8 pérolas de vidro. Em seguida, as coletas foram identificadas e transportadas em caixa isotérmica para o laboratório de microbiologia e pesquisas básicas da Univás para a realização do isolamento de *Staphylococcus* sp.

3.4.2 Isolamento das bactérias *Staphylococcus* sp.

Para as análises, cada swab foi homogeneizado no agitador Vortex (Phoenix, modelo AP56) por 1 minuto com as 8 pérolas de vidro estéreis que favoreceram a remoção de microrganismos do swab para a solução fisiológica 0,9%. Após a homogeneização do tubo, com auxílio de uma alça em anel estéril, calibrada e descartável foram semeados 10 µL da solução pela técnica de esgotamento, em placas de Petri com meio Ágar Manitol (HIMEDIA[®]), meio seletivo para isolamento para cocos Gram positivos.

Após a semeadura das amostras, as placas de Petri foram identificadas e colocadas na estufa a uma temperatura de 37°C por período de 48 horas. Colônias com padrões morfológicos típicos de *Staphylococcus aureus* e não aureus foram transferidos para o meio Agar Mueller Hinton (HIMEDIA[®]) para os testes de identificação. Cada microrganismo recebeu um código.

3.4.3 Manutenção e estocagem das linhagens

A manutenção e a estocagem das linhagens foi realizada em tubos de ensaio com meio Agar Mueller Hinton e guardado a 8° C, em geladeira. Todos os isolados foram

pré-identificados com um código e depositados na Coleção Microbiológica do Laboratório de Pesquisas Básicas da Univás.

3.5 Identificação dos microrganismos

As identificações dos microrganismos foram realizadas analisando os aspectos microscópicos e bioquímicos de forma a identificar *Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase negativa. Foram realizados os testes de coloração de Gram, fermentação do manitol em meio Agar Manitol e teste de coagulase utilizando-se o kit Coagu-plasma LABORCLIN[®].

3.5.1 Teste de coloração de Gram

Foi realizada uma suspensão em solução de NaCl a 0,9% com colônias de 24 horas de cultivo em Agar Mueller-Hinton. Uma gota da suspensão foi depositada no centro de uma lâmina limpa e em seguida foi fixada ao fogo.

O teste de Gram é composto de coberturas sobre o esfregaço fixado das seguintes soluções: cristal violeta por um minuto; solução de lugol por um minuto; álcool-cetona por 15 segundos e por fim solução de fucsina por 30 segundos. Entre uma solução e outra, a retirada do corante se dá em água corrente.

3.5.2 Fermentação do Manitol

Os microrganismos foram semeados meio Agar Manitol (HIMEDIA[®]). Neste teste, quando há modificação da cor do meio de cultura de rósea para amarela, indica a fermentação do manitol. Quando não há fermentação do manitol o meio permanece inalterado (manitol negativo). O controle de esterilidade do meio de cultura foi realizado sem presença de microrganismo.

3.5.3 Teste da Coagulase

Foi feita uma cultura em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e após 24 horas de incubação a 37°C, uma alíquota de 0,5 mL da cultura foi adicionada a 0,5 mL de plasma recém-reconstituído (não diluído) em um tubo de vidro estéril. Os tubos foram incubados banho-maria a 35° ± 2°C por 4 horas. Foi considerado coagulase positiva, tubos com formação de coágulos neste período de avaliação.

3.6 Teste de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos

A suscetibilidade *in vitro* das cepas de *Staphylococcus aureus* e não aureus foi determinada pelo teste de difusão em disco, de acordo com o documento M2-A8 do Clinical Laboratory Standard Institute- CLSI (2003) para as drogas antimicrobianas: Gentamicina 10 µg, Ciprofloxacina 5 µg, Vancomicina 30 µg, Clindamicina 2 µg, Eritromicina 15 µg e Oxacilina 1 µg (Anexo III). Os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus* sp. e *Melaleuca* sp. também seguiram a mesma metodologia.

3.6.1 Preparo do inóculo

Colônias puras cultivadas em Agar Mueller Hinton (Sigma[®]) com 24 horas de incubação a 37°C foram transferidas para um tubo contendo 4-5 mL de solução de salina 0,9% esterilizada, para preparar uma suspensão, cuja turbidez foi ajustada para que coincida com a da solução-padrão da escala de McFarland 0,5, a qual equivale de 1 a 2×10^8 UFC/mL. A densidade correta do controle de turbidez foi verificada usando um espectrofotômetro CELM modelo E-225D com fonte de luz de 1-cm e uma cubeta apropriada para determinar a absorvância com um comprimento de onda de 625 nm. (CLSI - M2-A8).

3.6.2 Antibiograma

Após o preparo do inóculo, a suspensão bacteriana foi semeada com auxílio de um swab estéril (ABSORVE[®]) e espalhada por toda a superfície da placa. Em seguida discos com antibióticos foram colocados na superfície da placa de Petri, em locais predeterminados. Após 16 a 18 horas de incubação foram feitas a leitura dos resultados para todas as drogas testadas, exceto a Vancomicina 30 µg, a qual o tempo de incubação foi de 24 horas de acordo com as determinações da CLSI. Os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos em milímetros, e os microrganismos classificados como sensíveis, intermediários, ou resistentes aos agentes antibacterianos testados conforme documento M100-S15 tabela 2C do CLSI.

3.6.3 Teste de suscetibilidade aos óleos essenciais

Discos estéreis de papel de filtro Whatman N° 1 de 6 mm de diâmetro foram colocados sobre a superfície e no centro da placa onde já foi disseminada a colônia bacteriana. Em seguida foi pipetado 5µL de óleos essenciais e colocados sobre os

discos. Os óleos utilizados foram: *Melaleuca* sp., (4435,0µg); *Eucalyptus* sp. (4307,5µg) e *Cymbopogon citratus* (4452,0µg). As placas foram vedadas com papel filme e incubadas em temperatura de 37°C por 24 horas. Após esse período, os halos de inibição quando presentes foram mensurados com auxílios de um paquímetro e o resultado expresso em mm.

3.7 Teste de concentração mínima inibitória CIM

3.7.1 Preparo da solução estoque para o teste da concentração inibitória mínima de óleos essenciais (CIM)

A solução estoque foi preparada pesado 120 µL (106.848 mg) do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* dissolvidos em 1ml de DMSO. A solução foi armazenada em microtubos de polipropileno com tampa, mantidos a -5°C por até 6 meses.

3.7.2 Preparação das concentrações dos óleos

Foi realizada a diluição prévia dos óleos em 10 diferentes concentrações avaliadas que variam de 10,6848 mg/mL (1,2%) a 0,02086875 mg/mL (0,00234375%). Foram adicionados 200 µl da solução estoque em um tubo eppendorf enumerado tubo nº1 e, 100 µl de DMSO em 10 tubos eppendorf enumerados nº2 em diante. Procedeu-se então a diluição ao dobro, transferindo-se 100 µl do 1º tubo para o 2º tubo; do 2º para o 3º e assim por diante até o 10º tubo. Finalmente, acrescentou-se 900 µl de água destilada estéril em todos os tubos, resultando em um volume final em cada tubo eppendorf de 1 ml.

3.7.3 Execução do teste e leitura da CIM

Foi realizado em placas de microdiluição, com fundo em “U” (estéril), para onde foram transferidos todos os componentes preparados anteriormente: 20 µl de inóculo, 20 µl de suspensão do óleo essencial nas diferentes concentrações e mais 160 µl do meio Caldo Muller Hinton nos 10 primeiros poços, o 11º foi adicionado apenas 160 µl de meio sem inóculo para o controle negativo e o 12º poço foi adicionado 160 µl de meio, 20 µl de DMSO e 20 µl de inóculo para o controle positivo. A leitura foi realizada após 24 horas de incubação a 37°C comparando o crescimento de cada cavidade com a obtida nos controles positivo e negativo.

3.7.4 Concentração bactericida mínima dos óleos essenciais

Após leitura da placa de microdiluição, de cada poço que não apresentarem crescimento foi retirado uma alíquota de 100 µl e semeados em meio Agar Muller Hinton com auxílio da alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e após esse período foi realizada a leitura sendo considerada a concentração bactericida mínima as placas que não apresentarem crescimento algum de bactérias.

3.8 Atividade antimicrobiana in vivo

3.8.1 Adaptação dos ratos

A amostra foi constituída por 30 ratos (*Rattus Norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, Machos, com 3 a 4 meses de vida, com massa corpórea de aproximadamente 300 g, proveniente do biotério da Universidade do Vale do Sapucaí, MG, Brasil (UNIVÁS).

Os animais ficaram dez dias em adaptação, alojados e mantidos no biotério em caixas moradias individual de polipropileno (Caixa GK 115 – Beira Mar), com dimensão de 49x34x16 cm, identificada com números de 1 a 30. A iluminação foi controlada com ciclo claro/escuro de doze horas. Os animais receberam ração padronizada (ração extrusada presence da marca Evitalis) e água *ad libitum*. A higienização das gaiolas foi realizada duas vezes por semana, com troca das maravalhas.

3.8.2 Confeção das feridas nos ratos

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob anestesia geral, por meio de administração intramuscular de 0,1 mL de cloridrato de quetamina (Dopalen, Agribrands), associado a 0,05 mL de cloridrato de xylazina (Rompun, Bayer), para cada 100 gramas de peso do animal.

Com o animal anestesiado, por meio de um molde de papelão e com uma caneta dermatográfica, demarcou-se no dorso uma área quadrangular de 5 cm no eixo longitudinal por 5 cm no eixo transversal, iniciada a partir da margem inferior das escápulas. Essa área foi epilada manualmente (Figura 1).

Antes da incisão, o local da ferida foi estabelecido como uma área circular de 2,5 cm de diâmetro, no plano transversal, com seu centro na linha mediana dorsal seguindo em sentido caudal, iniciando-se a 1 cm da margem inferior das escápulas.

Na mesa cirúrgica, a região demarcada em cada rato foi limpa com solução salina a 0,9%, e a antisepsia realizada com álcool 70%. Com um “*punch*” de aço inoxidável de 2,5 cm de diâmetro e extremidade cortante em bisel fez-se pressão contra a pele o que produziu um corte circular superficial. Com bisturi e tesoura íris foram completadas a incisão e a ressecção da pele e do panículo carnosos até a fáscia muscular superficial (Figura 2), produzindo a ferida conforme técnica descrita em ATZINGEN *et al.* (2013).

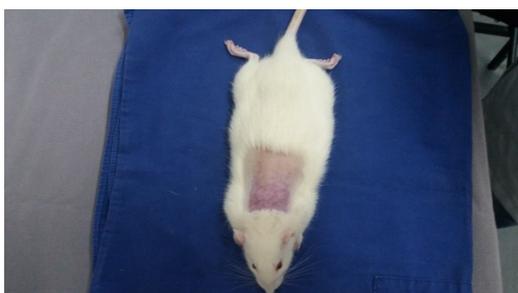


Figura 1 – Técnica de epilação manual dos ratos

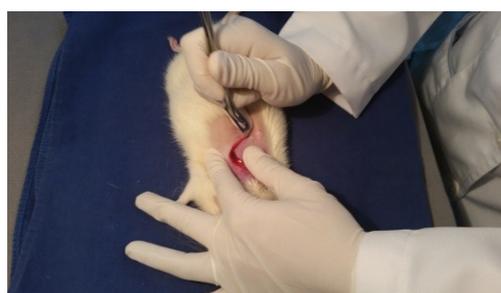


Figura 2 - Incisão e a ressecção da pele e do panículo dos ratos

3.8.3 Infecção por *S. aureus* nos ratos

A seguir ao procedimento cirúrgico, cada animal recebeu sobre a ferida 0,5 mL de uma suspensão bacteriana de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de *S. aureus* (turbidez de 0,5 na escala de McFarland). Nesse experimento utilizou-se a cepa de código DRJ080 identificada como *S. aureus* que apresentou menor halo de inibição, ou seja, maior resistência a Vancomicina e ao *Cymbopogon citratus* (Capim Cidrao). A concentração do produto foi estabelecida com a concentração em 1% de princípio ativo, tanto para Vancomicina quanto para o *Cymbopogon citratus*.

