



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PHMB COMO DESINFECTANTE E ANTI-SÉPTICO

Trabalho submetido por
Francisco Ribeiro Afonso
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2013



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PHMB COMO DESINFECTANTE E ANTI-SÉPTICO

Trabalho submetido por
Francisco Ribeiro Afonso
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Helena Barroso

Outubro de 2013

Agradecimentos:

Deixo o meu mais profundo agradecimento à Professora Helena Barroso pela sua disponibilidade e orientação.

A toda a comunidade científica pela compreensão, envio e disponibilização dos artigos tornando-se a base para esta monografia.

À cooperativa Egas Moniz, CRL pela disponibilidade e acessibilidade fornecida aquando da pesquisa bibliográfica.

A toda a equipe do Estádio Universitário de Lisboa (EUL) e Clube Naval do Funchal pela informação e demonstração de todo o sistema de tratamento de água de uma piscina de 50 e 25 metros, respectivamente.

À família e amigos pelo apoio incondicional que sempre mostraram.

RESUMO

Esta dissertação pretende dar a conhecer as propriedades anti-sépticas e desinfectantes da Polihexametileno biguanida (PHMB). Para tal foi efectuada uma revisão bibliográfica, denotando-se um ascendente no desenvolvimento deste tipo de compostos, resultado de uma forte necessidade de novas formulações no mercado. Esta, incitada principalmente pelo aparecimento de resistências a antibióticos existentes e pela elevada toxicidade que muitos dos compostos disponíveis apresentam.

Foi efectuada uma extensa caracterização da PHMB, incluindo-se as propriedades Físico-Químicas, assim como efeitos adversos e resistências por parte dos microrganismos. Devido ao grande número de áreas em que a PHMB tem sido utilizada, foram seleccionados os principais campos, destacando-se como qualidades anti-sépticas a acção no tratamento de feridas infectadas, infecções oculares e desinfecção das mãos. No que se refere à desinfecção, este trabalho sugere grande utilização na Indústria, nomeadamente têxtil, em meio Hospitalar e em meio aquático, exemplo das Piscinas e *Spas*.

No entanto, aquando da avaliação do uso da PHMB por Profissionais de Saúde e responsáveis pelo tratamento de água de Piscinas e *Spas* em Portugal, os resultados demonstraram um profundo desconhecimento do composto no nosso país.

Palavras-chave: PHMB, Caracterização, Desinfectante, Anti-séptico;

Abstract

This thesis aims at presenting the antiseptic and disinfectants properties of Polyhexamethylene Biguanide (PHMB). In order to accomplish such presentation, a literature review was done and it was noted an ascending in the development of this type of compounds, due to a strong need for new market formulations. Main reasons are the resistance to the existing biocides and the high toxicity many available compounds' present.

An extensive characterization of PHMB was carried out, including Physical and Chemical properties as well as adverse and resistance effects. Due to the large number of areas where the PHMB has been used, major antiseptic applications were selected,

such as action in the treatment of infected wounds, eye infections and hand hygiene in health care industry. With regards to disinfection, this research suggests widespread use in Industry, particularly textile, as well as in Hospital and aquatic environment, being pools and *Spas* the most prominent example.

However, when assessing the use of PHMB by Health Professionals and people responsible for Swimming Pools and *Spas* water treatment in Portugal, results disclosed a profound compound unawareness in our country.

Keywords: PHMB, Characterization, Disinfectant, Antiseptic;

Índice Remissivo

Índice de Figuras.....	8
Índice de Tabelas.....	9
1. Introdução Geral.....	10
1.1 Enquadramento.....	10
1.2 Clorhexidina e PHMB.....	12
1.3 Caracterização Físico-Química.....	15
1.4 Técnicas.....	20
1.5 Resistências.....	21
1.6 Efeitos Adversos.....	23
2. Uso como Anti-séptico.....	27
2.1 Acção Antiviral.....	28
2.2 Acção Antibacteriana.....	31
2.3 Acção Antifúngica.....	38
3. Uso como Desinfectante.....	41
3.1 Desinfectante Industrial.....	41
3.2 Desinfectante Hospitalar.....	45
3.3 Desinfectante de Piscinas e <i>Spas</i>	48
4. Casos Clínicos.....	52
5. Utilização em Portugal.....	62
6. Conclusão.....	65
7. Bibliografia.....	67

Índice de Figuras

Figura 1- Estrutura molecular da Clorohexidina.....	10
Figura 2 – Estrutura molecular do PHMB.....	11
Figura 3- Mecanismo de acção da PHMB.....	17
Figura 4- Demonstração da acção do Suprasorb X + PHMB TM em ferida infectada....	36
Figura 5- Tratamento com Suprasorb X + PHMB TM	36
Figura 6 – Ligação da molécula de PHMB ao grupo carboxílico da Celulose.....	43
Figura 7- Propagação directa e indirecta de Infecções Nosocomiais.....	46
Figura 8- Ilustração do processo evolutivo e tratamento de uma Queratite Infecciosa..	53
Figura 9- Imagem da primeira apresentação da paciente evidenciando sinais de infecção bacteriana, com elevado exsudado e tecido de granulação irregular, particularmente na porção superior.....	55
Figura 10- Imagem do final do tratamento com AMD Kendall TM	56
Figura 11- Aspecto da ferida após uma semana de tratamento com AMD Kendall TM ..	57
Figura 12- Aspecto da ferida com evidente infecção.....	58
Figura 13- Imagem ilustrativa do final do tratamento.....	58
Figura 14- Imagem ilustrativa do aspecto infeccioso da úlcera, anterior ao tratamento com Suprasorb X + PHMB TM	59
Figura 15- Imagem obtida após 14 dias de tratamento com Suprasorb TM X + PHMB..	60
Figura 16- Imagem da ferida anterior ao tratamento com Suprasorb TM X + PHMB....	61
Figura 17- Imagem da mesma ferida após tratamento com Suprasorb TM X + PHMB...	61
Figura 18 - Conhecimento da PHMB em Portugal entre os profissionais responsáveis pelo tratamento de água de Piscinas e Spas.....	63

Índice de Tabelas

Tabela 1- Vantagens da PHMB face à Clorohexidina..... 13

Tabela 2- Quadro resumo das propriedades Físico-Químicas da PHMB..... 18

Lista de abreviaturas

Sigla/acrónimo	Significado
Bacteriófagos MS2	Vírus RNA do Género <i>Levivirus</i>
CDs	Ciclodextrinas
CMI	Concentração Mínima Inibitória
EPA	Agência de Protecção Ambiental
EPC	Fosfatidilcolina da gema de ovo
HPV	Vírus do Papiloma Humano
IC 50	Mínima concentração capaz de inibir o crescimento em 50%
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NPs	Nanopartículas
O/W	Óleo em água
PEHMB	Polietileno Hexametileno Biguanida
PHMB	Polihexametileno Biguanida
RAM	Reacção adversa medicamentosa
SSI	Taxa de Infecção no local cirúrgico
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana

1. Introdução Geral

1.1. Enquadramento

O termo anti-séptico foi primeiramente utilizado no final do século XVIII por John Pringle, médico do exército Inglês, referindo-se a agentes que evitavam a putrefacção da pele. Ainda no mesmo século, Joseph Lister, um cirurgião Inglês realiza o primeiro tratamento anti-séptico em feridas. Assim sendo, começava uma nova era, considerando-se a profilaxia anti-séptica como um dos temas principais em cirurgia (Roth & Brill, 2010; Kramer et al., 2010).

Neste contexto, a primeira Biguanida foi descoberta em 1950, quando a Imperial Chemical Industries, Ltd., uma empresa sediada em Manchester, Inglaterra, pesquisava sobre agentes anti maláricos. Este composto dá pelo nome de Clorohexidina (figura 1). Quatro anos depois, surge a síntese da Polihexametileno-biguanida (PHMB) por intermédio de Rose e Swain (figura 2), composto cuja utilização foi limitada ao seu efeito desinfetante até à década de 80 (www.clorhexidinefacts.com ; O'Malley et al., 2006).

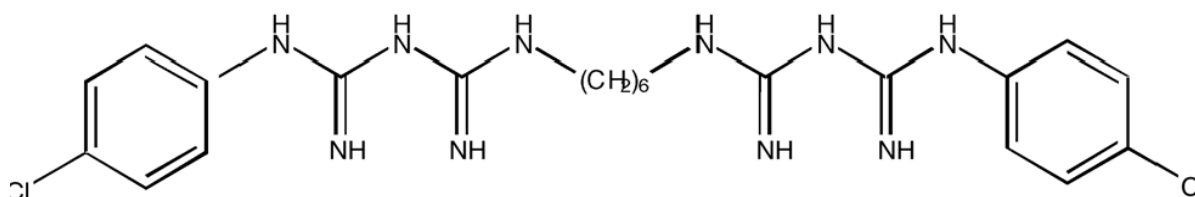


Figura 1- Estrutura molecular da Clorohexidina. Adaptado de (Abad-Villar et al., 2006).

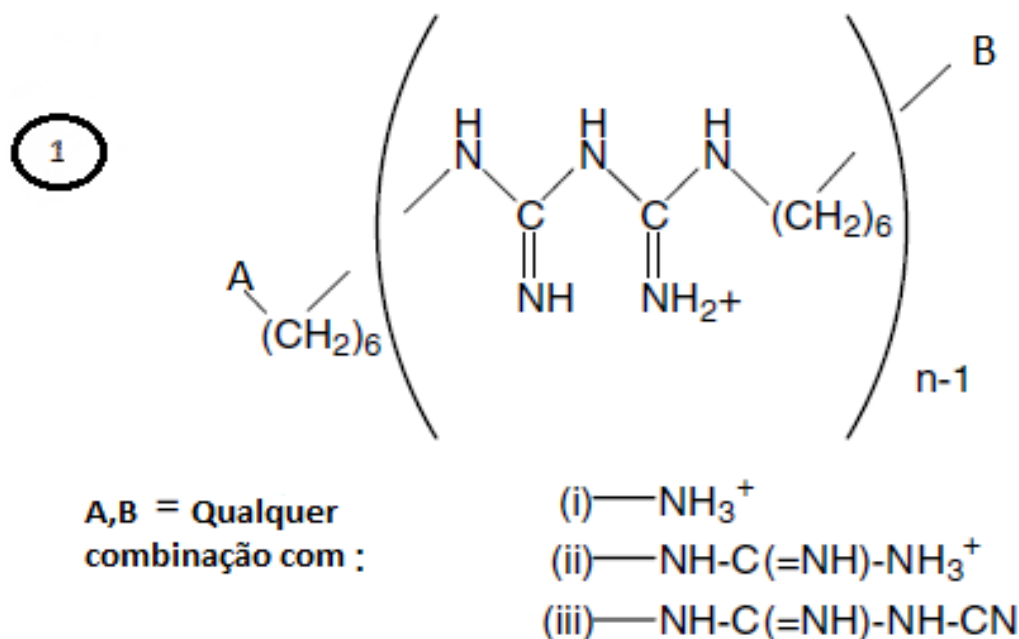


Figura 2 – Estrutura molecular da PHMB, contemplando os seus grupos terminais A e B, podendo estes ser (i)- grupo amina; (ii)- grupo guanidina; (iii)- grupo ciano-guanidina. Adaptado de (O'Malley et al., 2006).

O uso de produtos desinfetantes é crucial quando se pretende controlar uma infecção e/ou contaminação microbiológica do meio ambiente (Pinto et al., 2010a).

Em 1982, a PHMB foi primeiramente registada como substância activa nos Estados Unidos (Environmental protection Agency, 2004).

Em 1983, é organizado um simpósio com abordagem problemática aos efeitos adversos da iodopovidona (PVP-iodine), solução anti-séptica tópica, concluindo a inexistência de um composto com propriedade anti-sépticas semelhantes. Alternativas de outros grupos, como o caso dos antibióticos, não eram viáveis devido ao mercado fenómeno de resistência bacteriana (Gilliver, 2009).

Simultaneamente, surgiu a necessidade de desenvolvimento de um composto com o mesmo espectro antibacteriano mas com menores efeitos adversos. Rapidamente, Willenegger e Good, através de uma pesquisa e investigação intensas, considerando as propriedades anti-sépticas e baixa incidência de efeitos adversos da PHMB, decidiram adicioná-lo ao polietilenoglicol 4000, resolvendo o problema. Surgiu desta forma o

Lavasept™, aprovado como produto medicinal em 1991, na Suíça (Kramer et al., 2010; Roth & Brill, 2010).

Em 2004, e segundo dados da Environmental Protection Agency (EPA), existem dezassete produtos contendo como princípio activo a PHMB.

Actualmente, tem sido amplamente utilizado nas mais variadas áreas, desde as Indústrias Farmacêutica, Têxtil e Alimentar até à Medicina, onde não só é empregue como desinfetante de materiais e superfícies mas também como adjuvante terapêutico (Elsztein et al., 2011; Lucas, 2012; Network & Informatics, 2007; Pinto et al., 2010a; O'Malley et al., 2006).

1.2. Clorohexidina e PHMB

A clorohexidina é o composto desinfetante com maior utilização na cavidade oral, pois além de possuir um largo espectro de acção contra bactérias, tem a capacidade de se ligar tanto a tecidos moles como duros, possibilitando uma duração de acção prolongada e com maior intervalo entre administrações, o que se traduz em maior conforto para o utente. Adicionalmente, num estudo sobre elixires, foi demonstrada superioridade antimicrobiana da clorohexidina perante outros compostos, incluindo a PHMB (Nascimento et al., 2008; Irmgard Neumann, 2011). Actualmente, quase todas as marcas possuem elixires com princípio activo de clorohexidina disponíveis no mercado, exemplos disso são a Elgydium™, Colgate™ e Bexident™.

Como anteriormente descrito, estes dois desinfetantes pertencem ao grupo químico das biguanidas, possuindo em comum na sua estrutura, uma cadeia central composta por grupos com o mesmo nome assim como uma cadeia alquílica, diferenciando-se pelas cadeias terminais, responsáveis pela diferença tanto na actividade terapêutica como no perfil toxicológico. Esta estrutura confere-lhes elevada basicidade, apresentando-se sob a forma protonada a pH fisiológico (Abad-Villar et al., 2006; McBain, 2013).

Em termos de mecanismo de acção, os princípios são semelhantes, iniciando-se a acção com a ligação aos fosfolípidos externos da membrana citoplasmática, originando-

se desequilíbrio osmótico conducente com a ruptura da membrana e morte celular (Muangman et al., 2011).

Estes antimicrobianos caracterizam-se pelo seu largo espectro de acção, tanto em bactérias Gram positivo como Gram negativo, abrangendo *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). Para ambos os compostos, existem actualmente registos na literatura que suportam a sua actividade antiviral (Muangman et al., 2011; Gentile et al., 2012).