Esse procedimento foi efetuado em todos os animais, sendo esse dia considerado como dia zero da infecção. Em seguida, a ferida foi coberta com filme transparente adesivo Tegaderm Film®, utilizado em curativos em UTIN, com dimensão de 4,4x4,4 cm (Anexo IV). Para a fixação do filme transparente, a película que protege a parte adesiva foi removida, sendo o filme aderido à área ao redor da ferida.

Dois dias após a infecção foi realizada a separação dos animais em três grupos distintos, a saber:

a) grupo controle (n=10) – o tratamento das feridas dos ratos foi realizado com 1 mL de gel de carbopol (Figura 3).

b) grupo Vancomicina (n=10) – as feridas deste grupo de ratos receberam 1 mL de gel carbopol a 1% de vancomicina, obtido em farmácia de manipulação (Figura 3).

c) grupo *Cymbopogon citratus* (n=10) – neste grupo foi aplicado 1 mL de gel de carbopol a 1% de *Cymbopogon citratus*, obtido em farmácia de manipulação (Figura 3).



Figura 3 – gel Spencer com carbopol + vancomicina, carbopol + *Cymbopogon citratus* e carbopol puro

3.8.4 Limpeza das feridas e aplicação do princípio ativo

Diariamente, sempre antecedendo à aplicação do tratamento, foi realizado o desbridamento da ferida quando necessário, com o auxílio de pinça e gaze embebida em soro fisiológico 0,9% esterilizado por meio de um procedimento rápido, invadindo minimamente os tecidos vivos. Em seguida foi realizada a limpeza da ferida com 5 mL de soro fisiológico a 0,9%.

Para os tratamentos realizados a partir do estabelecimento da infecção foi usado um “prompt” ou “Spencer” com capacidade de dispensação de 1 mL da substância utilizada em cada grupo, de forma a preencher toda a superfície da lesão e desta forma padronizar a quantidade de tratamento aplicada nos três grupos. Esses tratamentos foram realizados durante um período de 11 dias.

Após a limpeza e o tratamento, as feridas permaneceram cobertas por filme Tegaderm transparente adesivo durante todo o experimento. A analgesia dos animais durante o experimento foi feita com Cetoprofeno (3 dias) e Dipirona gotas (12 dias), diluídos na água que os ratos beberam, na quantidade de 5 mg/Kg e 15 mg/kg, respectivamente.

3.8.5 Quantificação do número de microrganismos nas lesões pelo método da irrigação-aspiração

A coleta do lavado da ferida para quantificação das UFC foi realizada nos 2,5, 7, 9 e 11 dias, contados depois do processo de infecção. A cada avaliação foram depositados 3 mL de soro fisiológico a 0,9%, esterilizado sobre a ferida, com o objetivo de fazer a limpeza de todo o leito da lesão. Com o auxílio de uma seringa, 2 mL, dessa solução do soro com os microrganismos existentes na lesão foram transferidos para um tubo de ensaio esterilizado. Este foi vedado com tampa de rosca e imediatamente encaminhado ao laboratório de microbiologia para proceder a contagem dos microrganismos em cada ferida através da técnica de diluição seriada.

A metodologia consiste na utilização de uma pipeta automática esterilizada, na qual foi utilizada para transferir 1,0 mL do lavado da ferida para outro tubo de ensaio com 9,0 mL de solução esterilizada de cloreto de sódio a 0,9%, obtendo a diluição 10^{-1} . Esse procedimento foi repetido até a diluição 10^{-4} . Após a diluição foi transferido 100 μ L de cada uma das diluições, começando da mais diluída para a menos diluída, para a superfície do meio ágar sal manitol, seletivo para bactérias do gênero *Staphylococcus*. Para cada diluição, foram realizados três plaqueamentos.

O inóculo foi espalhado com o auxílio da alça de Drigalsky sobre a superfície do ágar sal manitol. As placas foram incubadas invertidas, a uma temperatura de 37°C, por 48 horas, quando então foi feita a contagem de bactérias com aspecto de colônias características típicas do crescimento de *S. aureus*, colônias com halo amarelo ao redor, resultado da fermentação do manitol. Foi utilizado o contador de colônias mecânico CP 602 (Phoenix®) para determinar quantas colônias haviam por mililitros, na suspensão original da ferida.

No décimo primeiro dia do experimento os animais foram submetidos à anestesia geral e em seguida realizada a retirada do material biológico para futuros estudos. A eutanásia foi realizada com cloreto de potássio 19% via intracardíaca, conforme descrito no projeto enviado e analisado pelo CEUA (Anexo II).

3.9 Análise estatística

Os dados foram processados pelos Softwares R v.3.2.4, RStudio v.0.99.893 e *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 20. Por meio do teste de Kruskal Wallis foi efetuada a comparação dos três grupos. Como complemento

foi utilizado o teste de Mann-Whitney, que mostrou as diferenças de grupos dois a dois, ou seja, diferenças entre os tratamentos com Vancomicina e óleo essencial, Vancomicina e grupo controle, óleo essencial e grupo controle. Para verificar a diferença de efetividade entre os tratamentos foi teste de Friedman. O nível de rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5%, considerando-se significantes os valores de p menores ou iguais a 0,05.

4 RESULTADOS

4.1 Isolamento e identificação dos microrganismos

Um total de 120 cepas foi isolado, mas no decorrer do experimento houveram 13 perdas relacionadas ao não crescimento dos microrganismos. Dessa forma, a amostra total avaliada no trabalho in vitro foi constituída por 107 isolados. A espécie de *S. aureus* representou um total de 25 (23,36%) dos microrganismos isolados, enquanto os outros 82 (76,63%) foram identificados como estafilococos coagulase negativa, ou seja, não aureus. As regiões do corpo dos recém-nascidos, onde se encontrou o maior número de *S. aureus* foi a axilar, seguida da nasal e membro superior, membro inferior (Tabela 1).

Tabela 1 - Cepas encontradas por recém-nascidos nas áreas de coleta.

Região	N	Isolados	<i>S. aureus</i>	Não aureus	SC
Axilar	30	28	33,33%	60,00%	6,67%
Nasal	30	30	20,00%	80,00%	0,00%
Membro superior	30	26	20,00%	66,67%	13,33%
Membro inferior	30	25	13,33%	70,00%	16,67%

N – número de amostras, SC – sem crescimento.

4.2 Avaliação da resistência dos microrganismos isolados aos antibióticos

Todos os 107 microrganismos testados apresentaram sensibilidade a Vancomicina, sendo este o melhor resultado entre os antibióticos testados. A Oxacilina e a Gentamicina obtiveram os piores resultados no combate aos microrganismos encontrados na pele de recém-nascidos, hospedados em berçário e UTIN. As bactérias foram resistentes para ambos os antibióticos em 87,96% (Tabela 2).

A Oxacilina inibiu 24% e a Gentamicina 20% dos *S. aureus* estudados. Em relação aos não aureus a inibição foi 6,02% e 9,63%, respectivamente. A oxacilina apresentou ainda uma resistência intermediária de 8% para *S. aureus*.

A porcentagem de resistência dos microrganismos a Clindamicina foi de 55,56%, sendo que quando exposta para controlar somente os microrganismos identificados como *S. aureus* obteve-se uma inibição de 56%, enquanto os não aureus foram controlados em 40,97% (Tabela 2). Esse foi o único antibiótico, a exceção da

Vancomicina que controlou mais da metade das bactérias *S. aureus*, conforme descrito na tabela 2.

Para Ciprofloxacina e Eritromicina os microrganismos foram resistentes em 67,59% e 74,07%, respectivamente. Com relação à capacidade para controlar *S. aureus*, observou-se que Ciprofloxacina controlou 44% e 24,09% dos não aureus, enquanto a Eritromicina controlou apenas 24% de *S. aureus* e 14,45% dos não aureus, Ciprofloxacina apresentou ainda uma resistência intermediária para 8% de *S. aureus* e 2,4% para os não aureus. Analisando a Eritromicina foi constatado que 4% e 9,63%, respectivamente de resistência intermediária para *S.aureus* e não *aureus* (Tabela 2).

Tabela 2 - Perfil de resistência aos antibióticos em porcentagem

Isolados	Cip 5 µg	Oxa 1 µg	Eri 15 µg	Gen 10 µg	Van 30 µg	Cli 2 µg
<i>S. aureus</i>	48,00%	68,00%	72,00%	80,00%	0,00%	44,00%
Não aureus	73,49%	93,97%	74,69%	90,36%	0,00%	59,03%
Todos isolados	67,59%	87,96%	74,07%	87,96%	0,00%	55,56%

Legenda: Cip – Ciprofloxacina; Oxa – Oxacilina; Eri – Eritromicina; Gen – Gentamicina; Van – Vancomicina; Cli – Clindamicina .

4.3 Avaliação da susceptibilidade dos microrganismos isolados aos óleos essenciais

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim cidrão) apresentou inibição a todas as 107 cepas testadas destacando-se como o melhor resultado apresentado entre os óleos testados (Figura 4). Os microrganismos apresentaram suscetibilidade menos expressiva aos óleos essenciais de *Eucalyptus* sp. e *Melaleuca* sp. (Figura 4).

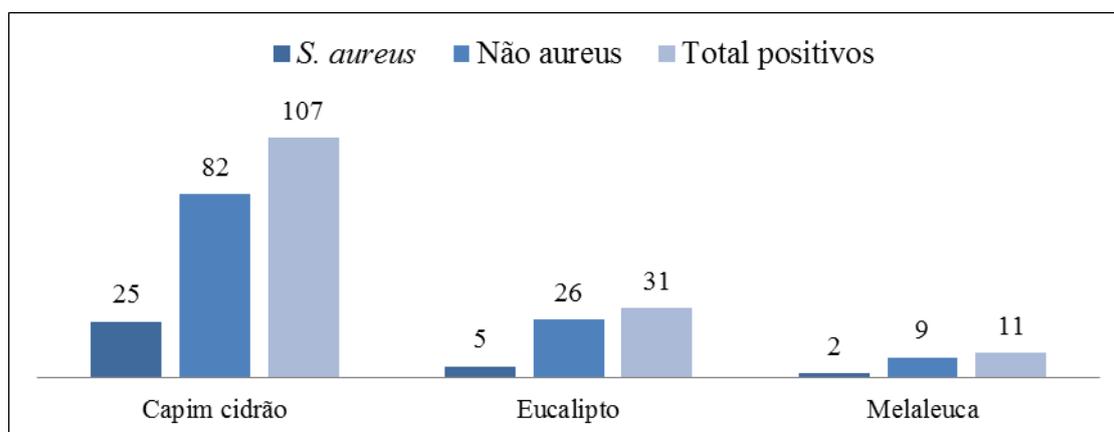


Figura 4 - Suscetibilidade de *Staphylococcus* sp. frente aos óleos essenciais.

Os halos de inibição variaram entre 20 mm e 70 mm, dando um halo médio de 31,4 mm para as cepas de *S. aureus* submetidas à ação do óleo de capim cidrão. Para o *Eucalyptus* sp. o halo médio foi de 15,6 mm e para a *Melaleuca* sp. foi de 18,5 mm (Tabela 3). O óleo da *Melaleuca* sp. controlou menos microrganismos que o *Eucalyptus* sp., mas obteve o halo de inibição maior (tabela 3).

Em relação aos microrganismos não aureus observou-se halos de inibição que variaram entre 18 mm e 70 mm, dando um halo médio de 30,47 mm, quando submetidos a ação do capim cidrão. Os halos obtidos para *Melaleuca* sp. (17,77 mm) e *Eucalyptus* sp. (14,26 mm) também não foram discrepantes dos observados para as cepas de *S. aureus* (Tabela 3).

De modo geral, os halos médios de inibição dos microrganismos foram de 30,69 para o óleo do capim cidrão, 14,48 para o óleo de *Eucalyptus* sp. e 17,9 para o óleo da *Melaleuca* sp. (Tabela 3).

Tabela 3 - Suscetibilidade por disco-difusão de óleos essenciais

	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Eucalyptus</i> sp.	<i>Melaleuca</i> sp.
<i>S. aureus</i>	25	5	2
Media de halo	31,4 mm	15,6 mm	18,5 mm
Maior halo	70 mm	25 mm	22 mm
Menor halo	20 mm	7 mm	15 mm
Não aureus	82	26	9
Media de halo	30,47 mm	14,26 mm	17,77 mm
Maior halo	70 mm	35 mm	30 mm
Menor halo	18 mm	8 mm	11 mm
Total	107	31	11
Media de halo	30,69 mm	14,48 mm	17,9 mm
Maior halo	70 mm	35 mm	30 mm
Menor halo	18 mm	7 mm	11 mm

Quando analisada a inibição pela Vancomicina em relação às cepas de *Staphylococcus aureus* e estafilococos não aureus observou-se que as médias ficaram estabelecidas em 21,52mm e 21,1mm, respectivamente (Tabela 4), valores menores que o observado na ação do *Cymbopogon citratus* (Tabela 3). Também foi observado que o maior halo foi conseguido também pelo óleo dessa planta, enquanto que o menor halo foi igual ao da Vancomicina. De maneira geral, o óleo de *Cymbopogon citratus* foi mais efetivo no controle dos microrganismos in vitro do que todos os antibióticos testados.

Tabela 4 - Suscetibilidade por disco difusão de antibióticos

	CIP	OXA	ERI	GEN	VAN	CLI
<i>S. aureus</i>	14	8	13	7	25	14
Media de halo	27,28 mm	17,5 mm	20,84 mm	23,28 mm	21,52 mm	30,5 mm
Maior halo	36 mm	28 mm	35 mm	31 mm	25 mm	33 mm
Menor halo	12 mm	12 mm	8 mm	9 mm	19 mm	26 mm
Não aureus	29	9	34	15	82	34
Media de halo	26 mm	19,22 mm	19,73 mm	15,06 mm	21,1 mm	29,88 mm
Maior halo	45 mm	30 mm	38 mm	44 mm	38 mm	42 mm
Menor halo	8 mm	11 mm	8 mm	8 mm	19 mm	8 mm
Total	43	17	47	22	107	48
Media de halo	26,64 mm	18,36 mm	20,285 mm	19,17 mm	21,31 mm	30,19 mm
Maior halo	45 mm	30 mm	38 mm	44 mm	38 mm	42 mm
Menor halo	8 mm	11 mm	8 mm	8 mm	19 mm	8 mm

Legenda: Cip – Ciprofloxacina; Oxa – Oxacilina; Eri – Eritromicina; Gen – Gentamicina; Van – Vancomicina; Cli – Clindamicina .

4.4 Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do óleo de *Cymbopogon citratus*

Nos testes de concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima foram testadas 107 cepas. A CIM mais eficiente para todas as cepas foi de 1,3356 mg/mL resultando em 100% de inibição, já a metade dessa concentração, ou seja, 0,6678 mg/mL foi eficiente em 99,06%. Os resultados completos estão apresentados tabela 5.

Tabela 5 - Concentração inibitória mínima de capim cidrão frente a *Staphylococcus* sp.

Concentração	<i>S. aureus</i>	Não aureus	Total
0,16695 mg/mL	0,00%	3,66%	2,80%
0,3339 mg/mL	88,00%	93,90%	92,52%
0,6678 mg/mL	96,00%	100,00%	99,06%
1,3356 mg/mL	100,00%	100,00%	100,00%

A concentração bactericida mínima de 1,3356 mg/mL foi 100% eficiente para todas as cepas testadas. A metade desta concentração inibiu 96,06% das cepas. Os resultados completos estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Concentração bactericida mínima capim cidrão frente a *Staphylococcus* sp.

Concentração	<i>S. aureus</i>	Não aureus	Total
0,16695 mg/mL	0,00%	14,63%	11,21%
0,3339 mg/mL	4,00%	89,02%	69,15%
0,6678 mg/mL	96,00%	100,00%	99,06%
1,3356 mg/mL	100,00%	100,00%	100,00%

4.5 Tratamentos em ratos com capim cidrão e Vancomicina

A partir do teste de Kruskal-Wallis aplicado nos resultados observados dos três diferentes tratamentos foi observado diferenças estatisticamente significantes entre eles a partir das 120 horas de observação, seguindo a tendência até o final do experimento.

Houve um aumento no número de UFC/mL dos grupos controle, Vancomicina e *Cymbopogon citratus*, entre o dia da inoculação e a primeira avaliação. Esse resultado demonstrou que o processo de inoculação da bactéria foi efetivo e que se nenhum tratamento estivesse sido aplicado, os propágulos bacterianos continuariam aumentando (Figura 5). O fato de realizar a lavagem da ferida reduziu drasticamente o número de microrganismos durante a segunda, terceira e quarta leituras, voltando registrar um aumento de crescimento na quinta leitura do tratamento controle (Figura 5).

A Vancomicina reduziu as cepas de *S. aureus*, resultado já esperado, pois esse antibiótico possui características e resultados comprovadamente positivos de ação sobre o gênero *Staphylococcus*. Apesar de haver a redução dos microrganismos devido à lavagem das feridas, a ação antimicrobiana do antibiótico ficou evidenciada ao mostrar-se a redução no número de *S. aureus* durante todo experimento. Nesse caso, o tratamento com antibiótico foi eficiente na descolonização, mas não na descontaminação, pois não houve a eliminação total dos microrganismos, conforme pode ser avaliado na figura 5. Isso pode ter acontecido devido ao tempo de avaliação de ação do antibiótico que foi de nove dias.

Quando se analisou a diferença do crescimento dos microrganismos dentro do grupo Vancomicina, os resultados mostraram que o número de UFC contado com 48 horas de avaliação diferiu estatisticamente em relação às demais leituras.

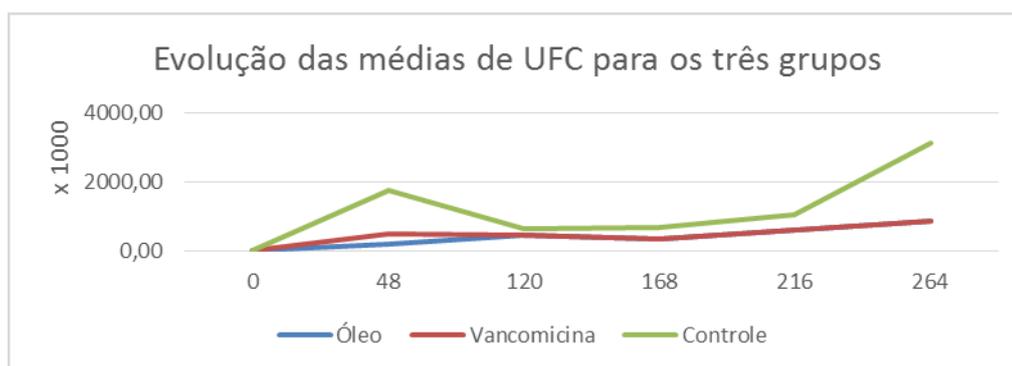


Figura 5 - Evolução das médias de UFC ao longo do experimento para os três tratamentos com óleo, Vancomicina e controle.

Na comparação das médias, medianas e desvios-padrão para os tratamentos óleo e Vancomicina, com análise pelo teste de Mann-Whitney foi percebido que há diferença estatística entre eles a partir das 120h. A Vancomicina que apresentou valor de p (0,00027) menor que o do óleo a partir de 120h de observação, com 168h o p foi (0,00044), para 216h de comparação o p foi de (0,00350) e finalmente com 264h o p foi (0,00810), dentro do nível de significância α 0,05 (tabela 7). Sendo assim, o tratamento vancomicina eliminou mais células da cepa 80 do que o óleo de capim cidrão.

Tabela 7: Comparação de médias, medianas e desvios-padrão para os tratamentos Óleo e Vancomicina, com análise pelo teste de Mann-Whitney

Horas	Óleo			Vancomicina			Mann-Whitney
	Média	Mediana	SD	Média	Mediana	SD	p-Valor
0	2910,00	2700,00	2069,06	6780,00	1950,00	16123,40	0,42578
48	193300,00	46500,00	250251,67	277100,00	72000,00	543731,03	0,90965
120	455240,00	303000,00	573368,59	1683,33	900,00	177,64	0,00027
168	337500,00	193500,00	506109,18	2475,00	2175,00	2276,28	0,00044
216	584777,80	366000,00	682972,25	4233,33	2550,00	4179,04	0,00350
264	855955,00	55050,00	1372064,43	12745,00	4725,00	17255,83	0,00810

Ao compararmos as médias e medianas entre o óleo e o controle observou-se significância apenas nas 120hs de observação e o valor do P foi de 0,01854, quando se comparou esses dois tratamentos pode-se relatar que não houve tendência suficientemente para se concluir que há diferenças significativas entre os tratamentos (tabela 8).

Tabela 8: Comparação de médias, medianas e desvios-padrão para os tratamentos Óleo e grupo Controle, com análise pelo teste de Mann-Whitney

Horas	Óleo			Controle			Mann-Whitney p-Valor
	Média	Mediana	SD	Média	Mediana	SD	
0	2910,00	2700,00	2069,06	1350,00	600,00	1662,83	0,06202
48	193300,00	46500,00	250251,67	1270700,00	405000,00	1881421,57	0,22630
120	455240,00	303000,00	573368,59	169440,00	31850,00	279404,46	0,01854
168	337500,00	193500,00	506109,18	337025,00	105000,00	456258,49	0,52884
216	584777,80	366000,00	682972,25	436370,00	227250,00	731860,58	0,90482
264	855955,00	55050,00	1372064,43	2269160,00	318750,00	3612776,79	0,14031

SD: desvio-padrão

Quanto a efetividade, todos os tratamentos foram bons, inclusive o tratamento controle (Tabela 9). O tratamento utilizando óleo mostrou ser efetivo estatisticamente e semelhante ao tratamento com Vancomicina (Tabela 7). Ambos apresentaram resultados de eliminação dos microrganismos superiores aos observados no tratamento controle no decorrer de todo o experimento.

Tabela 9: Teste de Friedman para detecção de efetividade de tratamentos

Teste de Friedman			
Tratamento	Estatística χ^2	DF	p-Valor
Óleo	21,783	5	0,001
Vancomicina	17,974	5	0,003
Controle	25,6	5	< 0,0001

5 PRODUTO

Neste trabalho foi desenvolvida uma formulação a base de *Cymbopogon citratus*, e ela mostrou eficiência no combate aos microrganismos testados. O projeto traz desafios para que novos estudos sejam realizados no sentido de se observar a segurança e a qualidade do manipulado que foi estudado. Também devem ser realizados em seres humanos com o objetivo de conhecer e determinar a real eficácia desse produto em condições clínicas.

Baseado nos resultados preliminares desse trabalho os autores decidiram por dar início ao pedido de patente da ideia aqui estudada com a finalidade de levarem adiante os conhecimentos prévios adquiridos. Buscando futuramente um produto tópico na forma de gel ou pomada.