Tendo em conta a baixa incidência de Reacções Adversas Medicamentosas (RAM), subsequentes à elevada tolerabilidade a nível tecidual, mesmo em tecidos sensíveis como o ocular, seria expectável um crescente interesse na utilização de PHMB. Tal facto vem a confirmar-se, com maior predominância na acção anti-séptica contra *Acanthamoeba queratitis* (Abad-Villar et al., 2006). Segundo Lim e colaboradores (2008), estes agentes estão autorizados para produção e venda em Inglaterra.

Na tabela 1 são enumeradas as vantagens da utilização da PHMB relativamente à clorohexidina .

Tabela 1- Vantagens da PHMB face à Clorohexidina.

	<ul style="list-style-type: none"> • Actividade antimicrobiana com baixa alteração em presença de matéria orgânica, água dura e variação de pH (Lucas, 2012; Rowhani & Lagalante, 2007).
	<ul style="list-style-type: none"> • Formulação incolor e inodora (Franzin, 2010).
	<ul style="list-style-type: none"> • Maior eficácia no controle da infecção de doentes com queimaduras (Muangman et al., 2011).
	<ul style="list-style-type: none"> • Ao nível da Cavidade Oral, não provoca coloração nem gosto desagradável (Rosin et al., 2001).

PHMB	
	<ul style="list-style-type: none"> • Acção eficaz e mais rápida (Gao et al., 2011).
	<ul style="list-style-type: none"> • Melhor índice de biocompatibilidade (actividade antibacteriana relacionada com citotoxicidade) tanto para <i>S.aureus</i> como para <i>E.coli</i> (Gilliver, 2009).
	<ul style="list-style-type: none"> • Considerado o segundo anti-séptico com melhor Índice de Biocompatibilidade, entre os onze mais utilizados (Gilliver, 2009).
	<ul style="list-style-type: none"> • Ainda sem registo de resistências ao contrário da clorohexidina onde micobactérias, bactérias esporuladas e algumas bactérias Gram-positivo já foram referenciadas (McDonnell & Russell, 1999). •
	<ul style="list-style-type: none"> • Maior estabilidade de armazenamento (Lucas et al., 2009).
<ul style="list-style-type: none"> • Maior estabilidade térmica (Franzin, 2010). 	

A procura de mercado da PHMB tem vindo a crescer exponencialmente nos últimos anos, em parte devido às novas formas farmacêuticas disponíveis, entre estas a forma líquida, gel e dispositivos médicos antimicrobianos. Simultaneamente, a comunidade científica tem fornecido dados conducentes com a sua superioridade face a outros produtos como a prata, na prevenção e combate a infecções tecidulares (Gilliver, 2009).

A Infecção é, actualmente, uma grande preocupação clínica uma vez que conduz ao aumento da morbilidade, do tempo de hospitalização e dos custos de tratamento. Nesta matéria, os problemas mais sérios podem advir dos grandes níveis de toxicidade a que os pacientes estão expostos aquando do tratamento de infecções multirresistentes. Neste sentido, o uso de dispositivos médicos com propriedades antimicrobianas têm sido repetidamente reportados como eficazes na redução da infecção no local cirúrgico, e como tal, conseguem diminuir drasticamente os custos associados ao tratamento (W. R. Lee et al., 2004; Gilliver, 2009).

1.3. Caracterização Físico-Química

Segundo O'Malley, Collins e colaboradores (2006), a PHMB é um polímero caracterizado por repetição de grupos biguanida ligados a terminais que podem ser aminas, guanidinas ou ciano-guanidinas; as moléculas da cadeia principal, devido à sua elevada basicidade, são as responsáveis pela actividade antimicrobiana (Fumarola S., 2011; M. Ulmer et al., 2012).

Os compostos contendo por base polibiguanidas podem ser sintetizados utilizando uma panóplia de estratégias, sendo estas: adição de grupos terminais, nomeadamente aminas, guanidinas ou ciano-guanidinas; adulteração do campo electrostático ou natureza hidrofóbica; variação no número de grupos funcionais, provocando alterações ao nível do peso molecular, densidade e flexibilidade da molécula (Krebs et al., 2005).

No caso particular da PHMB, o processo mais utilizado consiste em adicionar grupos terminais. Primeiramente recorre-se a uma policondensação de dicianameto de sódio e hexametenodiamina, obtendo-se como produto da reacção o hexametileno

bicianoguanidina. Numa segunda fase faz-se reagir, sob forte agitação, o produto anteriormente referido com cloridrato de hexametilendiamina entre 160 e 185 °C durante 4h. No final deste processo, obtemos moléculas de PHMB com grande solubilidade em água (Krebs et al., 2005; Paula et al., 2011; M. Ulmer et al., 2012).

De acordo com Paula e colaboradores (2011), este composto apresenta um comportamento surfactante típico dado a sua estrutura anfifílica, isto é, possui na sua estrutura química uma parte polar ou hidrofílica e outra apolar ou hidrofóbica, sendo então capaz de promover uma interacção entre meios que apresentem polaridade diferente, como por exemplo a água e o óleo.

Os solventes mais comumente utilizados têm por base a água ou o álcool, pelo que um desinfectante que seja solúvel em ambos trará uma clara vantagem perante os seus concorrentes. A proporção dos dois componentes é fundamental para a estabilidade mecânica, pois sendo a água um agente plastificante conduz, em casos de desproporcionalidade favorecendo o solvente, a formulações auto-adesivas e higroscópicas (Paula et al., 2011).

Lucas (2012), suporta o anteriormente descrito ao afirmar que a PHMB sofre hidrólise em percentagem desprezável após 60 dias em contacto com água pura, e que 90 por cento do mesmo permanece quando em contacto com tampão fosfato, durante o mesmo período de tempo.

Outro factor conducente com o seu comportamento tensioactivo reside no seu baixo peso molecular, que segundo Elsztein e colaboradores (2011) e Allen e colaboradores (2004) delimita-se entre 400 e 8000 g/mol.

É um agente quimicamente estável, marcado pelo seu carácter catiónico (Pinto et al., 2010b; Paula et al., 2011; Network & Informatics, 2007). Dada esta característica, e com pH entre 4 e 10, este composto tem facilidade em ligar-se a superfícies com carga iónica negativa tais como a parede celular das bactérias (Elsztein et al., 2011).

Como resultado da atracção existente entre as cargas, positivas da PHMB e as negativas presentes na parede celular, ocorre ligação entre o composto em questão e os fosfatos dos fosfolípidos presentes no folheto exterior da membrana citoplasmática. Em resultado, ocorrem alterações na permeabilidade, principalmente aos iões K^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+} , levando conseqüentemente a um aumento da rigidez da célula bacteriana. O

processo continua até que a porção hidrófoba do agente antimicrobiano penetre na membrana citoplasmática e atinga o citoplasma, momento em que ocorre excreção do mesmo culminando na morte celular (figura 3) (Paula et al., 2011; Elsztein et al., 2011; Wei et al., 2009; Fumarola S., 2011; Rowhani & Lagalante, 2007; Pinto et al., 2010a; Finger et al., 2012; Gilliver, 2009).

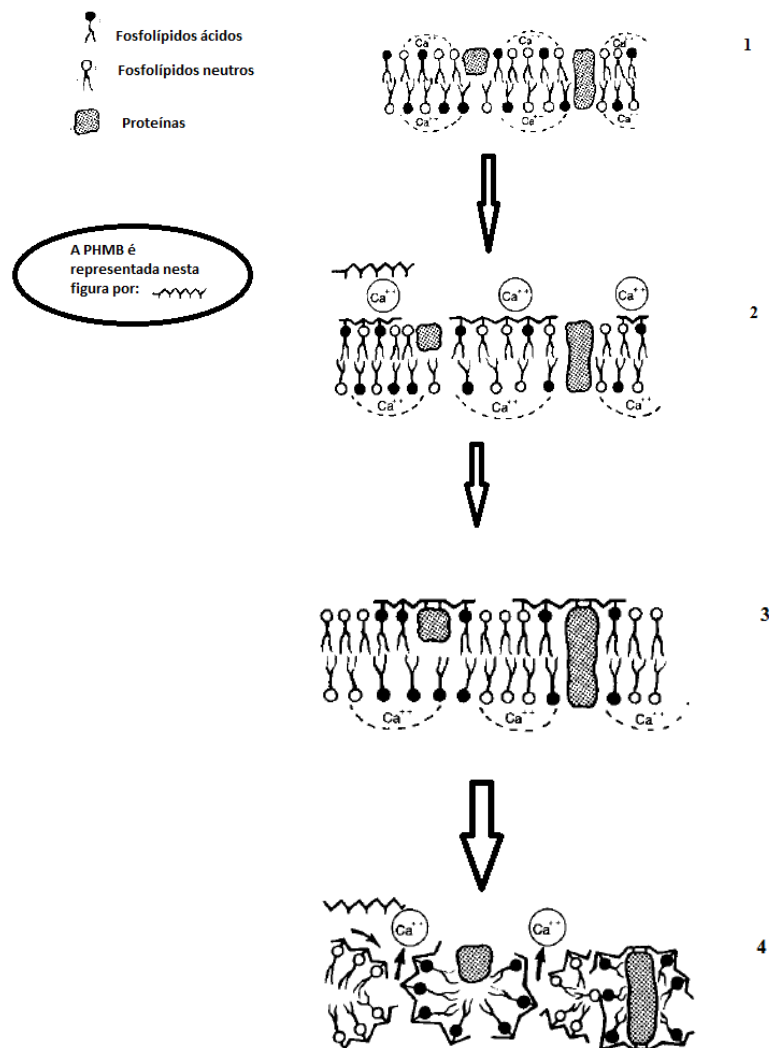


Figura 3- Mecanismo de acção da PHMB. 1) Ilustração da membrana plasmática bacteriana, segundo o modelo do mosaico fluído; 2) A PHMB ligada aos fosfolípidos, originando uma alteração estrutural; 3) Separação da camada de fosfolípidos, conseqüente da ligação; 4) Ruptura da membrana citoplasmática, com excreção do conteúdo celular; Adaptado de (Franzin, 2010).

Acredita-se então, que a base para uma acção antimicrobiana eficaz reside na adesão das moléculas de PHMB à membrana plasmática, assim como da especificidade

das interações deste com os fosfolípidos aniónicos e possivelmente com as proteínas e lipopolissacáridos existentes (Dilamian et al., 2013; Krebs et al., 2005). Bromberg e colaboradores (2012), impregnaram moléculas de PHMB em Nanopartículas (NPs) demonstrando que estas se ligavam eficazmente tanto aos fosfolípidos, lipopolissacáridos e glicopeptídeos como também aos ácidos nucleicos.

A PHMB torna-se inofensiva para com as células animais uma vez que não ocorre interação electrostática entre o composto em questão e os fosfolípidos neutros existentes na membrana citoplasmática das mesmas (Gilliver, 2009).

Uma das maiores preocupações inerentes à utilização de produtos antimicrobianos reside na sua estabilidade e armazenamento (tabela 2). Ainda pouca informação existe sobre a PHMB, contudo após terminar o ensaio, Lucas e colaboradores (2009) afirmam que o armazenamento deste composto entre -20 e 25°C não modifica a sua estabilidade, pelo menos até 28 dias. Quando comparados os materiais que deveriam ser utilizados, os mesmos autores referem que o polipropileno consegue manter a concentração de PHMB estável de forma mais eficaz que o vidro.

Tabela 2- Quadro resumo das propriedades Físico-Químicas da PHMB. Adaptado de (European Chemicals Agency(ECHA), 2011).

Propriedade Físico-Química	Valor
Estado físico à temperatura ambiente:	Pó branco a amarelo pálido com forte odor a amónia.
Ponto de Fusão:	$78,9- 136,3^{\circ}\text{C}$
Ponto de Ebulição:	Não chega a atingi-lo porque entra em decomposição a $205-210^{\circ}\text{C}$
Densidade relativa:	1.20 ± 0.0025 , a $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
Tensão Superficial:	68.5 ± 0.6 mN/m, à temp. Ambiente

Solubilidade em água:	41% w/w \pm 1% ; \approx 700 g/L, à temp. Ambiente
Coeficiente de partição octanol/água: (valor logarítmico)	Log P _{ow} = -2.3 valor experimental, à temp. Ambiente e pH: 7.4
Inflamável:	Não inflamável
Propriedades explosivas:	Não explosivo
Temperatura de Auto-Iguição:	Não inferior a 400 °C, limite superior do teste.
Propriedades oxidantes:	Sem propriedade oxidativa
Reacção com o material do recipiente:	Experiências não demonstraram qualquer reacção.
Constante de dissociação:	pKa=4.19, à temp. Ambiente
Solubilidade em solventes orgânicos:	<u>Metanol</u> : 41% w/w \pm 1% à temp. Ambiente <u>Etanol</u> : 0.5% w/w \pm 0.08% À temp. Ambiente <u>Acetona</u> : 2.7 ppm a 22°C <u>Diclorometano</u> : 0.2 ppm a 22°C <u>Acetado de Etilo</u> : 0.1 ppm a 22°C <u>Tolueno</u> : 0.2 ppm a 22°C <u>n-hexano</u> : 0.1 ppm a 22°C <u>Acetonitrilo</u> : 0.8 ppm a 22°C

1.4 Técnicas

Um dos aspectos mais relevantes para a caracterização de qualquer polímero são os métodos pelos quais estes são analisados. No caso particular da PHMB, encontram-se algumas complicações inerentes do facto de este estar presente maioritariamente como uma mistura de oligómeros, que associada à ausência de um grupo aromático na sua constituição inviabiliza a utilização de absorção UV ou fluorescência. Existe ainda a Electroforese capilar (CE) que consegue, em volumes pequenos, separar os componentes de um composto de acordo com a sua carga e peso molecular (Abad-Villar et al., 2006).

No caso dos métodos analíticos, a Ressonância Magnética Nuclear (NMR) e a Espectroscopia de Infravermelho (IR) surgiram como primeiras opções. Contudo, não conseguem, por si só, identificar e caracterizar a estrutura e tamanho das cadeias de PHMB. Tornou-se então necessário recorrer ao Matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), técnica especializada na identificação molecular (O'Malley et al., 2006).

O MALDI-TOF MS apresenta-se como uma técnica de alta resolução de massa, com mínimo manuseamento de amostras e resultados em apenas 2 h, atingindo elevados níveis de sensibilidade, mantendo a simplicidade. Saliente-se que esta permite ao utilizador configurar os ensaios e analisar centenas de moléculas conjuntamente (Slais et al., 2012; Zhang et al., 2013).

Ainda assim, as técnicas de Espectroscopia de Massa são comumente rejeitadas pelo facto de nem sempre ser possível a transferência intacta das moléculas do estado líquido a gasoso. Neste aspecto, a técnica MALDI-TOF MS veio revolucionar a indústria possibilitando essa transferência sem qualquer alteração molecular (Jarroux, 2011). Wang e colaboradores (2013), defendem que este processo é confiável uma vez que fornece pesos moleculares reais de cada componente da amostra.

Esta técnica consegue caracterizar a PHMB em termos de identificação do grupo final, de estrutura dos grupos de repetição e por vezes da distribuição da massa molecular (O'Malley et al., 2006; Wang et al., 2013).

Segundo Wei e colaboradores (2009), a técnica MALDI-TOF MS é considerada como apropriada para caracterizar bio-macromoléculas e polímeros sintéticos, caso da PHMB.

1.4. Resistências

O fenómeno de resistência é conhecido mundialmente e descrito largamente na literatura como um processo imprevisível, sabendo-se actualmente que pode ocorrer de três formas: intrínseca, ambiental ou desconhecida. Este advém do facto de qualquer ser vivo ser capaz de evoluir e adaptar-se ao ambiente que o rodeia (Galán et al., 2013).

Ao falar deste fenómeno é de capital importância a revisão de três conceitos:

- O conceito de limpeza baseia-se na remoção de toda a sujidade visível numa determinada área, podendo essa sujidade alojar-se noutra local. Não fornece ao operador informação que tipo de microrganismos eliminou e muito menos se os eliminou totalmente (Meyer & Cookson, 2010).
- Desinfecção é o processo pelo qual um agente antimicrobiano reduz o número de microrganismos viáveis a um nível estabelecido previamente como apropriado ou seguro para um determinado objectivo, existindo vários níveis. Neste caso, a redução não quer necessariamente dizer que todos os organismos foram mortos ou retirados (Meyer & Cookson, 2010).
- O método de Esterilização é definido pela eliminação total de microrganismos viáveis de um determinado local, considerando-se após este processo que esse espaço se encontra estéril. Este último método pode ser realizado por esterilizantes químicos ou físicos, e tem obrigatoriamente que ser analisado, tanto a nível do esterilizante isolado como do resultado final do mesmo (Meyer & Cookson, 2010).

Neste campo, deve proceder-se sempre a uma limpeza e desinfecção eficazes de modo a garantir que a concentração do agente antimicrobiano nunca permaneça inferior à concentração mínima inibitória (CMI), caso contrário é passível ocorrer adaptação por parte do microrganismo e conseqüentemente gerar-se um mecanismo de resistência (Meyer & Cookson, 2010).

Os mecanismos de resistência actuam como resposta de defesa do microrganismo ao ataque dos agentes químicos. Desde modo, será expectável que por agentes como as biguanidas e antibióticos actuarem maioritariamente na parede e membrana celular, os organismos primeiramente alterem funcionalmente ou estruturalmente essas áreas (W. R. Lee et al., 2004).

Segundo Pinto e colaboradores (2010b), a acção antimicrobiana está intimamente relacionada com o número de polímeros que o composto detém aquando da ligação, isto é, quanto maior o número de polímeros maior a separação dos fosfolípidos aniónicos.

Elsztein e colaboradores (2011), concordam com o disposto anterior, mas acrescentam que pela acção que este composto detém sobre o glucano da parede celular, o mecanismo regulatório da Proteína Quinase C (PKC), estará também envolvido tanto na resposta terapêutica como na resistência à PHMB.

Segundo estes autores a forma de resistência que requer maior preocupação é a agregação viral, uma vez que as partículas ao agregarem formam uma espécie de barreira ao efeito biocida. Este facto foi comprovado quando se demonstrou não ocorrer uma diminuição no número de partículas virais aquando do aumento do tempo de exposição. Esta situação sucede unicamente em duas ocasiões, ou existe um esgotamento do composto ou estamos na presença de organismos resistentes.

Foram efectuadas experiências com bacteriófagos MS2, da família Leviviridae, tendo sido utilizadas como modelo para estudos de interacções víricas. Este bacteriófago apresenta semelhanças estruturais e químicas com o enterovírus humano. Adicionalmente, possibilita uma rápida purificação (Bromberg et al., 2012).

Como resultado, os autores constataram que após exposição à PHMB, a hidrofobicidade dos bacteriófagos aumenta e conseqüentemente há uma diminuição da superfície polar da cápside viral, conduzindo à agregação. Com esta, o envelope lipídico, porção mais susceptível à interacção com o desinfetante, encontra-se

inacessível. Ainda assim, aponta-se que o tamanho reduzido seja uma das causas de resistência (Bromberg et al., 2012).

No caso de Pinto e colaboradores (2010b), o fenómeno de agregação viral com cerca de 300 nm foi observado após utilização de uma formulação contendo PHMB numa concentração da ordem de 800 ppm.

A nível bacteriano, os principais mecanismos de resistência são conhecidos, sendo transversais aos antibióticos, desinfectantes e anti-sépticos. Entre estes estão o aumento do efluxo do agente antimicrobiano, a impermeabilidade, a inactivação enzimática e a alteração do local de ligação (Russell, 2002).

De acordo com Turner e colaboradores (2004), foram reportados alguns casos de resistência por parte da *Acanthamoeba castellanii* a vários agentes, entre eles a clorohexidina e a PHMB. Este acontecimento está directamente relacionado com o facto deste protozoário ser formador de quistos, onde a formação de uma barreira física aquando do desenvolvimento da parede quística parece impedir a penetração do agente antimicrobiano. Desta forma, este é absorvido em maior quantidade no trofozoito que no cisto.

1.5. Efeitos Adversos

Um anti-séptico ou desinfectante deve idealmente ser atóxico para o Homem, isto é, não provocar qualquer tipo de toxicidade ou irritação, independentemente da forma farmacêutica em que é apresentado. Infelizmente, não existe nenhum composto capaz de actuar de forma eficiente sem originar qualquer efeito indesejado.

Os polímeros com características desinfectantes são cada vez mais utilizados devido à sua baixa toxicidade (Kedik et al., 2011). Neste contexto, a PHMB foi investigada pela EPA, dando origem a uma aprovação do produto por este possuir um baixo índice tóxico tanto para a saúde pública como para o meio ambiente, referindo apenas que neste estudo estão excluídos os trabalhadores ocupacionais (Lucas, 2012).

Segundo dados fornecidos pela agência, a PHMB demonstrou ter baixa toxicidade a pássaros e mamíferos, sendo considerada como não mutagénica nem genotóxica. Adicionalmente, todos os riscos crónicos associados a este composto encontraram-se abaixo do nível mínimo de preocupação, com a inalação e irritação dérmica entre os casos mais relevantes, contudo solucionados pela própria agência através da utilização de máquinas doseadoras. Posto isto, a agência recomendou algumas alterações de rotulagem e aprovou a sua reentrada no mercado (EPA,2004).

Kedik e colaboradores (2011) consideram que o produto em questão é estável e pouco ofensivo sendo de referir a ausência de produtos tóxicos aquando da sua decomposição.

Embora vários autores refiram que a PHMB tem um perfil toxicológico óptimo, existem algumas precauções inerentes à sua utilização, principalmente se de grandes concentrações se tratar. Ainda assim, não é provável que este agente seja passível de uma contaminação, a menos que seja drenado directamente para um reservatório de água (Lucas, 2012).

Este acontecimento poderá eventualmente desencadear alguma toxicidade ambiental, que segundo Lucas (2012), pode ser evitada com o simples descarte em material adequado, utilizando-se para o efeito um aterro ou uma incineradora.

Quando utilizado sob a forma de dispositivo médico antimicrobiano, a firme adesão deste composto à gaze torna improvável a sua libertação para o meio ambiente (W. R. Lee et al., 2004).

No que concerne à toxicidade em seres humanos, a PHMB tem sido referenciada como bem tolerada quando em terapia tópica nos olhos, epitélio nasal e feridas. Contudo, é sabido que os agentes antimicrobianos podem, ocasionalmente originar irritação ocular com lacrimejo, fotofobia e edema, pelo que não se devem excluir por completo as RAM (Santodomingo-Rubido et al., 2006; Bromberg et al., 2012; Gilliver, 2009).

Os casos estudados por Krebs e colaboradores (2005) suportam o anteriormente descrito, quando ao abordarem uma solução ginecológica contendo como princípio activo a PHMB- MonoginWTM, nenhuma destas demonstrou o mínimo efeito adverso, mesmo em uso prolongado.

Müller e colaboradores (2013), esclarecem que a PHMB é apenas altamente citotóxica para a cavidade peritoneal. Com vista a contrariar ou pelo menos minimizar o efeito supracitado, estes autores desenvolveram uma nova formulação, contendo PHMB associado a uma emulsão óleo em água (o / w) de Fosfatidilcolina de gema de ovo (EPC). A fosfatidilcolina, pertence à classificação de lípido, mais concretamente um fosfolípido, existente em todos os tecidos animais e vegetais, particularmente abundante na gema de ovo e no tecido nervoso. Embora o mecanismo de acção não esteja bem esclarecido, pensa-se que resulta não só da interacção entre a EPC e a membrana plasmática, como também da ligação não covalente que se forma entre a EPC e a PHMB (Müller et al., 2011).

M. Ulmer e colaboradores (2012), consideram que os lipossomas e as emulsões óleo em água são sistemas eficazes no transporte e libertação de substâncias activas. De acordo estão os especialistas em feridas do Reino Unido, defendendo que caso se pretenda uma libertação gradual deste composto, por exemplo em tecidos infectados, o sistema de eleição deverá ser uma emulsão (o /w) contendo EPC com PHMB, uma vez que é capaz de reduzir a toxicidade tecidular mantendo a actividade antibacteriana (Müller et al., 2013).

Este facto é confirmado pelos mesmos autores, uma vez que para duas formulações contendo PHMB, uma em água e outra em emulsão (o/w), ambas com concentração de 0.05% em PHMB, apenas a primeira reduziu a viabilidade dos fibroblastos de rato. Contudo, note-se que emulsões (o/w) com concentrações em PHMB superiores a 250 mg/L também podem originar efeitos citotóxicos (Müller et al., 2011).

Ao interpretar os resultados, Müller e colaboradores (2011), demonstram que a redução máxima é observada para uma concentração final de 0.05% em PHMB em emulsão o/w contendo 0.4 a 0.6% de fosfatidilcolina. Os mesmos autores afirmam que para além das demonstradas evidências a nível toxicológico, esta associação aumenta a acção quando comparado com o agente isolado “Após 30 min de incubação as emulsões o / w contendo 0,05% PHMB foram mais eficazes contra *P. aeruginosa* que as soluções de 0,05% PHMB em água.”

Apesar destes dados, a utilização isolada da PHMB está contra-indicada em lavagem peritoneal, caso supracitado, assim como em qualquer utilização no sistema

nervoso central, incluindo as meninges e espinal medula, em pessoas que expressaram alergia prévia ao composto, em qualquer aplicação no ouvido médio-interno e nos primeiros quatro meses de gravidez, esta última como medida preventiva (Fumarola S., 2011).

Embora seja impossível garantir-se a não existência de RAMs, será expectável para o caso da PHMB que este índice seja reduzido. Podem eventualmente acontecer casos de má aplicação do penso ou humedificação exagerada do mesmo, conduzindo a irritações no local da ferida. Nestes casos, há inflamação e aumento do tempo de tratamento (W. R. Lee et al., 2004).

2. Uso como Anti-séptico

É considerado anti-séptico todo o composto hipoalergénico, cuja função assente na destruição ou inibição de crescimento de microrganismos na superfície da pele e mucosas. A utilização destes é considerada um elemento chave na prevenção de infecções, quer sejam estas pós-cirúrgicas ou após simples injecções (Gilliver, 2009; M. Ulmer et al., 2012; Lucas, 2012).

No que concerne à PHMB, as suas propriedades anti-inflamatórias associadas a um registo diminuto de resistências, tornam-no um dos anti-sépticos mais relevantes da actualidade (Fumarola S., 2011). A estes factos, adiciona-se ainda a promoção de um aumento significativo da cicatrização de feridas, sendo bem tolerado pela pele e mantendo uma baixa toxicidade sistémica (Müller e colaboradores, 2011).

Dadas estas características, este agente antimicrobiano tem sido intensivamente estudado e aplicado não só em dispositivos médicos dérmicos, como em soluções de desinfectação ocular. Esta última aplicação tem elevada popularidade essencialmente entre utilizadores de lentes de contacto.

Com o avançar dos anos, a comunidade científica, apoiada na farmacovigilância, constatou que os desinfectantes tradicionais, como os compostos de amónio quaternário, os derivados do cloro, o iodo e seus derivados, eram irritantes e como tal originários de reacções de hipersensibilidade. Posteriormente, surgiram novas apresentações incorporando a PHMB como princípio activo, resolvendo o problema (Omali et al., 2013; Szczotka-Flynn et al., 2013).

Adicionalmente, Santodomingo-Rubido e colaboradores (2006), demonstraram que mesmo mantendo a concentração de PHMB, a acção desinfectante pode variar, alterando-se a solução de base, o que do ponto de vista médico pode ser considerado uma vantagem, possibilitando a adaptação da solução ao objectivo pretendido. Realçando desta forma, que a actividade antimicrobiana não reside unicamente no princípio activo, mas sim em todos os compostos utilizados na formulação de soluções desinfectantes oculares.

A ligação de moléculas de PHMB a ácidos nucleicos tem sido descrita na literatura. Segundo os autores, esta deve-se à forte interacção provocada pela oposição

das cargas, as positivas da PHMB e as negativas dos ácidos nucleicos. Consequentemente, a ligação origina mudanças estruturais e funcionais no genoma microbiano (Ashraf et al., 2012; Gilliver, 2009).

Allen e colaboradores (2004), propuseram um mecanismo de ligação da PHMB ao DNA com base nas suas observações. Estes autores verificaram que para baixas concentrações deste composto, os índices de precipitação eram também baixos, possivelmente pelo excedente em locais de ligação ao DNA comparativamente com o número de moléculas do agente antimicrobiano. Contudo, à medida que a concentração de anti-séptico aumenta, o fenómeno de precipitação torna-se mais nítido, devido ao maior número de ligações. É nesta fase que a quantidade de PHMB convertida em complexo iguala o total de nucleótidos, o que implica um rácio de ligação de 1:1. Este resultado é consistente com os dados bibliográficos, reforçando a ideia de uma forte ligação da PHMB aos ácidos nucleicos.

Assim, alguns autores consideram que a PHMB deve, muito provavelmente, vir a ser o agente de primeira escolha, principalmente em tratamentos prolongados (McBain, 2013; Müller et al., 2013).

2.1. Acção Antiviral

A problemática do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) foi apenas parcialmente resolvida com iniciativas de educação sexual, campanhas de informação, promoção de uso de contraceptivos, nomeadamente os preservativos, tornando-se urgente o desenvolvimento de novas formas que possibilitem uma desaceleração da propagação deste vírus, e até mesmo um termo. Em resposta a esta necessidade, estão já em processo de desenvolvimento novas formulações de aplicação tópica vaginal e rectal (Passic et al., 2010).