6 APLICABILIDADE

A menor concentração mínima inibitória (CIM) conseguida neste estudo foi de 0,3339 mg/mL e inibiu em 88,00% as cepas de *S. aureus* e 93,90% de inibição para os estafilococos não aureus. Os resultados obtidos estão em acordo com os de vários outros trabalhos in vitro, em que testaram o capim cidrão e a sua eficiência inibitória. Almeida *et al.*, (2013) trabalharam com o óleo extraído de plantas coletadas no estado de São Paulo e observaram a eficácia do óleo para vários microrganismos com uma taxa CIM de 0,25% que chegou a inibir até 80% das estirpes de *S. aureus* e numa concentração de 0,125% inibiu até 60% das estirpes de *S. epidermidis*. Para *S. mutans*, a concentração de 0,25% de óleo essencial de *C. citratus* inibiu 50% das estirpes estudadas no trabalho. Ao final desse experimento foi observado por seus autores que o óleo essencial apresentou atividade bacteriostática, fungistático e microbicida em todas as estirpes de *Staphylococcus* spp., *S. mutans* e espécies de *Candida*. Eles também relataram que mais estudos farmacológicos e de toxicidade são necessários para ajudar a entender a ação in vitro do óleo essencial da planta.

Em outra pesquisa realizada em Angola, SOARES *et al.*, (2013) obtiveram um resultado semelhante ao obtido neste trabalho, com a ressalva de que eles trabalharam com um número menor de microrganismos, apenas três cepas de *S. aureus* e três de *S. epidermidis*, isolados do hospital de Braga em Portugal. Eles testaram a sensibilidade desses microrganismos ao antibiótico Vancomicina e observaram o insucesso no controle das cepas de *S. epidermidis*. Outros antibióticos como a Penicilina, Meticilina e o composto de Ac. clavulânico e Amoxicilina também foram ineficientes por um ou mais dos microrganismos testados. Foi observado também poder antibacteriano do óleo contra estirpes multirresistentes de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* e *Candida* sp.

Na Nigéria extratos de plantas medicinais de *C. citratus* e de outras duas plantas foram testados quanto à capacidade para controlar *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*. O estudo destacou que existem propriedades no extrato de *C. citratus* que inibiu os três agentes patogênicos (OKYGBO, *et al.*, 2008). O óleo essencial dessa planta também demonstrou bons resultados contra uma gama diversificada de microrganismos como

Bacillus cereus, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella choleraesuis* entre outros (NAIK *et al.*, 2010).

Um grande número de microrganismo apresentou resistência e sensibilidade variável aos antibióticos estudados, com a exceção da Vancomicina nos recém-nascidos do Hospital Samuel Libânio (HCSL). Essa constatação foi de encontro a um importante problema de saúde em todo o mundo, que é a resistência bacteriana aos antibióticos, em particular aos *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* resistente à Vancomicina (VRSA), *Enterococcus* resistente à Vancomicina (VRE), a *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* e *Enterobacter* produtoras de espectro estendido β -lactamase (ESBL). Em contrapartida, foi verificado que na UTIN e berçários do HCSL ainda não foi constatado e nem relatado casos de resistência ao antibiótico Vancomicina por *Staphylococcus aureus*, situação já bastante descrita como realidade de alguns hospitais do Brasil (SANTOS, *et al.*, 2007) e do mundo (BADDOUR, *et al.*, 2006; TIWARI e SEN, 2006). Porém, a presença de MRSA no HCSL tem sido motivo de preocupação dos profissionais de saúde que lá trabalham.

O resultado de inibição da microbiota hospitalar (UTIN e berçário) pelo óleo do capim cidrão foi um resultado de considerável relevância no combate aos microrganismos do Hospital Samuel Libânio que já estão resistentes aos antibióticos Ciprofloxacina, Oxacilina, Eritromicina, Gentamicina e Clindamicina. Na média geral o halo de inibição gerado pelo óleo da planta foi superior ao da Vancomicina, o que retrata que os microrganismos estudados estão mais sensíveis ao óleo do que ao antibiótico, nos testes *in vitro*. Trabalhos descrevendo sobre a utilização da planta *C. citratus* combatendo *S. aureus* e não aureus não é comum de serem encontrados pelo menos nas bases de buscas relacionadas à saúde. Um resultado interessante e com uma aplicação parecido ao estudo conduzido neste trabalho foi o de MAYAUD *et al.* (2008) que trabalharam testando 13 óleos essenciais e dentre eles o capim cidrão (foi descrito como Lemongrass), *Eucalyptus* sp. e a árvore do chá em 65 estirpes bacterianas, sendo 26 ATCC e 39 clínicas. Dessas 34 estirpes apresentavam baixo nível de resistência aos antibióticos. Os autores fizeram a determinação da atividade bacteriostática e classificaram em ordem crescente de ação, sendo os mais eficientes os aldeídos e monoterpenos. Óxidos e hidrocarbonetos apresentaram resultados inferior, mas bem interessante. O óleo de capim cidrão pertence ao grupo dos terpenos. Em geral, os óleos essenciais são mais eficazes contra as bactérias Gram-positivas, como já foi

demonstrado por outros autores em outros trabalhos (SMITH-PALMER *et al.*, 1998; HAMMER *et al.*, 1999; PRABUSEENIVASAN *et al.*, 2006).

Os resultados obtidos para o *Eucalyptus* sp. assim como o óleo da *Melaleuca* sp. não devem ser menosprezados diante dos resultados obtidos pelo capim cidrão, pois ficou demonstrado que algumas cepas são sensíveis a esses óleos. FALCI *et al.*, (2015) descreveram que principal componente da planta *Melaleuca* sp. é o 1,8 cineol, mesma substância encontrada no *Eucalyptus* sp. com uma concentração um pouco maior (FALCI *et al.*, 2015).

O estudo de BOUKHATEM *et al.*, (2014) concluiu que o óleo essencial de capim cidrão pode ser utilizado como um descontaminante em hospitais devido a sua ação antimicrobiana observada no decorrer do seu experimento (BOUKHATEM *et al.*, 2014).

Em um estudo com óleo de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon martini*, *Eucalyptus globulus*, e outros óleos incorporados em nanopartículas de prata biogênicas foi demonstrado notável atividade antimicrobiana contra agentes patogênicos presentes na pele de animais. Esses óleos antimicrobianos foram usados na formulação de shampoo, sabão e pomada para dermatologia veterinária (BANSOD, *et al.*, 2015).

Em outro trabalho o capim cidrão foi comparado com outros 20 óleos derivados de plantas, ervas e frutas cítricas. Os maiores efeitos antialérgicos e anti-inflamatórios foram creditados quando em sua aplicação devido a sua capacidade de suprimir a imunoglobulina E (IgE,) induzida nas reações anafilática cutânea passiva em ratos e um edema inflamatório da orelha do rato induzido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato, respectivamente. A conclusão desse trabalho demonstrou que o capim cidrão e os seus componentes pode ser um candidato terapêutico para doenças alérgicas e inflamatórias (MIYOSHI, *et al.*, 2014).

Nas literaturas consultadas em base de dados voltadas para área da saúde não foi encontrado nenhum estudo que tenha relatado sobre o efeito de capim cidrão como antimicrobiano de *S. aureus* em ratos. Toda revisão realizada direcionou o estudo à abordagem de controle do microrganismo apenas nas condições *in vitro*. Estudos sobre a eficiência de *C. citratus* serão necessários para abrirem novas possibilidades para as pesquisas com essa planta, que apresenta potencial para a experimentação clínica e para o desenvolvimento de novos medicamentos. No entanto, as poucas informações com estudos em animais não são suficientes para que se possa realizar a avaliação do seu

potencial terapêutico em humanos. Há uma necessidade de mais pesquisas sobre o potencial de interação do óleo de *C. citratus* com outras drogas, além de outras verificações.

7 IMPACTO SOCIAL

Um dos principais impactos desse trabalho é demonstrar para os profissionais que trabalham nas UTIN e berçários o que eles já sabem, mas que ainda não foi realizado de maneira científica. A resistência dos microrganismos aos antibióticos se tornou comum, porém preocupante ao ponto das comunidades científicas debaterem o tema em congressos e tentarem adequar medidas destinadas a controlar o fenômeno. O cenário descrito neste trabalho sobre os microrganismos *Staphylococcus aureus* e não aureus em UTIN e berçário servirão para que medidas preventivas e orientações sejam realizadas nestes setores do hospital das Clínicas Samuel Libânio para evitar ou retardar o aparecimento de cepas mais resistentes que as atuais. Dessa forma, e de maneira científica este trabalho colabora com a comunidade ascendendo o alerta de vigilância de resistência aos microrganismos endêmicos do hospital Samuel Libânio, em especial aos encontrados nas UTIN e berçários e pertencentes ao gênero *Staphylococcus*.

Tendo por base os resultados dessa pesquisa é possível desenvolver juntamente com os profissionais das UTIN e berçários programas de educação para os profissionais de saúde e para o público visitante

A pesquisa também foi de grande relevância ao comprovar a eficiência do óleo *Cymbopogon citratus* como uma substância com elevado potencial de controle dos isolados de *S. aureus* e não aureus em condições laboratoriais. Mais estudos precisam ser realizados com esse óleo, mas existe a possibilidade de desenvolvimento de um produto que possa combater os microrganismos estudados e outros.

8 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram correlação dos testes laboratoriais com o teste experimental, sendo as cepas de *Staphylococcus* sp., sensíveis frente ao capim cidrão tanto in vitro como in vivo em ratos.

9 REFERENCIAS

Almeida RBA, Akisue, G, CArdoso, LML, Junqueira JC, Jorge AOC. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. on *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans* and *Candida* spp. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.4, p.474-482, 2013.

Alves LF. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. Revista Virtual de Química 2013 Jul; 5(3): 450-513.

Andrade D, Leopoldo VC, Haas VJ. Ocorrência de bactérias multirresistentes em um centro de Terapia intensiva de Hospital brasileiro de emergências. Rev. bras. ter. intensiva, São Paulo, v. 18, n. 1, Mar. 2006.

Arantes T, Paixão GOD, Silva MD, Castro CSA. Avaliação da colonização e perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* em amostras de secreção nasal de profissionais de enfermagem. Rev Bras Farm 2013 Fev; 94(1): 30-34.

Akinnibosun FI, Akinnibosun HA, Ibeh IN, Osaghaef. Antibacterial activity of *Phyllanthusamarus* Schum. And Thonn on five vegetative organisms. Plant Archive,8(2): 563-568, 2008.

Atzingen DANCV, Gagnani A, Veiga DF, Abla LEF, Cardoso LLF, Mendonça ARA, Ferreira LM. Unripe *Musa sapientum* peel in the healing of surgical wounds in rats. Acta Cir Bras 2013 Jan; 28(1): 33-38.

Baddour MM, Abuelkheir MM, FatanI AJ. Trends in antibiotic susceptibility patterns and epidemiology of MRSA isolates from several hospitals in Riyadh, Saudi Arabia. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, v. 5, n. 1, p. 1, 2006.

Bansod G, Raval N, Pisharoty N. Implementation of a new lightweight encryption design for embedded security. Information Forensics and Security, IEEE Transactions on, v. 10, n. 1, p. 142-151, 2015.

Boukhatem MN, Kameli A, Ferhat MA, Saidi F, Mekamia M. Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. Libyan Journal of Medicine, v. 8, n. 1, 2014.

Cardoso MG, Gavilanes ML, Marques MCS, Shan AYKV, Santos BR, oliveira ACB, Bertolucci SKV, Pinto APS. Óleos Essenciais. Boletim Técnico – Série Extensão, 8(58): 1-42, 2000.

Carson CF, et al. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. Clin Microbiol Rev. 2006; 19:50–62.

Carvalho CE, Berezin EN, Pistelli IP, Mímica L, Cardoso MRA. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. *J Pediatr*, v. 81, n. 1, p. 29-33, 2005.