O facto do grupo químico das Biguanidas possuir nas suas propriedades um logaritmo da constante de acidez (pKa) aproximado de -10.5, confere-lhes um estado protonado em valores de pH= 4- 4.5, caso da vagina. Outro aspecto conducente com a

aposta científica neste grupo assenta na facilidade e baixo custo de síntese (Passic et al., 2010).

Alguns autores consideram que a PHMB tem actividade contra HIV-I, através da interacção com o co-receptor CXCR4, inibindo a quimiotaxia de células imunitárias induzidas por este. Ainda mais, estudos demonstraram um efeito residual após retirado o composto, o que prova uma forte ligação ao receptor (Wei et al., 2009; Pinto et al., 2010b; Taylor et al., 2013; Becerro de Bengoa Vallejo et al., 2011; Passic et al., 2010).

Krebs e colaboradores (2005), suportam o anteriormente descrito acrescentando que a habilidade com que a PHMB interage com membranas sugere a sua acção sobre HIV-1, Papilomavírus Humano (HPV) e Herpes simplex vírus (HSV), uma vez que a infecção originada por estes vírus é mediada por componentes da membrana celular e cápside viral.

A PHMB foi estudada experimentalmente por Krebs e colaboradores (2005), tendo estes autores procedido a dois ensaios, um na qual foi testada a acção do composto perante o vírus isolado e outro cujo foco incidiu sobre o vírus associado a uma célula T, cada um incluindo dois fenótipos. Estes últimos foram HIV-I BaL (fenótipo R5) e HIV-I IIIB (fenótipo X4). Em ambos os fenótipos o agente anti-séptico demonstrou actividade antiviral, contudo foi no caso de HIV-I BaL que a actividade denotou maior notoriedade, consequência da diferente composição lipídica e organização membranar entre os fenótipos. Adicionalmente, a variação na sequência de aminoácidos da gp120, glicoproteína responsável pela ligação do vírus à membrana das células T, é tida como um dos factores preponderantes para essa diferença.

Por sua vez, quando comparados os resultados dos dois ensaios, os investigadores observaram que a actividade antiviral da PHMB foi superior no caso do ensaio de inactivação com células T associada, evidenciando que o mecanismo de acção preferencial incide sobre a entrada na célula e posterior ligação ao vírus. Não obstante, os mesmos autores consideram que a actividade sobre o vírus na sua forma livre está relacionada com a ligação deste composto aos lípidos e proteínas presentes no involucro viral, possivelmente com mecanismo de acção semelhante ao observado na membrana citoplasmática bacteriana.

No mecanismo de acção da PHMB contra HPV, o composto em questão é atraído pela carga negativa do sulfato de heparina proteoglicano (HSPG) incorporado na membrana basal. Este facto é suportado pelo conhecimento aprofundado desta HSPG, cujas propriedades iónicas parecem ser a razão da sua interacção com macromoléculas e péptidos. Após ligação, é expectável que existam alterações estruturais e funcionais na membrana basal e consequentemente uma diminuição da infecção viral (Krebs et al., 2005).

Assim, os mesmos autores consideram que o tratamento a longo prazo com PHMB pode representar uma alternativa válida e eficaz quando de tratamentos a lesões de baixo-médio grau se trata. Outro aspecto importante a ter em consideração é o facto de este anti-séptico não originar as complicações associadas com intervenções invasivas, possibilitando na mesma, uma redução no tempo de exposição ao vírus.

A acção da PHMB sobre vírus sem involucro é influenciada pela temperatura do meio, tanto em termos de dispersão do vírus como em estabilidade da cápside viral. Conseguindo-se com uma variação de temperatura alterar a sua permeabilidade, aumentar-se-ia a concentração de PHMB no interior do vírus, o que possivelmente levaria a alterações conformacionais e consequentemente a uma maior actividade antimicrobiana (Pinto et al., 2010a).

Estudos prévios demonstraram que pequenas variações estruturais, originam diferenças notáveis tanto a nível toxicológico como funcional. Krebs e colaboradores (2005), abordaram a acção sinérgica de PHMB e EDTA no processo de adesão viral. Por outro lado Passic e colaboradores (2010), estudaram uma nova molécula com base na PHMB, a Polietileno Hexametileno Biguanida (PEHMB). Esta baseia-se na introdução de grupos etileno entre os grupos hexametileno da molécula de PHMB.

A PEHMB demonstrou maior eficácia *in vitro* contra HIV-1 com Índices Terapêuticos (CC50/IC50) superiores à PHMB. Experiências *in vivo*, tendo como base estudos em ratinhos para avaliação da toxicidade de vários agentes antimicrobianos vaginais, demonstraram que a PEHMB tem menor índice toxicológico que a PHMB (Passic et al., 2010). A razão pela qual estes autores observaram um aumento de actividade antiviral é justificada pelo maior número de interacções que este composto, PEHMB, consegue efectuar com o involucro viral, resultando numa diminuição mais acentuada da integridade viral.

Nos resultados obtidos por estes autores, a actividade antivírica é superior quando o vírus está associado a células alvo, resultado este também encontrado por Krebs e colaboradores (2010), aquando do estudo da actividade antivírica da PHMB. No caso de Passic e colaboradores (2010), os valores são surpreendentes, encontrando-se a concentração de IC 50 entre 8 a 59 vezes inferior no caso da associação, perante o ensaio com as moléculas virais isoladas.

Existem ainda poucos estudos sobre o efeito da PHMB em vírus, sendo necessário maior investimento nesta área para um conhecimento aprofundado dos seus mecanismos de acção e efeitos toxicológicos.

2.2. Acção Antibacteriana

O processo infeccioso é resultado das interacções entre o sistema imunitário do paciente, a quantidade de microrganismos e sua virulência, associadas às condições a que a ferida está exposta. Assim sendo, as feridas crónicas têm maior propensão a este tipo de processo por estarem expostas ao ambiente por longos períodos de tempo. Outros factores em consideração são os problemas médicos provocados por uma fraca irrigação sanguínea, hipoxia e desordem metabólica (Barrett et al., 2010).

A presença bacteriana em feridas não significa necessariamente que tenha ocorrido uma infecção, para tal é indispensável que a carga bacteriana supere o sistema imunitário do hospedeiro. Assim, o despiste de uma possível infecção é um aspecto de capital importância, incidindo sobre sinais como eritema, dor, calor e inchaço localizado, atraso na cicatrização, descoloração do leito da ferida, formação de abscessos, odor desagradável, e em casos mais graves colapso da ferida (Barrett et al., 2010).

Com vista a um conhecimento aprofundado da eficácia ou potencial anti-séptico de uma terapêutica é necessário proceder-se a uma avaliação. Os métodos utilizados visam demonstrar a relevância que uma determinada terapêutica tem perante a situação clínica.

Um dos testes de sensibilidade comumente aplicados aos anti-sépticos é o ensaio de difusão. Neste, o agente em estudo é colocado sobre o agar onde previamente foi inoculada uma concentração conhecida de bactéria. Após incubação durante 24h é avaliada a área em torno do composto, na qual a bactéria não conseguiu proliferar, denominando-se de zona de inibição. Quanto maior for essa área, maior é a influência do agente antimicrobiano sobre o crescimento dessa determinada bactéria (Barrett et al., 2010).

Em qualquer substância antimicrobiana é essencial saber-se a relação entre a concentração e o efeito preconizado sobre os microrganismos. Para tal recorre-se ao ensaio da Concentração Mínima Inibitória (CMI), no qual se determina a concentração mínima da substância necessária à inibição do crescimento de microrganismos. O princípio básico deste ensaio consiste em manter constante uma concentração de bactéria, aumentando a concentração do composto até se atingir a inibição. Alguns autores referem que a CMI de soluções contendo 20% PHMB ronda os 0.5 a 512 ppm, dependendo da espécie bacteriana (Barrett et al., 2010; W. R. Lee et al., 2004).

Outro método usado baseia-se no estudo de curvas Tempo vs Morte bacteriana. Estas permitem a avaliação tanto do crescimento como da morte celular ao longo do tempo, possibilitando ao utilizador um conhecimento da eficácia anti-séptica a longo prazo e consequentemente, o tempo óptimo do tratamento (Barrett et al., 2010).

Os métodos supracitados são apenas exemplos, que embora fundamentais quer para o desenvolvimento quer para o estudo de substâncias antimicrobianas, não possibilitam a extrapolação directa dos resultados uma vez que não conseguem mimetizar todas as condições observadas clinicamente. Para tal recorre-se aos ensaios “in vivo”.

Actualmente, a PHMB tem uma grande utilização como anti-séptico, principalmente como agente de desinfectação das mãos, impregnado em soluções de lavagem de lentes de contacto e em tratamentos de feridas, cuja função assenta na sua acção antibacteriana (C. K. Lee et al., 2012).

Este composto encontra-se na classificação de largo espectro de acção, uma vez que é eficaz contra um grande número de microrganismos. Registos científicos suportam a sua acção sobre *Staphylococcus aureus*, *S. aureus metilina-resistentes*, *S.*

epidermidis, *S. coagulase-negativa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus spp*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii* e *Micobacterium lutea* (C. K. Lee et al., 2012; Gilliver, 2009; Becerro de Bengoa Vallejo et al., 2011; W. R. Lee et al., 2004; Timmons, 2010).

Quando comparado o seu poder contra bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, é perceptível a superioridade do processo na presença do primeiro grupo de bactérias uma vez que as bactérias Gram-negativo possuem uma barreira extra, a membrana externa, difícil de penetrar pela PHMB devido ao seu peso molecular (Müller et al., 2011; W. R. Lee et al., 2004; Muangman et al., 2011).

Segundo alguns autores (Elsztein et al., 2011; Müller et al., 2013; Taylor et al., 2013) a PHMB tem demonstrado resultados muito positivos no tratamento de infecções oculares provocadas por *Acanthamoeba spp*, nomeadamente queratite infecciosa, queratoconjuntivite e queratopatia do cristalino. Em qualquer um dos casos, a inflamação persistente pode ser resultante da resposta imunitária a cistos ou presença de organismos viáveis no tecido ocular (Pérez-Santonja et al., 2003).

Resultados de W.R. Lee e colaboradores (2004), utilizando soluções contendo 0.02% PHMB, demonstraram grande efectividade contra *Acanthamoeba spp*. e *Nocardia spp*, apresentando baixos efeitos adversos tanto locais como sistémicos. Outros autores referem uma acção sinérgica aquando da associação da PHMB e clorhexidina a outros agentes como as diamidinas, contudo sem evidência clínica que a associação tenha maior eficácia perante a monoterapia com biguanidas (Pérez-Santonja et al., 2003).

Segundo os mesmos autores as biguanidas são consideradas terapias de primeira escolha no tratamento de infecções provocadas por *Acanthamoeba spp*, baseando-se na sua actividade antimicrobiana, ausência de resistências em ensaios in vitro e baixa toxicidade.

Ao abordarmos o tratamento de feridas é crucial falar em agentes anti-sépticos, principalmente a PHMB. Em dois encontros, 2004 e 2008, peritos em feridas concluíram que a PHMB deve ser considerada a primeira escolha no tratamento de feridas colonizadas e infectadas (Gilliver, 2009; C. K. Lee et al., 2012). Para tal,

recorre-se a uma vasta gama de produtos disponíveis comercialmente, incluindo pensos não aderentes, gazes, drenos, esponjas intravenosas e hidrogéis (Allen et al., 2004; Barrett et al., 2010; Gilliver, 2009; Fumarola S., 2011).

As feridas, quando infectadas, apresentam elevado número de microrganismos viáveis capazes de prolongar a resposta inflamatória e o tempo de cicatrização. A utilização de produtos contendo PHMB quando atempadamente aplicados, permite prevenir a introdução e crescimento de microrganismos patogénicos (W. R. Lee et al., 2004; Fumarola S., 2011).

Posto isto, os mesmos autores recomendam a aplicação de agentes antimicrobianos sólidos em detrimento de soluções tópicas, uma vez que os primeiros têm aplicação mais simples e efeito terapêutico prolongado. C. K. Lee e colaboradores (2012), suportam o anteriormente descrito ao afirmar que a gaze contendo PHMB possui uma duração de acção de aproximadamente 24 horas, período em que é necessária a mudança do penso. A este facto adiciona-se mais um, o deste método possibilitar a adição ou sobreposição de pensos, oferecendo simultaneamente melhor ambiente anti-séptico à ferida e maior comodidade ao paciente (Marquardt et al., 2010; Timmons, 2010).

O recurso a esta forma farmacêutica possibilita a estabilização interna da ferida. Exemplos disso são a diminuição da dor, tanto persistente como na mudança do penso; a redução do odor desagradável através da descontaminação e desintoxicação; a diminuição de fibrina e resistência à acumulação de tecido necrosado, promovendo assim a regeneração de tecido conjuntivo, o que se reflete numa melhoria dos perfis de infecção e inflamação da ferida (Gilliver, 2009; Barrett et al., 2010; Marquardt et al., 2010). Fumarola S. (2011), afirma ainda que a humidade no seio da ferida é favorecedora de um crescimento bacteriano e que o sistema contendo a PHMB é capaz de absorver doando-a à superfície do penso.

Segundo Becerro de Bengoa Vallejo e colaboradores (2011), a utilização de dispositivo antimicrobiano contendo como princípio activo a PHMB previne tanto a penetração como a disseminação sistémica de *Pseudomonas aeruginosa*. Outros autores referem que após um teste quantitativo, não foi detectado qualquer migrorganismo nas amostras contendo os pensos com o anti-séptico PHMB, tanto no interior do penso

como na interface penso-ferida, provando-se a total inibição dos microrganismos. Estes dados enaltecem as vantagens do uso deste excelente método antimicrobiano, capaz de eliminar os microrganismos existentes e impedir o seu acesso à ferida (W. R. Lee et al., 2004; Dilamian et al., 2013).

Quando comparados os sistemas contendo PHMB com sistemas compostos por outros agentes anti-sépticos como a Clorhexidina, o triclosano, a iodopovidona e o nitrato de prata, referências afirmam que o primeiro anti-séptico apresenta maior eficácia antibacteriana e simultaneamente maior Índice de Biocompatibilidade (Forbes et al., 2013; Gilliver, 2009; Müller et al., 2013; Paula et al., 2011). Da mesma forma, num estudo realizado por Becerro de Bengoa Vallejo e colaboradores (2011), no qual avaliaram a acção antibacteriana de uma solução salina, nitrofurantoina, e PHMB, contra *Staphylococcus coagulase-negativa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Spp*, *Micrococcus spp*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas spp* e *Klebsiella spp*, os resultados demonstraram superioridade por parte da PHMB com o valor de inibição de 99.5% contra 95.2% para a solução salina e 96.6% correspondentes à nitrofurantoina.