De Siqueira Mota V, Turrini RNT, De Brito PV. Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, v. 49, n. 2, p. 216-220, 2015.

Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, *et al.* Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis*. 2001;32 Suppl 2:S114- 32.

Falci SPP *et al.* Antimicrobial activity of *Melaleuca* sp. oil against clinical isolates of antibiotics resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 30, n. 6, p. 401-406, 2015.

Ferreira AM, Andrade D, Rigotti MA, Ferreira MVF. Condições de limpeza de superfícies próximas ao paciente, em uma unidade de terapia intensiva. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 19, n. 3, p. 557-564, 2011.

Goldenberg RL, Guhane JF, Lams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *The lancet*, v. 371, n. 9606, p. 75-84, 2008.

Guimarães AC, Donalizio MR, Santiago THR, Freire JB. Óbitos associados à infecção hospitalar, ocorridos em um hospital geral de Sumaré-SP, Brasil. *Rev Bras Enferm* 2011 Set-Out; 64(5): 864-69.

Guimarães LGL, Cardoso MG, Sousa PE, Andrade G, Vieira SS. "Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf)." *Quim Nova* 31 (2008): 1476-1480.

Hammer KA, Carson C F, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, v. 86, n. 6, p. 985-990, 1999.

Hill KD, Johnson LAJ. Systematic studies in the eucalypts. 7. A revision of the bloodwoods, genus *Corymbia* (Myrtaceae). *Telopea*, v. 6 (2-3), p. 185-504, 1995.

Howson JM, Cooper JD, Smyth DJ, Walker NM, Stevens H, She JX, Eisenbarth GS, Rewers M, Todd JA, Akolkar B. *et al.* Evidence of gene-gene interaction and age-at-diagnosis effects in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2012;61(11):3012–3017.

Lang G, Buchbauer G. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. *A review Flavour Fragr. J*. 2012 Jan (1); 27: 13-39.

Lima MFP, Borges MA, Parente RS, Victória Júnior RC, De Oliveira, ME. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. *Revista UNINGÁ Review*. Vol. 21, n.1, pp.32-39, 2015.

Lisboa T, Faria M, Hoher JA, Borges LAA, Gómez J, Schifelhain L, et al. Prevalência de infecção nosocomial em Unidades de Terapia Intensiva do Rio Grande do Sul. *Rev Bras Ter Intensiva* 2007 Out-Dez; 19(4): 414-20.

Manvitha K, Bidya B. Review on pharmacological activity of *Cymbopogon citratus*. *prevent*, v. 6, p. 7, 2014.

Martinazzo AP, Melo EC, Correa PC. and Santos, R.H.S.. Modelagem matemática e parâmetros qualitativos da secagem de folhas de capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf]. *Rev. bras. plantas med.* [online]. 2010, vol.12, n.4, pp. 488-498. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722010000400013>.

Mayaud L, Carricajo A, Zhiri A, Aubert G. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. *Letters in applied microbiology*, v. 47, n. 3, p. 167-173, 2008.

Miyoshi N, Shirai TA cellular network model with Ginibre configured base stations. *Advances in Applied Probability*, v. 46, n. 3, p. 832-845, 2014.

Mussi-Pinhata MM, Nascimento SD. Neonatal nosocomial infections. *J Pediatr (RIO)* 2001;77 (Supl. 1): S81-S96.

Naik, MI,. Fomda, BA, Jaykumar, E, Bhat, JA. “Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias,” *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, vol. 3, no. 7, pp. 535–538, 2010.

Okigbo RN, Mmeka EC. Antimicrobial Effects of Three Tropical Plant Extracts on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2008; 5(3): 226–229. PMID: PMC2816559.

Pereira EPL, Cunha MLRSC. Avaliação da colonização nasal por *Staphylococcus* spp resistente à oxacilina em alunos de enfermagem. *J Bras Patol Med Lab* 2009 Out; 45(5): 361-69.

Pereira, Vânia PR. Avaliação da actividade antimicrobiana de extractos e óleos essenciais de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) em isolados do tracto respiratório humano. 2014.

Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC complementary and alternative medicine*, v. 6, n. 1, p. 1, 2006.

Ratti RP, Sousa CP. *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2009; 30(2): 1-8.

Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso I F, Rodrigues CR, Castro H C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. J. Bras. Patol. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. n. 6. Dec 2007.

Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letters in applied microbiology, v. 26, n. 2, p. 118-122, 1998.

Soares MO, Vinha FA, Barreira FVP, Coutinho F, Gonçalves SA, Oliveira MBPP, Pires PC, Castro A. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Angolan *Cymbopogon citratus* Essential Oil With a View to Its Utilization as Food Biopreservative. Journal of Agricultural Science; Vol. 5, No. 7; 2013.

Tiwari HK, Sen MR. Emergence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. BMC Infect Dis, v. 6, n. 156, 2006.

10 ANEXOS

10.1 Anexo I - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVÁS

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS DR. JOSÉ ANTÔNIO
GARCIA COUTINHO -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ação antibacteriana in vitro de fitoterápicos sobre *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella* sp. isolados de cateter central de inserção periférica e pele de recém-nascidos

Pesquisador: João Batista de Oliveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 35553214.4.0000.5102

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAÍ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 810.001

Data da Relatoria: 26/09/2014

Apresentação do Projeto:

1. INTRODUÇÃO O cateter venoso central de inserção periférica (PICC) é um dispositivo intravenoso flexível, de material bioestável e biocompatível como silicone, polietileno ou poliuretano. 1,2A passagem de PICC é um processo de alta complexidade técnica realizado por enfermeiros e médicos. O PICC tem sido usado em neonatologia, pediatria, terapia intensiva e oncologia para a administração de fluidos e medicamentos que não podem ser infundidos em veias periféricas diretamente na circulação central 3. As indicações para seu uso incluem as terapias de duração prolongada (acima de uma semana); administração de nutrição parenteral com concentração de dextrose maior que 10%, medicamentos vesicantes, irritantes, drogas vasoativas, antibióticas e antineoplásicos, hemoderivados e medida de pressão venosa central 3,4,5. Já como contra indicações referem-se a administração de grandes volumes em bolo, lesões cutâneas, infecção no local da punção, trombose venosa, cateteres com diâmetro menor que 3.8 French (Fr) e, hemodiálise 2,3,6 O PICC apresenta como vantagens a redução das múltiplas punções venosas, ser inserido por enfermeiros e à beira do leito, uma via confiável para administração de antibióticos e nutrição parenteral, e ainda menor risco de contaminação 7. Além disso, pode eliminar complicações como pneumotórax, hemotórax

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470

Bairro: Campus Fátima I **CEP:** 37.550-000

UF: MG **Município:** POUSO ALEGRE

Telefone: (35)3449-2199 **Fax:** (35)3449-2300 **E-mail:** pesquisa@univas.edu.br

Continuação do Parecer: 810.001

e ser de menor custo, quando comparado com cateteres centrais inseridos cirurgicamente. Por outro lado, apresenta como desvantagens o treinamento especial para inserção do dispositivo, necessidade de radiografia para localização da ponta de cateter, além de requerer acesso em veias calibrosas e íntegras 2,3. Apesar das vantagens de seu uso, há riscos associados, dentre eles a infecção de corrente sanguínea relacionada a cateter (ICSRC) 8,9,10,11. A maioria das ICSRC é ocasionada por microrganismos da microbiota cutânea, pela contaminação do local de inserção do cateter, por infusão de soluções intravenosas contaminadas, pelas conexões do dispositivo, ou por via hematogênica e pelo contato direto da equipe. 12 A pele do recém-nascido é composta pela epiderme, a derme e o subcutâneo. A epiderme é subdividida em estrato córneo e camada basal 13. Dentre as funções da pele, a mais importante é agir como barreira entre o meio interno e o ambiente, prevenindo a desidratação através da perda de água corporal, o envenenamento por substâncias químicas e a infecção sistêmica através da invasão de microrganismos da superfície da pele, a termorregulação e sensação tátil, além de proteção contra traumas e radiação ultravioleta 14. A função desta barreira é realizada pelo estrato córneo que se torna maduro funcional entre 32 e 34 semanas de idade gestacional 15,16. Em bebês a termo, o estrato córneo é composto por 10 a 20 camadas, que proporciona uma barreira contra toxinas e microrganismos e retém calor e água 17. Entretanto, a pele do recém-nascido pré-termo, com idade gestacional inferior a 30 semanas, pode ter apenas duas ou três camadas de estrato córneo e com menos de 24 semanas de idade gestacional pode não haver estrato córneo 17. O pH ácido da pele de adulto tem sido associado ao decréscimo da colonização estafilocócica 18,19. Porém, a pele do recém-nascido possui pH neutro 20,21,22, adquirindo uma tendência para acidez entre o terceiro e o quarto dia de vida e tornando-se ácido durante a primeira semana de vida, tanto no recém-nascido a termo, como no pré-termo 23,24. A estabilização do pH similar ao dos adultos ocorre dentro do primeiro mês de vida 22,25, com valores em torno de cinco 26. Assim, a maturação do estrato, que ocorre tardiamente no desenvolvimento fetal, gera uma competente barreira cutânea permeável, que proporciona defesa contra agressões do ambiente externo 20. A colonização da pele pode ser definida como a presença de microrganismos, com crescimento e multiplicação, mas sem qualquer expressão clínica ou reação imune 27,28. A presença da flora normal protege a pele contra potenciais patógenos, por ajudar na manutenção do equilíbrio ácido normal. Desta forma infecções de pele ocorrem quando o

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470
Bairro: Campus Fátima I CEP: 37.550-000
UF: MG Município: POUSO ALEGRE
Telefone: (35)3449-2199 Fax: (35)3449-2300 E-mail: pesquisa@univas.edu.br

Continuação do Parecer: 010.001

equilíbrio entre a flora normal e os patógenos são interrompidos, como quando ocorrem lesões 29. A colonização ocorre naturalmente durante e depois do nascimento e pode resultar do contato com microorganismos exógenos associados com seres vivos ou com objetos inanimados. São exemplos de bactérias normalmente encontradas na pele humana: Staphylococcus, Micrococcus, Neisseria, Peptococcus, Corynebacterium, Streptococcus e Acinetobacter e a maioria das pessoas carrega no mínimo cinco desses gêneros como flora normal 30. A pele do recém-nascido é sensível ao ambiente quando a criança nasce 30. A superfície corporal do neonato torna-se rapidamente colonizada com microorganismos prevalentes no meio ambiente 29. A colonização pode ocorrer muito tempo ou imediatamente antes da infecção, porém representa um grande papel no desenvolvimento da infecção nosocomial 27. A maioria dos neonatos saudáveis permanecem pouco

Introdução:
Hipótese:

Recém-nascidos com mais de 30 semanas de idade gestacional podem permanecer um determinado período de tempo internados em UTIN e berçário e necessitar de acesso venoso, podendo ser periférico ou central, para infusão de fluidos, antibióticos, nutrição parenteral, drogas vasoativas, medicação vesicantes e quimioterápicos. Apesar das vantagens de seu uso, há riscos associados, dentre eles a infecção da corrente sanguínea relacionada a cateter (ICSRC), ocasionada por microorganismos da microbiota cutânea, pela contaminação do local de inserção do cateter, por infusão de soluções intravenosas contaminadas, pelas conexões do dispositivo, por via hematogênica, ou pelo contato direto da equipe. Desta forma, recém-nascidos internados em UTIN tendem a se tornar colonizados com flora hospitalar, que possui microorganismos resistentes a antibióticos, como, por exemplo, bactérias do grupo gram-negativas. Diversos estudos e ensaios clínicos mostram a ação antibacteriana exercida por vários óleos essenciais e sua eficácia clínica, quando comparados a controles. Os óleos essenciais do Eucalyptus globulus L e Melaleuca sp. possuem como princípio ativo cineol e terpinenol, respectivamente, responsáveis pela ação antisséptica, e vastamente descritos na literatura para o controle de diversos patógenos humanos. A indicação do uso de fitoterápicos na medicina humana não possui como objetivo substituir princípios ativos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção terapêutica dos profissionais de saúde, ofertando princípios ativos equivalentes, por vezes mais baratos, com espectro de ação mais adequado e menor efeito colateral.