No caso de utilização de Suprasorb X + PHMBTM, um dispositivo médico composto por fibras biossintéticas reguladoras do equilíbrio hídrico e PHMB, cuja aplicação reside em feridas infectadas ou com elevado risco de infecção (Figura 4), os resultados após 48 horas demonstraram já um melhoramento significativo da ferida e ao fim de quatro semanas de tratamento é possível a observação tando da redução do processo necrótico como do exsudado, observando-se também sinais de tecido conjuntivo saudável (Figura 5) (Fumarola S., 2011).

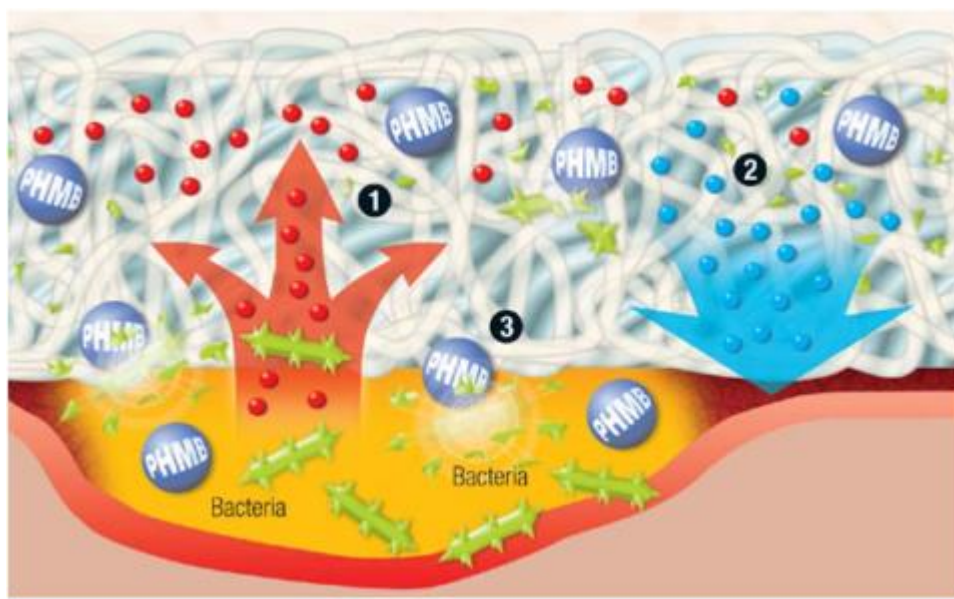


Figura 4- Demonstração da acção do Suprasorb X + PHMBTM em ferida infectada. Adaptado de: (Wicks, 2009). 1- Absorção do exsudado pelo dispositivo médico; 2- Transferência das moléculas de PHMB do dispositivo para a ferida; 3- Acção do composto activo com consequente morte microbiana;

1. Aspecto da ferida quando admitido



2. Após colocação do Suprasorb X + PHMB



3. Imagem tirada após 48 horas



4. Imagem tirada após 4 semanas de tratamento



Figura 5- Tratamento com Suprasorb X + PHMBTM. Adaptado de (Fumarola S., 2011).

A ineficaz desinfecção asséptica das mãos representa uma das maiores causas de infecção nosocomial. Alguns autores consideram mesmo que no caso de este procedimento ser realizado correctamente consegue-se prevenir cerca de metade das infecções nas unidades de saúde (Moreira et al., 2008).

Vários estudos focam este procedimento sugerindo que tanto o tempo de contacto como o volume podem desempenhar um papel fundamental no resultado final do mesmo. Segundo Widmer (2013), a Organização Mundial de Saúde (OMS) sugere protocolos de lavagem com cerca de 5 minutos aquando da utilização de produtos alcoólicos. Kampf & Ostermeyer (2004), conseguiram demonstrar que na desinfecção cirúrgica das mãos com tempo de 3 minutos, o volume a utilizar não tem impacto na eficácia do processo de desinfecção.

Noguchi & Yamamoto (2011), afirmam que a PHMB exhibe excelentes resultados antimicrobianos quando utilizado na desinfecção asséptica das mãos, apresentando como principais vantagens a baixa toxicidade para o utilizador e a rapidez com que possibilita a técnica. Segundo estes, a PHMB cumpre os requisitos das Normas Europeias para desinfecção das mãos, EN1500 e EN12791, em aproximadamente 1 minuto.

A lavagem pode ser realizada de duas formas principais. A clássica, com recurso a água ou apenas com solução desinfectante. Actualmente, a segunda opção tem sido referenciada como vantajosa, não só por não depender da qualidade da água no local de saúde como por apresentar uma rápida acção com menor custo. Em complemento, recomenda-se a utilização de luvas estéreis (Widmer, 2013).

Perante a escolha de uma terapêutica, especialistas devem ter em consideração um conjunto de factores como a eficácia do composto, o perfil toxicológico, benefícios para o utente e por último mas não menos importante, os custos associados. No caso particular da PHMB, cujo alvo terapêutico incide sobre a redução das taxas de infecção no local cirúrgico (SSI), será expectável uma redução substancial dos custos. Esta, está associada a menor quantidade de medicação, limitação da morbilidade e consequentemente menor tempo de tratamento. Não obstante, a baixa incidência de

resistências associada a um perfil toxicológico bastante baixo contribuem para a redução dos custos desta terapêutica (Barrett et al., 2010).

Vários estudos reportaram o custo-efectividade na utilização de PHMB. Investigadores de Nebraska, EUA, avaliaram a substituição de uma gaze simples por uma contendo como princípio activo a PHMB. Nos seus resultados, a redução da SSI foi de 24% e a SSI dos MRSA foi de 47%, observando-se uma redução do custo na ordem dos \$ 500,000, correspondentes a um ano de estudo e com base nas estimativas do custo do tratamento de uma SSI (Mueller & Krebsbach, 2008). Outro estudo com base na substituição de gazes convencionais por gazes contendo PHMB, aquando do tratamento de pacientes submetidos a cirurgia vascular, constatou uma redução progressiva nas taxas de infecção de 4.6% em 2000 para 0.4% em 2005. Estes valores impressionantes, não só demonstram um melhoramento para o utente como apresentam uma redução global no custo de tratamento de \$876,176 (Barrett et al., 2010).

Por fim, um estudo realizado na Universidade da California, no Centro Médico de San Diego, EUA, concluiu que a utilização de Suprasorb X + PHMBTM apresenta melhor relação custo/benefício que todos os outros tratamentos em feridas recalcitrantes. Para tal, os autores basearam-se nos custos materiais, que com a terapêutica abordada se fixam em \$2.14 por cada paciente, ao dia (Barrett et al., 2010).

2.3. Acção Antifúngica

Infecções oculares de etiologia fúngica devem ser consideradas um sério problema a nível mundial, uma vez que são uma das principais causas de morbilidade ocular, com propensão a ulcerações, dificuldade de cicatrização e em casos mais graves cegueira. Nestas, destacam-se as infecções da córnea, pelo seu maior número mas também pela dificuldade terapêutica acrescida devida à penetração do fungo nesta camada ocular (Rebong et al., 2011).

As terapêuticas disponíveis são constituídas maioritariamente por antifúngicos conhecidos, entre estes os Poliénicos, Anfotericina B e Natamicina, e alguns

antifúngicos Azólicos, como o Fluconazol. A fraca penetração ocular, baixa tolerabilidade e reduzida acção em ensaios *in vitro* ditam a sua ineficácia terapêutica, que juntamente com o seu elevado custo geram a necessidade clínica de instituição de novas terapêuticas, mais eficazes e mais acessíveis (Goethe-universität, 1999).

Contrariamente, a PHMB tem demonstrado resultados muito promissores em ensaios *in vitro*, nomeadamente sobre *Acanthamoeba spp*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Malassezia pachydermatis* e até mesmo em infecções mistas de *Acanthamoeba* e *Fusarium*. Estes resultados, associados ao perfil toxicológico da PHMB, fazem a comunidade científica acreditar que está perante uma alternativa plausível às terapêuticas supracitadas (Rebong et al., 2011; Behrens-Baumann et al., 2012; Kaehn, 2010; Finger et al., 2012b).

Segundo os resultados obtidos por Goethe-universität (1999), a concentração de PHMB necessária a uma inibição fúngica é inferior à utilizada em formulações previamente preparadas em tratamento de pacientes com infecções por *Acanthamoeba* (200 mg/L ou 0.02%), demonstrando grande actividade antifúngica. Rebong e colaboradores (2011), observaram nas suas experiências que este composto não tem uma progressiva acção na inibição do crescimento fúngico aquando do aumento da sua concentração, comportamento característico deste tipo de agente antimicrobiano. Pelo contrário, ou não ocorre inibição ou esta ocorre totalmente. Os resultados deste estudo demonstraram não só inibição como também eliminação do *Aspergillus*.

Contudo, em condições normais a córnea oferece resistência à passagem da PHMB devido ao seu peso molecular, pelo que deve proceder-se a uma remoção do epitélio corneal através de uma abrasão, permitindo a sua penetração e acção (Behrens-Baumann et al., 2012).

A associação de PHMB com inibidores da calcineurina, uma fosfatase serina-treonina envolvida na resposta ao *stress* celular, visa melhorar a eficácia antifúngica e diminuir os custos do tratamento. Nas células fúngicas, a calcineurina parece estar associada a mecanismos responsáveis pelo crescimento, patogenicidade e *stress*, assim como a mecanismos regulatórios da formação da parede celular (Rebong et al., 2011).

Segundo testes efectuados pelos mesmos autores, esta associação preencheu os critérios para efeito aditivo, com um valor de 0,625. Este resultado é obtido utilizando o

Índice de Concentração Inibitória Fraccional (FICI), que avalia a acção de várias substâncias em conjunto. Se o seu valor for menor ou igual a 0.5, então as substâncias têm efeito sinérgico, se o valor estiver entre 0.5 e 1, então o efeito é aditivo e se este valor superar 1 não há efeito nenhum, caso este valor ultrapasse 4, então as substâncias têm efeito antagónico. Posto isto, o efeito aditivo observado suporta que a PHMB actua ao nível da membrana e parede celulares.

Outro método estudado recentemente envolveu a inclusão de compostos anti-sépticos como a Clorhexidina, Iodo e a PHMB em ciclodextrinas (CDs). Estas são compostos cíclicos constituídos por várias moléculas de glucose, utilizadas para veiculação de fármacos uma vez que possibilitam a formação de complexos de inclusão com uma variedade de moléculas hóspedes, como os péptidos (Finger et al., 2012).

Neste estudo foram avaliadas as actividades antifúngicas dos complexos perante *C. albicans* e *Malassezia pachydermatis*, tendo sido observada maior actividade por parte do complexo CD-PHMB. A actividade terapêutica acima mencionada é totalmente atribuída aos agentes anti-sépticos uma vez que as CDs isoladas não demonstraram qualquer actividade perante estas duas estirpes fúngicas (Finger et al., 2012b).

Ainda no mesmo estudo foram observadas diferenças na inibição do crescimento quando comparadas as duas estirpes, apresentando-se a *M. pachydermatis* como organismo mais resistente. Este facto deve, muito provavelmente, estar associado às diferenças na constituição da parede celular assim como do tamanho celular (Finger et al., 2012b).

Contudo, e embora os resultados *in vitro* tenham demonstrado uma marcada actividade antifúngica e com largo espectro de acção, não existem evidências clínicas que a comprovem, tornando esta possível alternativa terapêutica ainda longínqua da realidade (Behrens-Baumann et al., 2012).

3. Uso como Desinfetante

Desinfetante é uma substância, geralmente química, capaz de inibir o crescimento ou eliminar os microrganismos presentes numa superfície sem necessariamente anular as formas esporuladas patogénicas (Domingues, n.d.).

A PHMB é passível de ser encontrada em ambiente aquático, nomeadamente piscinas e saunas ou no tratamento de sistemas de arrefecimento. Pode ser utilizado no tratamento de fibras têxteis, em óleos vegetais, em cola, como produto de limpeza em fábricas, em limpeza de materiais cirúrgicos e dentários, desinfecção hospitalar, em manuseamento de substâncias alimentares e cosméticos (Müller et al., 2011; Paula et al., 2011; Pinto et al., 2010a; C. K. Lee et al., 2012; O'Malley et al., 2006; Allen et al., 2004 ; Müller et al., 2013; Lucas 2012) .

Elsztein (2011) considera mesmo que este produto é eficaz na eliminação de estirpes de contaminação características do processo de fermentação do etanol. Embora a sua utilização seja vasta, estima-se que cerca de 95% da mesma ocorra em água, nomeadamente no tratamento de piscinas e *spas* (Lucas, 2012; EPA, 2004).

3.1 Desinfetante Industrial

As fibras naturais, como a lã, o linho e o algodão são comumente associadas a reservatórios microbianos devido à sua proximidade com seres humanos aliadas à retenção de grande quantidade de água, podendo alterar as suas propriedades como a elasticidade, textura e cor. Em contraste, encontram-se as fibras sintéticas que por não possuírem essa propriedade, têm menor propensão ao ataque microbiano (Gupta, 2007; Cranston, 2008).

A aplicação de compostos antimicrobianos na indústria têxtil tem vindo a crescer exponencialmente nos últimos anos, em parte devido a uma maior preocupação higiénica do consumidor mas também pelo aumento de qualidade e segurança que estes

agentes adicionam (Varesano et al., 2011; Cranston, 2008; Gao et al., 2011; Simoncic & Tomsic, 2010; Gupta, 2007).

Segundo Varesano e colaboradores (2011), esta abordagem deve ser preferida em detrimento de agentes antibacterianos de baixo peso molecular não só pela grande biocompatibilidade que apresentam como também pela maior estabilidade ambiental e prolongamento da acção antibacteriana.

Assim sendo, a aplicação deste tipo de produtos previne a deposição e crescimento de microrganismos patogénicos e geradores de mau odor, procurando minimizar problemas médicos e higiénicos ao utilizador. Da mesma forma protege o tecido da degradação e descoloração devido a um menor desgaste das fibras, requerendo também menores ciclos de lavagem. Neste último aspecto será conveniente referir que com este tratamento não são necessárias temperaturas tão altas nem grandes quantidades de produtos químicos, permitindo ao utilizador reduzir custos e aumentar o seu período de vida (Simoncic & Tomsic, 2010; Windler et al., 2013).

Gao & Cranston (2010a) suportam o anteriormente descrito demonstrando no seu estudo que um acabamento com PHMB em peças de lã suportou 25 ciclos de lavagem sem degradação aparente nem significativa redução da actividade antimicrobiana.