Metodologia Proposta:

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470
Bairro: Campus Fátima I CEP: 37.550-000
UF: MG Município: POUSO ALEGRE
Telefone: (35)3449-2199 Fax: (35)3449-2300 E-mail: pesquisa@univas.edu.br

Continuação do Parecer: 510.001

1- Delineamento do estudo Trata-se de um estudo primário, observacional, analítico, prospectivo e longitudinal que, após análise e aprovação pelo

Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos da Universidade do Vale do Sapucaí (Univás), será realizado em 60 recém-nascidos, no Hospital das Clínicas Samuel Libânio (HCSL).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a ação antibacteriana in vitro dos óleos de Eucalyptus globulus e Melaleuca sp. sobre Staphylococcus aureus e Klebsiella sp. isolados de cateter central de inserção periférica e pele de recém-nascidos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Apesar das vantagens de seu uso, há riscos associados, dentre eles a infecção da corrente sanguínea relacionada a cateter (ICSRC), ocasionada por microrganismos da microbiota cutânea, pela contaminação do local de inserção do cateter, por infusão

de soluções intravenosas contaminadas,

pelas conexões do dispositivo, por via hematogênica, ou pelo contato direto da equipe.

Benefícios:

Prevenção sobre a ação antibacteriana;

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa muito relevante. Projeto bem escrito e fundamentado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

Recomendações:

Tudo ok.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Tudo ok.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470
Bairro: Campus Fátima I CEP: 37.550-000
UF: MG Município: POUSO ALEGRE
Telefone: (35)3449-2199 Fax: (35)3449-2300 E-mail: pesquisa@univas.edu.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS DR. JOSÉ ANTÔNIO
GARCIA COUTINHO -



Continuação do Parecer: 810.001

Considerações Finais a critério do CEP:

Os autores deverão apresentar ao CEP um relatório parcial e um final da pesquisa de acordo com o cronograma apresentado no projeto.

POUSO ALEGRE, 28 de Setembro de 2014

Assinado por:
Ronaldo Júlio Baganha
(Coordenador)

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470
Bairro: Campus Fátima I CEP: 37.550-000
UF: MG Município: POUSO ALEGRE
Telefone: (35)3449-2199 Fax: (35)3449-2300 E-mail: pesquisa@univas.edu.br

10.2 Anexo II - Aprovação do Comissão de Ética no Uso de Animais –
CEUA/UNIVÁS

UNIVÁS
UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

CONCEA
Conselho Nacional de Controle
de Experimentação Animal

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - UNIVÁS

PARECER CONSUBSTÂNCIADO

PROTOCOLO: 246/15

TÍTULO: "AÇÃO ANTIBACTERIANA *IN VIVO* DE FITOTERÁPICOS SOBRE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS *IN VITRO* EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL"

PESQUISADOR: JOÃO BATISTA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. MANOEL DE ARAÚJO TEIXEIRA
PROFa. DRa. ADRIANA R. A. MENDONÇA

A Comissão de Ética no Uso de Animais através de seu coordenador após avaliar o projeto de pesquisa PENDENTE CORRIGIDO acima descrito decidiu por ;

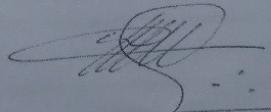
APROVAR o referido projeto.

Deverá o responsável e seus colaboradores informar antecipadamente a CEUA sobre qualquer mudança na evolução do projeto.

Fica não permitido a mudança no título do projeto avaliado.

Deverá ainda os responsáveis de confeccionar dois relatórios que deverão ser entregues Comissão de Ética no Uso de Animais que ficará a disposição do CONSELHO NACIONAL CONTROLE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA, do Ministério da Ciência Tecnologia Informação. Um Relatório parcial do desenvolvimento do projeto a ser entregue em JUNHO 2016, e um Relatório Final em DEZEMBRO DE 2016.

POUSO ALEGRE 02 DE DEZEMBRO DE 2015



Wellington Delfino
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Universidade do Vale do Sapucaí – CNPJ n.º 23.951.916/0002-03
Unidade Fátima – Av. Prefeito Tuany Toledo, 470 - Fátima I - Tel: (35) 3449-9269/ 9232 - e-mail: posgraduacao@univas.br

10.3 Anexo III – Padrões Interpretativos de Diâmetros do Halo de inibição e Pontos de corte equivalentes das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) para *Staphylococcus* spp.

Tabela 2C. Padrões Interpretativos de Diâmetros do Halo de inibição e Pontos de Corte Equivalentes das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) para *Staphylococcus* spp.

<p>Condições do Teste</p> <p>Meio: Ágar Mueller-Hinton</p> <p>Inóculo: Suspensão direta das colônias, equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland</p> <p>Incubação: 33° - 35° C (não exceder 35° C); ar ambiente, 16-18 horas; 24 horas para oxacilina, meticilina, nafcilina e vancomicina</p>	<p>Recomendações Mínimas de CQ: (Ver Tabela 3, para faixas de CQ aceitáveis.)</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923</p> <p><i>Escherichia coli</i> ATCC® 35218 (para combinações de β-lactâmico/inibidor de β-lactamase)</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® BAA-977 e <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® BAA-976 (para avaliar a qualidade do teste de indução de clindamicina)</p>
---	--

Comentários Gerais

- (1) Historicamente, a resistência às penicilinas penicilinase-estáveis (Ver Glossário I) tem sido denominada "resistência à meticilina", assim, os acrônimos MRSA (para *S. aureus* resistente a meticilina) ou MRS (para "estafilococos resistentes à meticilina") ainda são normalmente usados, embora a meticilina não seja mais o agente de escolha para testes ou tratamento. Neste documento, empregam-se vários termos para fazer referência a resistência a esses agentes (e.g., "MRS," "resistência a meticilina," ou "resistência à oxacilina").
- (2) Para *Staphylococcus aureus* e estafilococos coagulase-negativos sensíveis à oxacilina, os resultados para cefens parenterais e orais, as combinações β-lactâmico/inibidor de β-lactamase e os carbapenens, quando testados, devem ser relatados de acordo com os resultados gerados usando os critérios interpretativos rotineiros. Ver o comentário (3), para relatos de resultados de β-lactâmicos para cepas resistentes a oxacilina.
- (3) AVISO: No caso de *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina e estafilococos coagulase-negativos (MRS), outros agentes β-lactâmicos, ex., penicilinas, combinações de β-lactâmicos/inibidores de β-lactamase, cefens e carbapenens, podem parecer ativos *in vitro*, mas são clinicamente ineficazes. Os resultados para essas drogas devem ser relatados como resistentes, ou não devem ser relatados. Isso se deve ao fato de que a maioria dos casos documentados de infecções por MRS não tem respondido bem a terapia com β-lactâmicos, ou porque ainda não foram apresentados dados clínicos convincentes documentando a eficácia clínica desses agentes.
- (4) Detecção de resistência a oxacilina: Os testes para detecção do *mecA* ou para a proteína expressa por *mecA*, a proteína 2a ligadora de penicilina (PBP 2a, também denominada PBP2') são os métodos mais acurados para prever resistência à oxacilina e podem ser usados para confirmar os resultados do teste com discos de estafilococos isolados de infecções graves. Os isolados de estafilococos portadores do gene *mecA*, ou que produzem PBP 2a (o produto do gene *mecA*), devem ser reportados como resistentes à oxacilina. Os isolados não portadores de *mecA* ou que não produzem PBP 2a devem ser reportados como sensíveis à oxacilina. Devido à rara ocorrência de outros mecanismos de resistência que não a presença de *mecA*, se os testes de CIM forem realizados em acréscimo ao disco difusão, os isolados com MICs para oxacilina ≥ 4 µg/mL e *mecA*-negativos ou negativos para PBP 2a, devem ser relatados como resistentes à oxacilina.
- (5) Não se recomenda realizar testes rotineiros de isolados urinários de *S. saprophyticus*, porque as infecções respondem a concentrações alcançadas na urina pelos agentes antimicrobianos normalmente usados para tratar infecções agudas, não complicadas do trato urinário (ex., nitrofurantoína, sulfametoxazol-trimetoprim ou uma fluoroquinolona).
- (6) Para algumas combinações organismo/agente antimicrobiano, a ausência de cepas resistentes impede a definição de quaisquer categorias de resultados exceto "sensível." Para as cepas que produzem resultados sugestivos numa categoria de "não sensível", a identificação do organismo e os resultados dos testes de sensibilidade antimicrobiana devem ser confirmados. Os isolados devem ser armazenados e remetidos a um laboratório de referência, para confirmação dos resultados por meio de um método de diluição de referência do CLSI/NCCLS.

NOTA: As informações em **negrito** devem ser consideradas tentativas durante um ano.

Tabela 2C. (Continuação)

Teste/ Relatório do Grupo	Agente Antimicrobiano	Conteúdo do Disco	Diâmetro do Halo de Inibição, em mm			CIM Equivalente Pontos de Corte (µg/mL)		Comentários
			R	I	S	R	S	
PENICILINAS								
A	Penicilina	10 unidades	≤ 28	-	≥ 29	β-lactamase	≤ 0,12	(7) Os estafilococos sensíveis à penicilina também são sensíveis a outras penicilinas, combinações β-lactâmico/inibidor da β-lactamase, cefens e carbapenems aprovados pelo FDA para uso nas infecções por estafilococos. As cepas resistentes à penicilina, sensíveis à oxacilina são resistentes às penicilinas penicilinase-láveis, mas sensíveis a outras penicilinas penicilinase-estáveis, combinações β-lactâmico/inibidor da β-lactamase, cefens relevantes e carbapenems. Os estafilococos resistentes à oxacilina são resistentes a todos os antibióticos β-lactâmicos atualmente disponíveis. Assim, sensibilidade ou resistência a um amplo leque de antibióticos β-lactâmicos pode ser inferida testando apenas para penicilina e oxacilina. Não se recomenda realizar testes de rotina das outras penicilinas, combinações β-lactâmico/inibidor da β-lactamase, cefens relevantes e carbapenems. Ver comentário (3). (8) As cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes a penicilina que são sensíveis à oxacilina produzem β-lactamase, sendo preferível o teste do disco com 10 unidades de penicilina, ao invés de ampicilina. A penicilina deve ser usada para testar a sensibilidade de todas as penicilinas β-lactamase-láveis, como ampicilina, amoxicilina, azlocilina, carbenicilina, mezlocilina, piperacilina e ticarcilina. Igualmente, um teste positivo de β-lactamase (Ver M2-A8, Seção 8) prediz resistência a esses agentes. Os estafilococos resistentes a oxacilina devem ser relatados como resistentes ou não relatados.