Como descrito anteriormente os têxteis antimicrobianos possuem uma panóplia de usos abrangendo tanto aplicações externas, como o caso de tendas, toldos e guarda-sóis a aplicações interiores como cortinas, todo o tipo de calçado e vestuário, assim como colchões. Por último mas não menos importante, a sua aplicação em ambientes médicos, nomeadamente em roupa de cama, toalhas e lenços (Windler et al., 2013; Varesano et al., 2011).

Um agente antimicrobiano ideal para aplicação têxtil é aquele que preenche os três seguintes campos de forma exemplar. Apresenta nível citotóxico nulo, incapaz de qualquer irritação ou alergia. Demonstra possuir uma durabilidade elevada, mesmo perante múltiplos ciclos de lavagem, e ainda não tem qualquer influência negativa sobre as propriedades têxteis ou aparência, sendo também compatível com o método de fabrico (Gupta, 2007).

A adsorção da PHMB às fibras de celulose pode ser aumentada através da adição de corantes reactivos aniónicos, exemplo dos ácidos sulfónicos, conferindo simultaneamente maior carga negativa às fibras pelo facto de serem ácidos mais fortes que os ácidos carboxílicos, mas também pelo maior número de locais de ligação (Simoncic & Tomsic, 2010; Cranston, 2008; Gao & Cranston, 2010b).

Por outro lado, sabe-se que a actividade antimicrobiana deste composto é directamente proporcional à sua concentração na forma livre e que as fortes interacções entre a PHMB e os ácidos sulfónicos podem desencadear a redução de PHMB na forma livre, conseqüentemente originando uma redução da actividade antimicrobiana (Simoncic & Tomsic, 2010; Cranston, 2008; A. Kawabata & Taylor, 2004).

Um estudo realizado por Gao & Cranston (2010b), no qual foram adicionados ao algodão soluções contendo sulfito de sódio e peróximonosulfato (PMS) precedendo o tratamento com PHMB, demonstrou uma redução nas bactérias *E. coli* e *S. aureus* na ordem dos 99%. Estes autores vieram, deste modo, confirmar a superioridade do tratamento aquando da adição de substâncias aniónicas reactivas.

No caso concreto da lã, conhecida por encolher aquando da lavagem, Gao e colaboradores (2011), demonstraram que o acabamento deste material com PHMB permite evitar este acontecimento, mantendo as restantes propriedades físicas como a resistência, o aspecto e a textura. Do mesmo modo, Gao & Cranston (2010a), afirmam que várias pessoas compararam as texturas de produtos tratados com PHMB e não tratados e em nenhum dos casos foi registada alguma distinção, reforçando que este composto atende aos requisitos antimicrobianos têxteis.

Segundo Gao & Cranston (2010b), é possível que a PHMB perca alguma da sua actividade ou se torne menos acessível quando ligada à superfície têxtil. Deste modo, estes autores em acórdância com Cranston (2008), e após observação dos seus resultados- inibição da bactéria *E. coli* em 90%, recomendam a utilização deste composto em concentrações na ordem de 2-4% quando pretendido um tratamento prolongado, e de 0.25 – 1% quando em artigos descartáveis.

A maior preocupação no uso da PHMB como agente antimicrobiano em têxteis é derivada da necessidade de uma concentração elevada, potenciadora de fenómenos de

resistência (Cranston, 2008). Adicionalmente, foi reportada a sua baixa absorção em fibras sintéticas (Gao & Cranston, 2010b).

3.2 Desinfetante Hospitalar

Nos últimos anos o número de Infecções Nosocomiais tem vindo a aumentar exponencialmente, traduzindo-se em um sério problema clínico a nível mundial. A razão major parece estar associada à emergência e rápida propagação de microrganismos multirresistentes, principalmente a antibióticos (Abreu et al., 2013; Meyer & Cookson, 2010).

Actualmente sabe-se que este fenómeno teve origem no uso indiscriminado deste grupo de fármacos, aplicados empiricamente e em dosagens inadequadas. Assim sendo, a utilização de antibióticos como agentes antimicrobianos tem sido sucessivamente racionalizada com vista à diminuição deste fenómeno de resistência, abrindo caminho a um maior estudo e aplicação de anti-sépticos e desinfetantes. Este último grupo de compostos é considerado essencial nas práticas de prevenção e controle de infecções nosocomiais (Meyer & Cookson, 2010; Ghotaslou, 2012).

Não obstante, nem todas estas infecções são derivadas de uma escolha incorrecta do produto a utilizar, podendo ocorrer falhas em qualquer parte do processo de desinfecção hospitalar. Segundo um estudo realizado por Sifuentes e colaboradores (2013), no qual foram avaliadas as práticas de limpeza em 10 instalações hospitalares, os resultados demonstraram que 93% destas apresentaram amostras de toalhas contendo microrganismos viáveis, mesmo após o processo de limpeza, demonstrando uma clara ineficiência do mesmo. Para que tal não aconteça este processo deve ser planeado, validado e constantemente verificado.

Sabe-se que um grande número de infecções são resultado da desinfecção ineficiente de superfícies e instrumentos, podendo-se afirmar que a contaminação ambiental desempenha um papel central na transmissão deste tipo de infecções, servindo o ambiente de enorme reservatório a bactérias, vírus e fungos (Figura 7) (Abreu et al., 2013; Hedin et al., 2010).

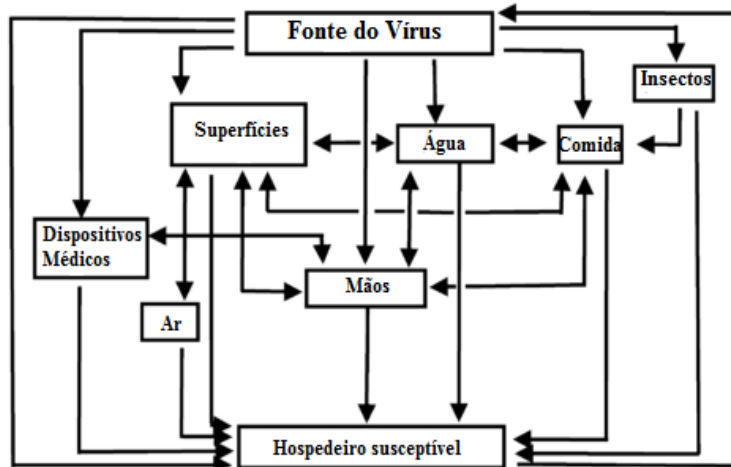


Figura 7- Propagação directa e indirecta de Infecções Nosocomiais. Adaptado de (Sattar, 2004).

Os locais mais frequentemente contaminados são superfícies em contacto permanente com pacientes como as camas, comandos de televisão, maçanetas de portas e afins, sendo as mãos a par do ambiente, um dos factores principais de disseminação (Abreu et al., 2013; Sattar, 2004).

Deste modo, a limpeza deve ser substituída por um processo de desinfecção, tendo sempre em consideração o tipo de instalações e equipamento da área a desinfetar assim como das condições ambientais necessárias ao mesmo. Em áreas nas quais são esperados maiores índices de contaminação, tais como laboratórios ou blocos operatórios devem ser aplicados processos de desinfecção com maior eficiência e mais frequentemente. Pelo contrário, áreas de menor risco como as salas de espera, apenas necessitam de uma desinfecção diária (Abreu et al., 2013).

Os microrganismos mais frequentemente encontrados em Infecções Nosocomiais foram descritos por Abreu e colaboradores (2013), encontrando-se entre estes *S. aureus* metilino-resistentes, *Clostridium difficile*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida spp*, algumas estirpes da família *Enterobacteriaceae*, adenovirus, rotavirus, influenza, parainfluenza, vírus da hepatite B

e *coronavirus*. A adesão destes microrganismos a superfícies e consequente formação de biofilmes constituí o principal problema microbiológico (Abreu et al., 2013).

Segundo Meyer & Cookson (2010), a escolha de um desinfectante deve insidir primeiramente num espectro de acção adequado evitando desta forma a resistência intrínseca dos microrganismos. Avaliando-se os resultados de ensaios *in vitro* e *in vivo* relativamente à actividade antimicrobiana da PHMB - descrita em pormenor no capítulo 2, é possível constatar que este composto apresenta actividade contra a maior parte dos microrganismos acima referidos, pelo que deve ser considerada uma alternativa terapêutica neste tipo de infecções.

Allen e colaboradores (2006) e Ashraf e colaboradores (2012), demonstram que o crescimento da *E. coli* é inibido pela acção da PHMB, mesmo em concentrações tão baixas como 0.075 µg/mL. Este facto é ainda confirmado pela alteração na expressão de alguns genes envolvidos na resposta ao stress celular e protecção, como genes dos domínios citoplasmático e membranar. Adicionalmente, resultados obtidos por Gilbert e colaboradores (2001), aquando da avaliação da eficácia de vários desinfectantes sobre populações planctónicas e biofilmes, demonstraram que a PHMB e o ácido paracético encontram-se entre os desinfectantes mais eficazes.

O processo de desinfectação Hospitalar tem sido largamente estudado e discutido, contudo ensaios que abordem a actividade dos vários compostos antimicrobianos em ambiente próprio continuam escassos. Hedin e colaboradores (2010), conduziram um estudo recorrendo-se ao AppeartexTM, um recente produto constituído por um polímero A-200, a PHMB e uma solução surfactante. Segundo resultados deste estudo, o AppeartexTM obteve uma redução no número de *S. aureus* e de *Enterococcus hirae* de aproximadamente 10⁵ e de 10³ cfu, respectivamente. Estes resultados foram obtidos após incubação durante 24h a 36 °C.

No entanto, quando no mesmo estudo foram avaliadas as propriedades do AppeartexTM sobre superfícies contaminadas com *S.aureus* e *E. faecalis* oriundos de uma infecção humana, os resultados demonstraram uma redução de apenas 10 cfu, evidenciando que este método não é suficientemente eficaz na presença de secreções humanas contendo grande número de bactérias, caso muito frequente no meio Hospitalar.

Como podemos concluir, a ausência de um grupo de fármacos eficaz na prevenção e controle da disseminação infecciosa é uma realidade. A comunidade científica tem desenvolvido estudos que visam criar novas alternativas, quer em substituição quer em adição aos compostos químicos existentes actualmente. Entre estas destacam-se a desinfecção por calor e a desinfecção por luz Ultravioleta. Ambas têm demonstrado excelentes resultados e com rápida execução, contudo exigem a remoção dos pacientes o que por si só inviabiliza o seu uso na maior parte dos casos (Abreu et al., 2013).

Por outro lado, alguns autores referem que o investimento científico deve incidir sobre os compostos desinfetantes uma vez que para estes são ainda baixos os níveis de resistência. Adicionalmente, o modo não específico de acção destes torna o desenvolvimento de resistência improvável (Meyer & Cookson, 2010).

3.3 Desinfetante de Piscinas e Spas

As piscinas, dadas as suas propriedades, grande volume de água e exposição ambiental, constituem por si só, uma fonte de grande número de bactérias e vírus. Uma vez que a contaminação é proveniente do ambiente e dos próprios banhistas, torna-se impossível a obstrução à entrada de microrganismos. A prática de desporto e lazer em piscinas ou Spas contaminados pode originar um grande número de infecções através da simples respiração, contacto da água com a pele ou pela ingestão da mesma.

Assim sendo, o *modus operandi* baseia-se na aplicação de substâncias que inibam o crescimento ou incitam a morte celular. As substâncias mais utilizadas são parte integrante do grupo dos desinfetantes, principalmente o cloro (CL) e a PHMB (Hales, 1996).

A escolha destes compostos incide sobre os seus efeitos bactericidas, fungicidas e viricidas, quando em contacto com água. Entre estes, a maior utilização recai sobre o uso do cloro por este possuir um preço de mercado inferior à da PHMB (Domingues, n.d. ; Wojtowicz, 2004).

Contudo, quando comparados em termos de aplicação e estabilidade química o cloro apresenta-se claramente inferior. Um estudo realizado por Hales (1996), demonstrou que a PHMB não sofre alterações perante uma variação de temperatura de pelo menos 3 a 42 °C, de pH entre 6.2 a 10.0, permanecendo também a sua actividade intacta quando em presença de matéria orgânica e sob forte exposição solar. Por outro lado, no mesmo estudo e sob as mesmas condições, os autores observaram alterações no composto de cloro com a variação da temperatura, pH, presença de matéria orgânica e exposição solar. Posto isto, estes autores recomendam que a monitorização do cloro deve ser diária, ao invés da semanal correspondente à PHMB.

Uma vez que a sua aplicação implica alterações num ambiente frequentemente utilizado por Humanos, será pertinente a avaliação da toxicidade em mamíferos. Na literatura existem registos de toxicidade ao cloro, principalmente a nível respiratório, dermatológico e ocular. No primeiro, casos de rinite, traqueobronquite, asma e edema pulmonar foram relatados após exposição aguda. Contrariamente, não existem referências bibliográficas no que respeita a efeitos tóxicos após exposição aguda à PHMB em ambientes aquáticos, sendo discriminado em pormenor -subcapítulo 1.6, os efeitos adversos deste composto (Uyan et al., 2009; Andrade, 2010).

Aquando da actividade antimicrobiana, Wojtowicz (2004), sugere que a utilização da PHMB em ambientes aquáticos é eficaz desde que em concentrações entre 6-10 ppm, classificando a MIC deste composto perante os principais microrganismos contaminantes de 4 ppm para *E. coli* e *S. aureus*, e de 20 ppm para *P. aeruginosa*.

Um estudo realizado por Mark A. e colaboradores (2003), cujo objectivo incidiu sobre a eficácia de BaquacilTM, um produto à base de PHMB utilizado como desinfetante e algicida em piscinas, concluiu que este composto embora não seja capaz de uma eliminação por completo, é eficaz na redução de *Salmonella spp* em ambiente aquático quando em concentrações superiores a 25 ppm.

Ainda assim, estudos relativos à eficácia de produtos desinfetantes em ambientes aquáticos são ainda reduzidos. Não obstante, é de notar uma preocupação crescente não só na sua avaliação como parametrização. Goeres e colaboradores (2004), procederam a um estudo envolvendo duas piscinas em laboratório, contendo cada uma concentrações de desinfetante entre os montantes recomendados, sendo neste caso 3

ppm para o cloro e 10 ppm para a PHMB. Em ambos os casos foram recolhidas amostras tanto a granel como no sistema de drenagem lateral.

Os resultados observados por estes autores revelaram a formação de biofilmes, principalmente na interface ar/água e no sistema de drenagem lateral onde a superfície é apenas coberta por uma fina camada de água. Foram de seguida avaliadas várias causas da formação deste tipo de ecossistemas, assim como de métodos para as eliminar. No caso, vários materiais de construção foram revistos, concluindo-se no entanto, que os materiais de superfície não têm um papel determinante na formação de biofilmes. Pelo contrário, quando adicionado amónio quaternário e peróxido de Hidrogénio à PHMB, os resultados revelaram uma diminuição da acumulação de biofilme tanto no filtro como na superfície.