Tabela 2C. (Continuação)

Teste/ Relatório do Grupo	Agente Antimicrobiano	Conteúdo do Disco	Diâmetro do Halo de inibição, mm inteiro Mais Próximo			CIM Equivalente Pontos de Corte (µg/mL)		Comentários
			R	I	S	R	S	
PENICILINAS (Continuação)								
A	Oxacilina	30 µg cefoxitina 1 µg oxacilina	≤ 19 ≤ 10	11-12	≥ 20 ≥ 13	≥ 4 (oxacilina) ≥ 4	≤ 2 ≤ 2	Para <i>S. aureus</i> e <i>S. lugdunensis</i> . Para <i>S. aureus</i> e <i>S. lugdunensis</i> . (9) Para <i>S. aureus</i> e <i>S. lugdunensis</i> , o teste com disco de cefoxitina é comparável ao teste de disco de oxacilina em termos de predir a resistência à oxacilina mediada por mecA, entretanto, a leitura do teste de disco de cefoxitina é mais fácil e, portanto, esse é o método de preferência. (10) Se forem obtidos resultados intermediários para <i>S. aureus</i> , recomenda-se realizar um teste para detecção de mecA ou PBP 2a, teste com disco de cefoxitina, teste de CIM de oxacilina, ou teste de triagem em ágar oxacilina-nacl. O resultado do teste alternativo deve ser relatado, ao invés do resultado intermediário. Para estafilococos coagulase-negativos, com exceção de <i>S. lugdunensis</i> . Para estafilococos coagulase-negativos, com exceção de <i>S. lugdunensis</i> . (11) O teste com disco de cefoxitina é o método de preferência para testar estafilococos coagulase-negativos. Embora os critérios interpretativos para oxacilina para os estafilococos coagulase-negativos estejam correlacionados com a presença ou ausência do gene codificador da resistência a meticilina/oxacilina (mecA) em <i>S. epidermidis</i> , esses critérios interpretativos podem superestimar resistência para outros estafilococos coagulase-negativos, como por ex., <i>S. saprophyticus</i> . O teste com disco de cefoxitina possui especificidade maior e sensibilidade equivalente ao teste de disco de oxacilina para os estafilococos coagulase-negativos. (12) Se uma penicilina penicilinase-estável for testada, a oxacilina será o agente de preferência e os resultados podem ser aplicados a outras penicilinas penicilinase-estáveis, cloxacilina, dicloxacilina e flucloxacilina. A oxacilina é mais resistente a degradação durante armazenamento, além de detectar mais facilmente heteroresistência às cepas de estafilococos. Os discos de cloxacilina não devem ser usados, porque podem não detectar o <i>S. aureus</i> resistente a oxacilina. A cefoxitina pode ser testada, no lugar da oxacilina. Ver os comentários (9), (10), (11) e (13). (13) Para todos os estafilococos, recomendamos o uso de luz transmitida (placa vista de contraluz) para verificar crescimento leve dentro do halo de inibição do disco de oxacilina; qualquer crescimento discernível dentro do halo de inibição é indicativo de resistência a oxacilina. Leia o disco de cefoxitina usando luz refletida.
		30 µg cefoxitina 1 µg oxacilina	≤ 24 ≤ 17		≥ 25 ≥ 18	≥ 0,5 (oxacilina) ≥ 0,5	≤ 0,25 ≤ 0,25	

Tabela 2C. (Continuação)

Teste/ Relatório do Grupo	Agente Antimicrobiano	Conteúdo do Disco	Diâmetro do Halo de Inibição, mm			CIM Equivalente Pontos de Corte (µg/mL)		Comentários
			R	I	S	R	S	
PENICILINAS (Continuação)								
O	Ampicilina	10 µg	≤ 20	-	≥ 29	β-lactamase	≤ 0,25	(14) Representantes de classe para ampicilina e amoxicilina. (15) Para estafilococos resistentes à oxacilina, relatar como resistente ou não relatar. (16) Os pontos de corte do disco difusão são para uso apenas em <i>S. aureus</i> . Ver o comentário (12). (17) Os pontos de corte do disco difusão são para uso apenas em <i>S. aureus</i> . Ver o comentário (12). (18) Para os estafilococos resistentes à oxacilina, relatar como resistente ou não relatar.
O	Metilcina	5 µg	≤ 9	10-13	≥ 14	≥ 16	≤ 8	
O	Nafcilina	1 µg	≤ 10	11-12	≥ 13	-	≤ 1	
COMBINAÇÕES β-LACTÂMICOINIBIDOR DE β-LACTAMASE								
O	Amoxicilina-ácido clavulânico	20/10 µg	≤ 19	-	≥ 20	≥ 84	≤ 4/2	Ver os comentários (3) e (7). (19) Para os estafilococos resistentes à oxacilina, relatar como resistente ou não relatar.
O	Ampicilina-sulbactam	10/10 µg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 32/16	≤ 8/4	
O	Piperacilina-bazobactam	100/10 µg	≤ 17	-	≥ 18	≥ 164	≤ 8/4	
O	Ticarcilina-ácido clavulânico	75/10 µg	≤ 22	-	≥ 23	≥ 162	≤ 8/2	
CEFENS (PARENTERAL) (Incluindo as cefalosporinas 1, II, III e IV. Favor reportar-se ao Glossário 1.)								
O	Cefamandola	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	Ver o comentário (7). (19) Para os estafilococos resistentes à oxacilina, relatar como resistente ou não relatar.
O	Cefazolina	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefepima	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefmetazola	30 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	Cefonicida	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefoperazona	75 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 64	≤ 16	
O	Cefotaxima	30 µg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
O	Cefotetan	30 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	Ceftazidima	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Ceftizoxima	30 µg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
O	Ceftriaxona	30 µg	≤ 13	14-20	≥ 21	≥ 64	≤ 8	
O	Cefuroxima sódica (parenteral)	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefalotina	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Moxalactam	30 µg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
CEFENS (ORAL)								
O	Cefaclor	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	Ver o comentário (7). (20) Para os estafilococos resistentes à oxacilina, relatar como resistente ou não relatar.
O	Cefdinir	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 24	≤ 1	
O	Cefpodoxima	10 µg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 32	≤ 2	
O	Cefprozil	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 32	≤ 4	
O	Loracarbef	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	

Tabela 2C. (Continuação)

Teste/ Relatório do Grupo	Agente Antimicrobiano	Conteúdo do Disco	Diâmetro do Halo de Inibição em mm			CIM Equivalente Pontos de Corte (µg/mL)		Comentários
			R	I	S	R	S	
CARBAPENEMS								
O	Ertapenem	10 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	Ver o comentário (7) (21) Para estafilococos resistentes à oxacilina, relatar como resistente ou não relatar.
O	Imipenem	10 µg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
O	Meropenem	10 µg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
GLICOPEPTÍDEOS								
B	Vancomicina	30 µg			≥ 15		≤ 4	(22) Todo isolado de estafilococo cujo diâmetro do halo da vancomicina for igual ou inferior a 14mm deve ser testado usando um método de CIM de referência. O teste de disco difusão não diferencia as cepas com sensibilidade reduzida à vancomicina (CIMs 4-5µg/mL) das cepas sensíveis (CIM faixa de 0,5-2µg/mL), mesmo quando incubadas por 24 horas. Além disso, as cepas de <i>S. aureus</i> resistentes à vancomicina (VRSA) (CIMs ≥ 32µg/mL) podem produzir apenas um crescimento sutil em torno do disco de vancomicina. Uma placa de triagem de ágar BHI com vancomicina contendo 6µg/mL de vancomicina, igual à usada para detectar enterococos resistentes à vancomicina (Ver M7, Tabela 2D), pode ser inoculada para aumentar a sensibilidade de detecção de cepas de <i>S. aureus</i> com resistência intermediária e cepas resistentes à vancomicina. Recomenda-se enviar quaisquer estafilococos com CIM elevada para vancomicina (≥ 4 µg/mL), a um laboratório de referência.
Inv.	Teicoplanina	30 µg	≤ 10	11-13	≥ 14	≥ 32	≤ 8	
LIPOPEPTÍDEOS								
B	Daptomicina	30 µg			≥ 16		≤ 1	Ver o comentário (6).
AMINOGLICOSÍDEOS								
O	Gentamicina	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
O	Amicacin	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
O	Canamicina	30 µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 25	≤ 6	
O	Netilmicina	30 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 32	≤ 12	
O	Tobramicina	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
MACROLÍDEOS								
B	Azitromicina ou claritromicina	15 µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	(23) Não relatar rotineiramente de isolados do trato urinário.
B	ou eritromicina	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 18	≥ 8	≤ 2	
B	ou Diritromicina	15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	≤ 0,5	
O	Diritromicina	15 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	
GETOLÍDEOS								
B	Tellitromicina	15 µg	≤ 16	19-21	≥ 22	≥ 4	≤ 1	

Tabela 2C. (Continuação)

Teste/ Relatório do Grupo	Agente Antimicrobiano	Conteúdo do Disco	Diâmetro do Halo de Inibição em mm			CIM Equivalente Pontos de Corte (µg/mL)		Comentários	
			R	I	S	R	S		
TETRACICLINAS									
C	Tetraciclina	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	(24) Organismos sensíveis a tetraciclina também são considerados sensíveis à doxiciclina e minociclina. Entretanto, alguns organismos intermediários resistentes à tetraciclina podem ser sensíveis à doxiciclina ou minociclina, ou a ambas.	
O	Doxiciclina	30 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4		
O	Minociclina	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	(25) <i>Staphylococcus</i> spp. podem desenvolver resistência durante terapia prolongada com quinolonas. Portanto, isolados inicialmente sensíveis podem se tornar resistentes três ou quatro dias após o início da terapia. Pode ser necessário testar isolados repetidos.	
FLUOROQUINOLONAS									
C	Ciprofloxacina ou levofloxacina ou ofloxacina	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1		
C		5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	4	≤ 1		
C		5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4	≤ 1		
C		5 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 2	≤ 0,5		
C	Gatifloxacina ou moxifloxacina	5 µg	≤ 20	21-23	≥ 24	≥ 2	≤ 0,5		
U	Lomefloxacina ou norfloxacina	10 µg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 8	≤ 2		
U	Enoxacina	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 16	≤ 4		
O	Enoxacina	10 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2		(26) Aprovada pelo FDA para <i>S. saprophyticus</i> e <i>S. epidermidis</i> (não <i>S. aureus</i>)
O	Grepfloxacina	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4	≤ 1		
O	Sparfloxacina	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 2	≤ 0,5		
Inv.	Fleroxacina	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2		
NITROFURANTOINAS									
U	Nitrofurantoina	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	≤ 32		

Tabela 2C. (Continuação)

Teste/ Relatório do Grupo	Agente Antimicrobiano	Conteúdo do Disco	Diâmetro da Halo de Inibição, em mm			CIM Equivalente Pontos de Corte (µg/mL)		Comentários
			R	I	S	R	S	
LICOSAMIDAS								
B	Clindamicina	2 µg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 4	≤ 0,5	(27) Os isolados de <i>S. aureus</i> e <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase-negativos resistentes aos MACROLÍDEOS podem apresentar resistência constitutiva ou induzível a clindamicina [metilação do rRNA 23S codificado pelo gene <i>erm</i> , também conhecida como resistência MLS ₂ (macrolídeo, lincosamida e estreptogramina tipo B)] ou podem ser resistentes apenas aos macrolídeos (mecanismo de efluxo codificado pelo gene <i>msrA</i>). A resistência induzível a clindamicina pode ser detectada usando um teste de aproximação de disco, colocando um disco de 2µg de clindamicina a uma distância de 15mm a 26mm da borda de um disco de eritromicina de 15µg, como parte de um teste de rotina de disco difusão. Após a incubação, os organismos que não apresentarem achatamento do halo de clindamicina devem ser relatados como sensíveis a clindamicina. Os organismos que apresentam achatamento do halo de clindamicina adjacente ao disco de eritromicina (chamada de Halo "D") indicam resistência induzível a clindamicina. Esses isolados devem ser relatados como "resistentes a clindamicina", podendo-se incluir um comentário no sentido de que "Presume-se que este isolado é resistente com base na detecção de resistência induzível a clindamicina. Ainda assim, a clindamicina poderá ser eficaz em alguns pacientes". Para as recomendações relativas a controle de qualidade/avaliação de qualidade, reportar-se à Tabela 3. Ver o comentário (23).
INHIBIDORES DA VIA METABÓLICA DO FOLATO								
B	Sulfametoxazol-Trimetoprim	23,75/ 1,25 µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 152/8	≤ 38/2	(28) O disco de sulfametoxazol pode ser usado para representar quaisquer dos preparados de sulfonamida atualmente disponíveis.
U	Sulfonamidas	250 ou 300 µg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 350	≤ 100	
U	Trimetoprim	5 µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
FENICÓIS								
C	Cloranfenicol	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	Ver o comentário (23).
ANSAMICINAS								
C	Rifampicina	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	≤ 1	(29) Rx: Rifampicina não deve ser usada isoladamente no tratamento.
ESTREPTOGRAMINAS								
C	Quinupristina-dalfopristina	15 µg	≤ 10	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
OXAZOLIDINONAS								
B	Linezolida	30 µg	-	-	≥ 21	-	≤ 4	Ver o comentário (6).