Segundo os resultados observados por Goeres e colaboradores (2004), os parâmetros de desinfecção de piscinas deveriam ser revistos e uma grande monitorização é necessária. Para tal, podem recorrer-se a métodos colorimétricos, com tiras teste específicas para biguanidas ou a métodos titrimétricos (Rowhani & Lagalante, 2007).

No caso do método colorimétrico é utilizado o reagente azul de Bromofenol (BPB), cuja adição à PHMB faz variar a cor verde do composto para azul devido à basicidade do composto desinfetante. Assim, quanto maior a concentração de PHMB, maior será a mudança de coloração. No entanto, este reagente também reage com outros compostos como os compostos quaternários, podendo originar alguns resultados falso-positivos (Rowhani & Lagalante, 2007).

Deste modo foi desenvolvido um novo método de detecção de PHMB, baseando-se na ligação entre o níquel e o reagente nioxime. Estes dois compostos possuem grande afinidade e quando em solução tendem a ligar-se. Contudo, o níquel tem maior afinidade para a PHMB que para o reagente nioxime, pelo que se procedermos à adição de níquel a uma solução contendo PHMB e só posteriormente adicionarmos nioxime, apenas a porção livre de níquel reagirá com o nioxime, obtendo-se uma coloração rosa. Através da medição da absorvência dessa solução podemos concluir sobre a concentração de PHMB. Para se garantir a reprodutibilidade será necessário que a adição do reagente ocorra num intervalo de 3 min em relação à adição de níquel (Rowhani & Lagalante, 2007).

Este método permite então a determinação da concentração de PHMB em água, não sendo afectado por outros compostos existentes em solução. Adicionalmente, este pode ser executado em menos de 5 minutos garantindo grande exactidão nos resultados e sem a necessidade de equipamento complexo, como na cromatografia (Rowhani & Lagalante, 2007).

4. Casos Clínicos

Caso 1.

Uma mulher de 39 anos cuja história clínica indica uso prolongado de lentes de contacto gelatinosas e exposição a ambiente aquático em presença das mesmas. Um mês antes referiu sentir dores no olho esquerdo tendo recorrido ao seu oftalmologista, que lhe prescreveu um tratamento antibiótico tópico obtendo resultados iniciais positivos.

Embora se tenha observado uma melhoria inicial os sintomas regressaram, apresentando dores severas principalmente no olho esquerdo (Ferrari et al., 2011).

A mulher apresentou-se no Hospital para uma consulta ocular onde foi diagnosticada queratite infecciosa por *Acanthamoeba spp* no olho esquerdo, com falta de vista a apenas 1 metro de distância. (1 da figura 8) Deste modo, foi instituída uma terapêutica tópica com 0.02% PHMB e 0.1% Hexamidina a cada hora. Após 3 meses de tratamento, a paciente não ostentava melhorias clínicas (2 da figura 8), sendo a sua terapêutica alterada para uma contendo a associação tópica de hexamidina e clorohexidina (Ferrari et al., 2011).

Os resultados não demonstraram melhoria clínica, observando-se inflamação, irritação e irregularidade no globo ocular (3 da figura 8). Posto isto, foi instituída uma terapêutica contendo PHMB e clorohexidina. Após 4 meses foi observada uma clara melhoria clínica com conseqüente formação de um leucoma vascularizado (4 da figura 8). Posteriormente a paciente reportou inexistência de dor coincidente com a observação de um epitélio estável e ausência de infecção e inflamação (Ferrari et al., 2011).

Oito meses decorridos após o término da terapêutica a mulher foi novamente observada, não havendo sinais de infecção recorrente nem dor ocular (5 da figura 8). A superioridade da associação de duas Biguanidas no tratamento de infecções provocadas por *Acanthamoeba spp* foi aqui evidenciada, apresentando-se como um tratamento eficaz neste tipo de infecções. Segundo estes autores, o processo de remoção de tecidos

mortos possui um efeito catalisador desta eficácia terapêutica, uma vez que aumenta a penetração do fármaco no epitélio ocular.

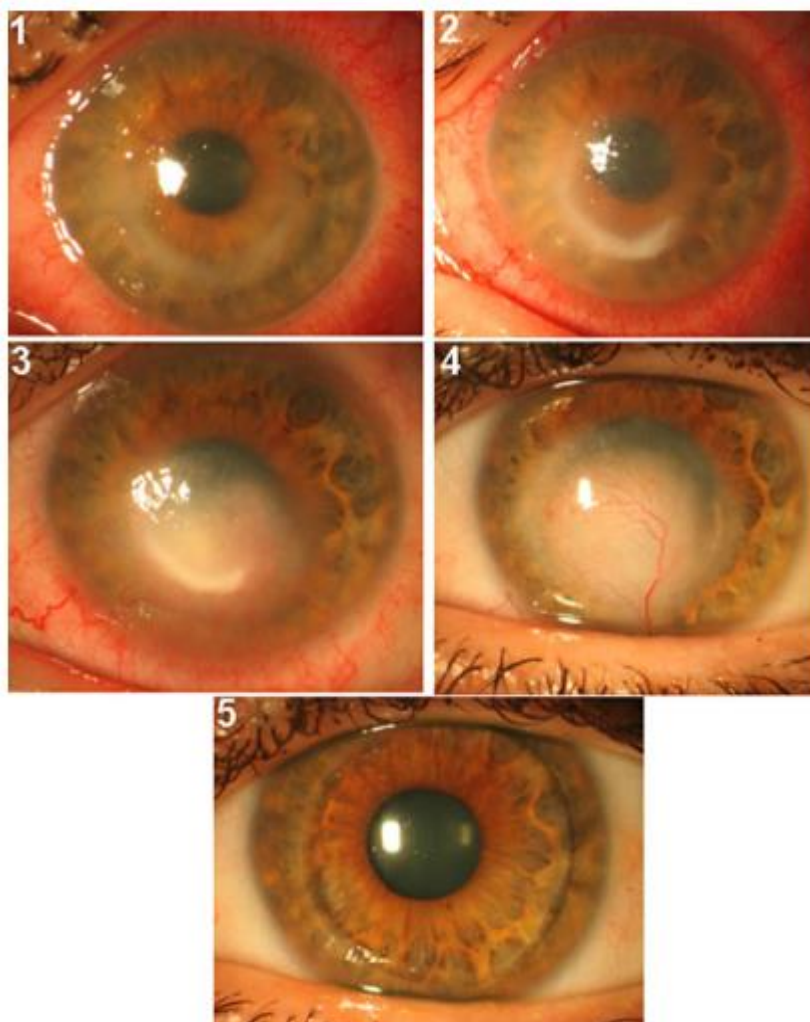


Figura 8- Ilustração do processo evolutivo e tratamento de uma Queratite Infecciosa (Ferrari e colaboradores, 2011).

Caso 2.

Um ensaio realizado por Gentile e colaboradores (2012), baseou-se na utilização de uma solução ginecológica contendo PHMB (MonoginWTM, Lo.Li. Pharma, Roma, Itália) no tratamento a longo prazo de 50 pacientes previamente diagnosticados com infecções por HPV, tendo como objectivo a avaliação do aumento na taxa de regressão da mesma.

Esta apresenta-se na forma de um gel-líquido constituído por PHMB, EDTA, glicerol hidroximetilcelulose, cloridrato de potássio, ácido láctico e água. Um regime de auto-administração foi aplicado e segundo os autores toda a amostra populacional procedeu deste modo recorrendo apenas ao folheto informativo (Gentile et al., 2012).

Os resultados foram apresentados em dois períodos de tempo, T1 e T2, correspondendo a três e seis meses, respectivamente. Em T1 verificou-se uma taxa de regressão na ordem dos 66%, correspondente a 33/50 pacientes no grupo onde foi administrada a MonoginWTM contra os 56% correspondente a 28/50 pacientes do grupo de controlo, não apresentando diferença estatística. Por outro lado, os resultados em T2 vieram provar que este composto tem acção anti-HPV uma vez que apenas 5/50 pacientes no grupo da MonoginWTM apresentavam infecção, contrastando com o grupo de controlo onde foram detectados 15/50 pacientes. Estes últimos resultados apresentam diferença estatística significativa, e quando extrapolados para percentagem traduzem valores de regressão na ordem dos 90% para o grupo da MonoginW e 70% para o grupo de controlo (Gentile et al., 2012).

Com estes resultados, Gentile e colaboradores (2012) sugerem a utilização de PHMB como uma opção terapêutica eficaz no controle da infecção por HPV.

Caso 3.

Uma mulher de 63 anos ostenta uma ferida cirúrgica abdominal extensa, viscosa, com possível infecção (figura 9). Devido à elevada quantidade de tecido de granulação e ao tamanho da ferida, 12 x 2 cm e 2 cm de profundidade, foi instituído um tratamento recorrendo a pressão negativa, aplicando pensos Allevyn™ (Smith & Nephew, Hull, Reino Unido) (Timmons, 2010).



Figura 9- Imagem da primeira apresentação da paciente evidenciando sinais de infecção bacteriana, com elevado exsudado e tecido de granulação irregular, particularmente na porção superior (Timmons, 2010).

A paciente é reavaliada sete dias depois não apresentando quaisquer melhorias. Nesta fase foi alterada a terapêutica para uma contendo um agente antimicrobiano, neste caso o AMD Kendall™ - 0.5% em PHMB. Inicialmente instituída uma mudança de pensos a cada 3-4 dias, passando a 5-6 dias na fase final. Duas semanas passadas após início da terapêutica com Kendall, a ferida apresentava-se visivelmente em menores dimensões, com redução do exsudado e tecido de granulação (Timmons, 2010).

Na fase final deste tratamento, correspondente a 3 semanas após a instituição do Kendall, a ferida havia quase fechado, apresentando-se limpa (figura 10). A paciente referiu ausência de qualquer dor aquando da aplicação ou remoção, verificando-se uma redução significativa do exsudado conseqüente a uma redução bacteriana devida às propriedades anti-sépticas da PHMB (Timmons, 2010).



Figura 10- Imagem do final do tratamento com AMD Kendall™ (Timmons, 2010).

Caso 4.

Mulher de 38 anos apresenta uma úlcera na perna com 4 x 5 cm e 1 cm de profundidade. Após observação verifica-se intenso exsudado, tecido de granulação e colonização bacteriana com mau odor (Timmons, 2010).

É instituída uma terapêutica combinada de Actisorb silver 220™ (Johnson & Johnson Wound Management, Ascot, Reino Unido) com Biatain™ (Co-Ioplast, Peterborough, Reino Unido), servindo este último como penso secundário. No entanto,

o controle do exsudado não se apresenta satisfatório, permanecendo a totalidade do tecido de granulação (Timmons, 2010).

Deste modo, é substituída a terapêutica por uma contendo AMD Kendall™ - 0.5% em PHMB. Após uma semana a paciente é novamente avaliada apresentando-se a ferida com uns 2 x 2 cm e sem profundidade, exsudado visivelmente reduzido e epitelização evidente (figura 11). Na semana seguinte foi concluído o tratamento após observação de uma ferida com aspecto saudável e limpo (Timmons, 2010).



Figura 11- Aspecto da ferida após uma semana de tratamento com AMD Kendall™ (Timmons, 2010).

Este tratamento demonstrou ser indicado tanto pela redução bacteriana e absorção do exsudado como pela qualidade que oferece ao paciente, não tendo este apresentando qualquer queixa (Timmons, 2010).

Caso 5.

Uma paciente de 56 anos, do sexo feminino apresenta uma infecção após amputação do primeiro dedo do pé esquerdo (figura 12). Primeiramente foi instituída

uma terapêutica sinérgica com Versajet™ e NPWT- Venturu™ (TallyGroup Limited) (Bowen et al., 2009).



Figura 12- Aspecto da ferida com evidente infecção (Bowen et al., 2009).

Esta terapêutica demonstrou-se ineficaz sendo substituída em apenas 10 dias por AMD Kendall™. Após seis semanas dava-se por concluído o tratamento apresentando-se a ferida completamente fechada e curada (figura 13), evidenciando mais uma vez a eficácia antimicrobiana da PHMB assim como o elevado nível de conforto proporcionado ao utente (Bowen et al., 2009).



Figura 13- Imagem ilustrativa do final do tratamento (Bowen et al., 2009).

Caso 6.

O paciente apresentado neste caso clínico possui uma úlcera de etiologia mista na perna esquerda há cinco meses. Esta exibe um aspecto molhado, extensamente exsudado e infeccioso (figura 14) apesar do uso de uma banda de alginato e um penso adsorvente (Wicks, 2009).

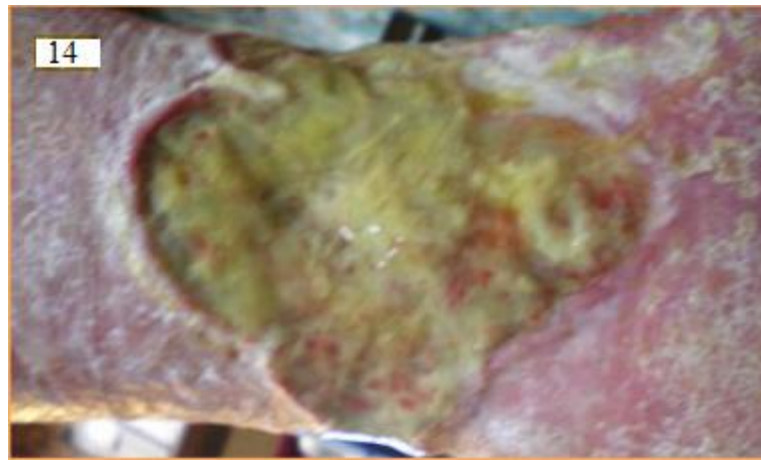


Figura 14- Imagem ilustrativa do aspecto infeccioso da úlcera, anterior ao tratamento com Suprasorb X + PHMBTM (Wicks, 2009).

Segundo o paciente, a dor que sentia perturbava-lhe o sono e quando avaliada na escala de dor apresentou um valor de 6 em 10. Nos dois últimos meses foram reportados quatro casos de infecção (Wicks, 2009).

Nesta fase, foi instituída uma terapêutica com Suprasorb X + PHMBTM com o objectivo de reduzir ou mesmo eliminar as recorrentes infecções e dor. É ainda de referir que a aplicação do penso adsorvente foi mantida. Após 14 dias de tratamento o paciente foi reavaliado apresentando melhorias significativas como a presença de tecido de granulação saudável e a diminuição do exsudado no leito da ferida (figura 15) (Wicks, 2009).