Tabela 2C. (Continuação)

Teste de Disco Difusão^a para Predição de Resistência dos Estafilococos mediada pelo *mecA*

Agente Antimicrobiano (Conteúdo do Disco)	Grupo de Organismos	Diâmetro do Halo de inibição mm		Comentários
		≤	≥	
Cefoxitina (30 µg)	<i>S. aureus</i> e <i>S. lugdunensis</i>	≤ 19	≥ 20	(30) <i>S. aureus</i> cuja halo de inibição de cefoxitina no teste de disco difusão for ≤ 19mm deve ser relatado como resistente a oxacilina, mas, no caso de halos de cefoxitina ≥ 20mm, deve ser relatado como sensível a oxacilina
	Estafilococos coagulase-negativos, exceto <i>S. lugdunensis</i>	≤ 24	≥ 25	(31) estafilococos coagulase-negativos com halos de inibição de cefoxitina no teste de disco difusão são ≤ 24mm devem ser relatados como resistentes a oxacilina. Aqueles cujos halos de inibição de cefoxitina são ≥ 25mm devem ser relatados como sensíveis a oxacilina

^a Usar as condições do teste de disco padrão e incubar durante 24 horas; entretanto, os resultados podem ser relatados após 18 horas de incubação, quando resistentes. **Ler o disco de cefoxitina usando luz refletida.**

10.4 Anexo IV – Informativo sobre o Tegaderm filme de cobertura da ferida



Descrição

O Tegaderm é um curativo estéril de filme transparente de poliuretano. Pode ser usado por mais tempo do que os curativos com gaze e fita, permanecendo por até 7 dias, reduzindo os gastos com materiais, como soluções, luvas, fitas e gaze e reduzindo substancialmente o risco de trauma de pele causado por remoções repetitivas de adesivo.

A diminuição de trocas de curativos significa maior conforto ao paciente.

- Barreira versátil à prova d'água
- Resistente à água: não é necessária a remoção para banhos ou outros procedimentos.
- Protege os profissionais de saúde contra exposição ao sangue e exsudato; Maior tempo de uso – acima de 96 horas.
- Barreira contra contaminantes externos – ajuda a prevenir a entrada de vírus e bactérias na ferida, ao mesmo tempo em que permite a entrada de oxigênio e a saída de vapor d'água permitindo que a pele respire normalmente.
- Adesão superior suave à pele.
- Fornece excelente fixação mesmo em condições adversas.

- Fácil de remover.
- Praticidade
- Aplicação rápida e fácil.
- Molda-se aos contornos do corpo, promovendo conforto ao paciente.
- Variedade de tamanhos para uso em todas as aplicações necessárias.

Indicações de uso:

- Úlceras de pressão de estágios I e II pouco exsudativas;
- Debridamento autolítico de feridas;
- Curativo secundário sobre gaze, alginato e hidrocolóide;
- Feridas cirúrgicas fechadas e limpas;
- Proteção da pele íntegra em pacientes com propensão para escaras;
- Em dermoabrasões, áreas doadoras de enxerto e feridas cirúrgicas limpas e não-drenantes;
- Fixação de cateteres.



Made in U.S.A. for
 3M Health Care
 2110 Gateway Blvd
 St. Paul, MN 55144 U.S.A.
 1-800-358-8987
 3M.com/Tegaderm

3M and Tegaderm are trademarks of 3M.
 Used under license in Canada.
 © 2014, 3M. All rights reserved.
 Issue Date: 2014-05
 34 0714-2511-0

3M Canada Company
 P.O. Box C.P. Box 12757
 London, Ontario, N6A 4T1
 1-800-361-3577
 3M.com/Tegaderm

3M et Tegaderm sont des marques de commerce de 3M,
 utilisées avec licence au Canada.
 © 2014, 3M. Tous droits réservés.

Health Care Division
 Carl Schmitt-DR 1
 41-422-8600
 Germany

Pansement film transparent 3M™ Tegaderm™ avec cadre de pose

1626, 1627, 1628, 1629, 1630, 1634, 1622W, 1623W, 1624W, 1626W, 9505W, 9506W

Pansement film transparent 3M™ Tegaderm™ HP avec cadre de pose

9519HP, 9534HP, 9536HP, 9543HP, 9545HP, 9546HP, 9548HP

Pansement film transparent 3M™ Tegaderm™ avec bords renforcés

1614, 1616

Pansement film transparent 3M™ Tegaderm™ IV avec bords renforcés

1610, 1633, 1635, 1650, 1655, 9525HP

Pansement film transparent 3M™ Tegaderm™ pour les premiers soins

1620, 1621



Description du produit

Le pansement Tegaderm™ film est composé d'un support fin de polyuréthane et d'un adhésif tépocolléglucosé sans latex. Le pansement Tegaderm™ film avec bords renforcés présente des arêtes et un pourtour complètement renforcé avec un support multi-externe afin de recevoir parfaitement cathéters et autres dispositifs médicaux. Ce pansement est perméable à l'oxygène et à la vapeur d'eau, permettant ainsi à la peau de respirer. Il est imperméable aux liquides, bactéries et virus. Un pansement intact protège le site contre les contaminations extérieures.

*Des tests in vitro montrent que le film transparent des pansements Tegaderm™ et Tegaderm™ HP forme une barrière étanche contre les virus de 27 nm de diamètre et plus, sous réserve que le pansement reste intact et ne fure pas.

Conseils d'utilisation

Le pansement Tegaderm™ film est indiqué pour couvrir et protéger les sites de ponction vasculaire et les plaies, pour maintenir un environnement humide propice à la cicatrisation ou pour faciliter un détachement autolytique. Il peut aussi être utilisé comme pansement secondaire, comme protection sur peau fragile, pour fixer des dispositifs médicaux sur la peau, pour prévenir des brûlures de premier et second degrés et pour la protection acrolés. Ne pas utiliser le pansement en remplacement de sutures et d'autres méthodes de fermeture primaire des plaies.

Précautions d'emploi

- Assurer une hémostase correcte de la plaie avant d'appliquer le pansement.
- Ne pas ôter le pansement pendant l'application car cela pourrait créer une lésion cutanée.
- S'assurer que la peau est propre, dégraissée de résidus de savon et collée et parfaitement sèche avant l'application du pansement. Retraitement après l'application d'un antiseptique afin d'éviter une irritation cutanée et de garantir une bonne adhérence.
- Ne utiliser le pansement sur une plaie infectée que sous la supervision d'un professionnel de santé.
- Les pansements antistatiques contenant du polyéthylène glycol risquent d'altérer la résistance des pansements transparents Tegaderm™ HP.
- Les pansements transparents Tegaderm™ ne doivent pas être redistribués par rayonnement gamma, faisceau d'électrons ou vapeur d'eau de condensation. Pour la durée de conservation, voir la date d'expiration sur l'emballage.

Explication des symboles



Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé ou ouvert.



Produit et emballage sans latex.

11 APÊNDICE

11.1 Apêndice I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, João Batista de Oliveira, médico pediatra do Hospital das Clínicas Samuel Libânio da Universidade do Vale do Sapucaí - UNIVÁS, Pouso Alegre, MG, realizarei uma pesquisa intitulada: Ação antibacteriana *in vitro* de fitoterápicos sobre *Staphylococcus aureus* isolados de pele de recém-nascidos em unidade de terapia intensiva, orientado pela Professora Dr^a Maria José Azevedo de Brito Rocha, com o objetivo de Avaliar a ação antibacteriana *in vitro* dos óleos de *Eucalyptus globulus* e *Melaleuca sp.* sobre *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella sp.* isolados de cateter central de inserção periférica e pele de recém-nascidos.

A realização deste estudo permitirá a avaliação da ação antibacteriana dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus L* e *Melaleuca sp* sobre *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella sp* de cateter central de inserção periférica (PICC) e pele de recém-nascidos, possibilitando, assim, a análise dessa possível ferramenta profilática e terapêutica, com o potencial de aumentar as opções terapêuticas dos profissionais da saúde.

O trabalho será realizado a partir da coleta de material da pele e do PICC, em recém-nascidos, posteriormente cultivado e testado em laboratório, avaliando-se, assim a ação antimicrobiana dos óleos supracitados.

Para a realização desta pesquisa, o paciente não será identificado pelo seu nome. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum dos pacientes. Desta forma, será mantido o anonimato, assim como o sigilo das informações obtidas e será respeitada a sua privacidade e a livre decisão de querer ou não participar do estudo, podendo retirar-se dele em qualquer momento, bastando para isso expressar a sua vontade direta, ou indiretamente, através de seu responsável legal.

Tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, ou de resultados que sejam do conhecimento do pesquisador.

Não há benefício direto para o participante. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo; também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

A realização deste estudo não trará consequências físicas ou psicológicas, podendo apenas trazer, não necessariamente, algum desconforto mediante a avaliação da pele, ou breves entrevistas quando adequadas, porém serão tomados todos os cuidados para que isso não ocorra.

Em caso de dúvidas e se quiser ser melhor informado(a) poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências da Saúde “Dr. José Antônio Garcia Coutinho”, que é o órgão que irá controlar a pesquisa do ponto de vista ético. O CEP funciona de segunda a sexta feira e o seu telefone é (35) 3449 9271, Pouso Alegre, MG.

O senhor (a) concorda que seu filho (a) participe deste estudo? Em caso afirmativo, deverá ler a “Declaração”, que se segue abaixo, assinando-a no local próprio ou imprimindo a impressão digital do polegar direito.

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que fui informado (a) sobre esta pesquisa, estou ciente dos seus objetivos e relevância, assim como me foram retirados todas as dúvidas.

Mediante isto, concordo livremente em participar dela, fornecendo as informações necessárias. Estou também ciente que, se quiser e em qualquer momento, poderei retirar o meu consentimento deste estudo.

Para tanto, lavro minha assinatura (impressão digital do polegar direito) em duas vias deste documento, ficando uma delas comigo e a outra com o pesquisador (a).

Pouso Alegre, ____ , _____ 20 _____

Participante: _____

Assinatura: _____

Pesquisador(a): _____

Assinatura: _____

11.2 Apêndice II - Autorização de Instituições de Coparticipantes

Eu, João Batista de Oliveira, pesquisador responsável – mestrando do Programa de Mestrado Profissional em Ciências Aplicado à Saúde, solicito autorização de Vossa Senhoria para realização de uma Pesquisa nas dependências do Hospital das Clínicas Samuel Libânio – HCSL, no setor de Pediatria, O trabalho intitulado: “Ação antibacteriana *in vitro* de fitoterápicos sobre *Staphylococcus aureus* isolados de pele de recém-nascidos em unidade de terapia intensiva”, cujo objetivo é Avaliar a ação antibacteriana *in vitro* de óleos de fitoterápicos sobre *Staphylococcus aureus* isolados de pele de recém-nascidos em unidade de terapia intensiva.

As informações obtidas serão utilizadas para fins científicos e os participantes terão garantia do anonimato, obedecendo a Resolução n°. 466/12.

Félix Carlos Ocáriz Bazzano
Diretor Técnico
Hospital das Clínicas Samuel Libânio