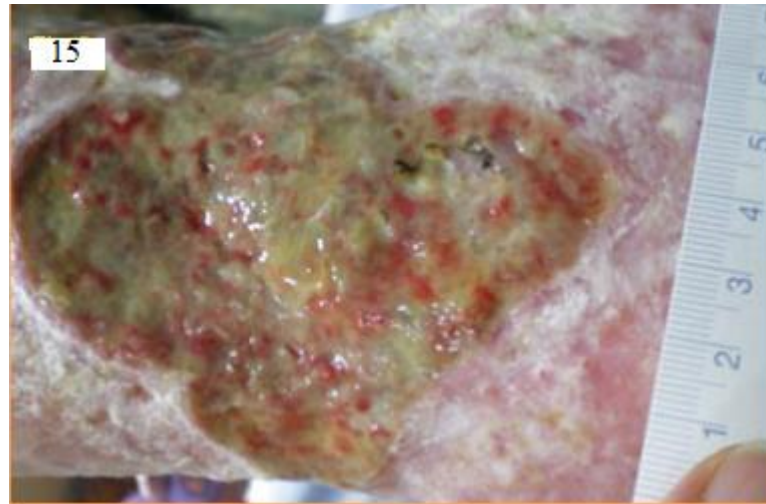


Figura 15- Imagem obtida após 14 dias de tratamento com Suprasorb X + PHMBTM (Wicks, 2009).

Embora as dimensões da ferida não tenham sofrido qualquer alteração é evidente a redução da infecção pelo aspecto evidenciado na figura 15. Durante todo o processo os pensos secundários foram mudados diariamente enquanto o Suprasorb X + PHMBTM sofreu uma mudança a cada três dias (Wicks, 2009).

No final deste tratamento, com duração de quatro semanas, o leito da ferida encontrou-se repleto de tecido de granulação saudável, estando ausente qualquer sinal de infecção. Segundo Wicks (2009), não houve recorrência de infecção nem de dor durante o período de avaliação permitindo ao utente períodos de sono prolongados, não experienciados pelo mesmo em tratamentos anteriores.

Caso 7.

Um Homem, de 47 anos de idade está imobilizado e sob intenso cuidado devido ao seu estado vegetativo permanente. Desenvolveram-se feridas de pressão devido à imobilidade, com posterior colonização por MRSA, mesmo realizando-se a limpeza diária de todo o corpo (Figura 16) (Eberlein, Th., Wild, 2008).

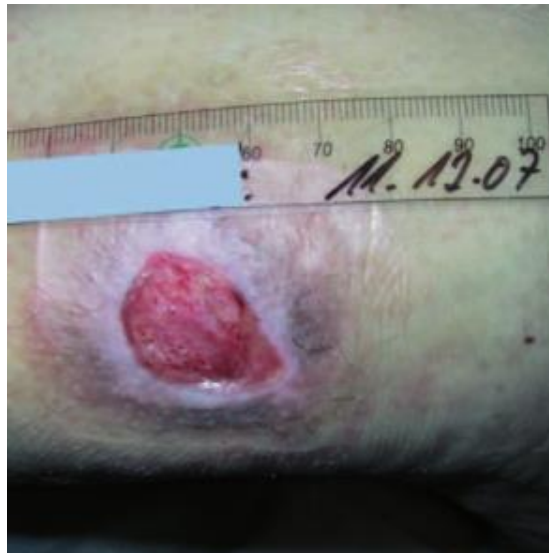


Figura 16- Imagem da ferida anterior ao tratamento com Suprasorb X + PHMBTM (Eberlein, Th., Wild, 2008).

Nesta fase foi instituída uma terapêutica com Suprasorb X + PHMBTM efectuando-se a mudança de penso diária, durante oito dias. (Figura 17) Nos três dias seguintes foram recolhidas amostras e avaliada a contaminação microbiana, sendo que todos os resultados se apresentaram negativos. Desta forma, o tratamento com Suprasorb X + PHMBTM foi considerado eficaz na eliminação de MRSA, permanecendo daí em diante sem qualquer tipo de infecção e com sinais de desenvolvimento tecidual (Eberlein, Th., Wild, 2008).



Figura 17- Imagem da mesma ferida após tratamento com Suprasorb X + PHMBTM (Eberlein, Th., Wild, 2008).

5. Utilização em Portugal

De modo a realizar um estudo objectivando a avaliação do conhecimento e utilização da PHMB em Portugal, foram abordadas várias empresas cuja área comercial assenta em produtos desinfectantes. Para tal, foi recolhida informação junto dos serviços responsáveis do Estádio Universitário de Lisboa (EUL) seguida de pesquisa e contacto das mesmas. Assim sendo, foram contactadas 6 empresas, obtendo-se resposta de 4, das quais apenas uma possui no seu espólio um produto contendo o princípio activo PHMB, denominando-se comercialmente de FUMIFULLTM.

Adicionalmente, foram desenvolvidos dois questionários, disponíveis em anexo, tendo como alvo informação sobre desinfectação em meio Hospitalar e a desinfectação de Piscinas e *Spas*. Assim, um dos questionários foi entregue apenas aos serviços farmacêuticos de várias unidades Hospitalares Portuguesas, pertencendo a estas a total responsabilidade da escolha de qualquer produto a utilizar nas instalações Hospitalares. Do mesmo modo, o outro questionário foi entregue apenas a profissionais responsáveis pelo tratamento de água de instalações diversas como Piscinas Municipais, clubes de natação privados, Ginásios e Hotéis.

De entre as 20 instalações contactadas contendo piscinas, apenas em 8 foi possível a realização do questionário. Os resultados encontram-se discriminados na Tabela 3 presente em anexo, e Figura 18. Torna-se importante referir que a amostra não é muito expressiva, apresentando-se resultados de apenas 8 instalações, contudo os complexos desportivos municipais têm regulamento transversal a todas as instalações pelo que um maior número de questionários a estas não iria reproduzir dados diferentes dos obtidos.

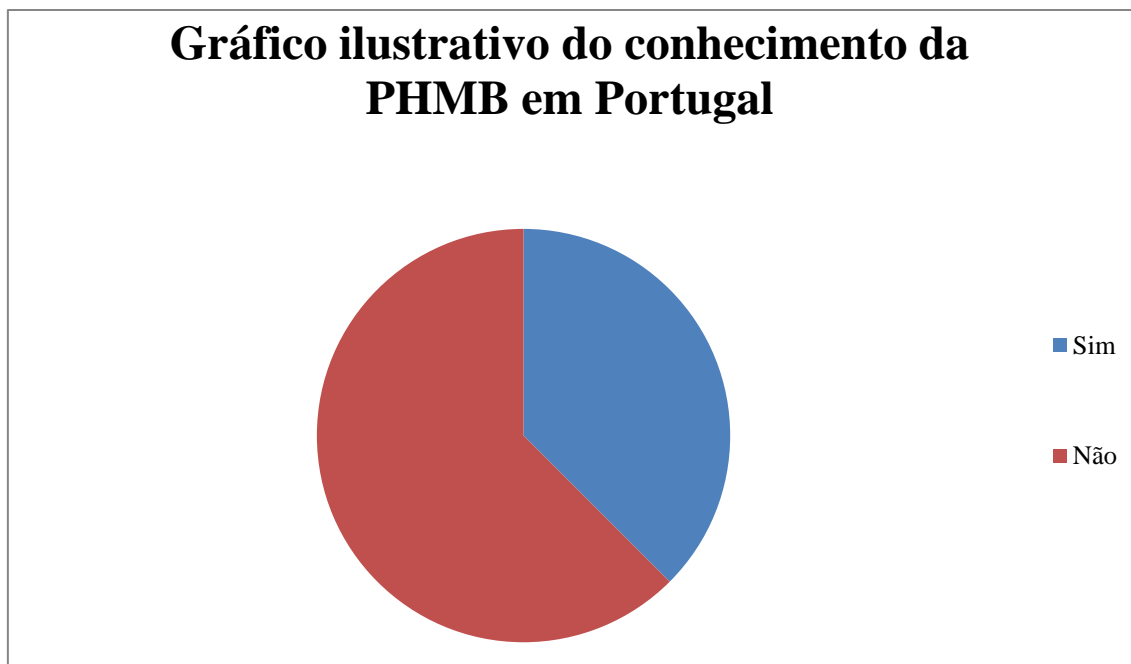


Figura 18 - Conhecimento da PHMB em Portugal entre os profissionais responsáveis pelo tratamento de água de Piscinas e *Spas*.

Aquando da interpretação dos resultados, torna-se claro que todas as instalações indagadas utilizam produtos químicos para tratamento e controlo de água de Piscinas e *Spas*, na sua maioria produtos de cloro e derivados e em nenhum caso é aplicada a PHMB. Através da observação do gráfico na Figura 18, cuja base são os resultados da pergunta 3 do Questionário, é possível constatar que a maioria dos profissionais deste sector desconhece a PHMB, sendo este valor correspondente a 62.5%. Quando questionados sobre este desconhecimento, apontaram a ausência de divulgação e promoção destes produtos por parte de entidades comerciais como a principal razão. Adicionalmente, apenas em um dos casos foram reconhecidas as vantagens da PHMB perante outros compostos disponíveis no mercado.

Estes resultados podem ser, em parte, explicados pela ausência da PHMB no Decreto-lei nº 5/97, correspondente ao Regulamento das Condições Técnicas e de Segurança dos Recintos com Diversões Aquáticas. Segundo o artigo 34º do decreto-lei acima citado, respeitante ao tratamento de água de Piscinas e *Spas*, apenas sistemas de desinfecção com produtos de cloro e derivados, bromo e ozono podem ser utilizados. Neste e na Circular Normativa nº 14/A2009 podem ser consultados todos os procedimentos de avaliação e validação de qualidade da água deste tipo de complexos.

Relativamente ao Meio Hospitalar, foram abordadas 12 instalações obtendo-se resposta a apenas 7, cujos resultados se encontram discriminados na Tabela 4, presente em anexo.

De acordo com o que se verifica em Piscinas e *Spas*, a utilização deste composto em Desinfecção Hospitalar no nosso país, segundo a amostra recolhida, apresentou-se com valor nulo. Segundo estes, os compostos com maior utilização na desinfecção de superfícies são o Álcool e derivados, acompanhados da Clorohexidina para a desinfecção das mãos.

Ainda no âmbito deste questionário, os factores preponderantes aquando da aquisição deste tipo de compostos parecem incidir sobre o custo, toxicidade, espectro de acção e tempo e modo de aplicação. Nesta monografia foi possível averiguar que a PHMB tem um índice toxicológico baixo, que o seu espectro de acção é largo e adequado aos microrganismos comumente encontrados neste ambiente e que o tempo e modo de aplicação não diferem dos seus concorrentes pelo que o custo deve ser considerado um factor preponderante na privação da sua utilização.

Destaque-se que apenas 2 dos serviços abordados possuem conhecimento da existência da PHMB, dados relativos à pergunta 3 do questionário, e apontam o elevado custo, as políticas e comissões de controlo de infecção Hospitalar e a falta de divulgação como as razões centrais para a sua não aplicação.

6. Conclusão

A PHMB tem sido alvo de uma crescente procura em mercados como o dos Estados Unidos da América e Europeu, principalmente em Inglaterra e Alemanha. Este facto é maioritariamente apoiado pelos dados fornecidos pela comunidade científica, que associados a um maior número de formulações disponíveis levam os profissionais clínicos a acreditarem nas propriedades deste composto. Neste trabalho foram estudadas as propriedades da PHMB e concluído que o seu largo espectro de acção, baixo índice toxicológico, eficácia demonstrada em ensaios *in vitro*, ausência de reporte de resistências associado às suas propriedades cicatrizantes fazem deste um anti-séptico de primeira escolha. Adicionalmente, quando comparado com os seus concorrentes directos apresentou não só uma maior eficácia terapêutica como uma melhoria na qualidade de vida do utente, tanto pelo aumento do intervalo na mudança do penso como pela ausência de dor aquando da mesma.

A sua utilização cinge-se a países com grande capacidade económica uma vez que uma terapêutica com PHMB apresenta valores de investimento superiores. Contudo, segundo apurado neste trabalho, existem vários estudos comprovativos da sua relação custo-benefício, baseados na diminuição da morbilidade e conseqüente redução do período de tratamento.

Ainda na componente anti-séptica, será relevante referir que este composto demonstrou actividade antiviral, proporcionando uma alternativa terapêutica válida evitando as conseqüências dos tratamentos invasivos disponíveis.

No que à acção desinfectante diz respeito, este estudo apresentou um conjunto de factores conducentes com a sua larga aplicação nas mais variadas áreas. Na Indústria têxtil, destaque-se a afinidade para com a celulose, a biocompatibilidade com a pele de seres humanos, a sua grande estabilidade ambiental e a não decomposição em produtos tóxicos. Em Desinfecção Hospitalar o espectro de acção, facilidade de manuseamento e ausência de toxicidade favorecem a sua utilização, no entanto o elevado custo e a falta de divulgação parecem estar directamente relacionados com o distinto grau de desconhecimento e a total ausência de aplicação encontradas neste estudo no nosso país.

Contrariamente aos Estados Unidos da América, cuja legalização da PHMB remonta a 1982, Portugal ainda não apresentou nenhuma lei que permita a sua utilização em Piscinas e *Spas*, sendo a lei em vigor correspondente ao Decreto-lei nº 5/97. Neste documento não está presente a PHMB aquando de sistemas desinfetantes não clorados, motivo pelo qual o estudo realizado neste trabalho demonstrou um valor de aplicação nulo. Contudo, este facto não justifica um elevado desconhecimento da PHMB por parte dos responsáveis pelo tratamento de água de complexos desportivos aquáticos. Quando questionados sobre este assunto apontaram a baixa variedade de formulações e fraca divulgação do mesmo como causas para o seu desconhecimento.

Do mesmo modo, empresas com área de trabalho no sector dos desinfetantes apontam a falta de formulações contendo como principio activo a PHMB aos elevados valores de ppm necessários ao processo desinfetante, o que se traduz num aumento do custo de tratamento, relacionado com uma necessidade de associação a outros produtos desinfetantes pela incapacidade perante algas e leveduras. Estes factores conduziram a uma diminuição do investimento por parte dos laboratórios e empresas deste sector em mercados como o Português.

7. Bibliografia

- Abad-Villar, E. M., Etter, S. F., Thiel, M. a., & Hauser, P. C. (2006). Determination of chlorhexidine digluconate and polyhexamethylene biguanide in eye drops by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Analytica Chimica Acta*, 561(1-2), 133–137. doi:10.1016/j.aca.2006.01.023
- Abreu, A. C., Tavares, R. R., Borges, A., Mergulhão, F., & Simões, M. (2013). Current and emergent strategies for disinfection of hospital environments. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 1–15. doi:10.1093/jac/dkt281
- Allen, M. J., Morby, A. P., & White, G. F. (2004). Cooperativity in the binding of the cationic biocide polyhexamethylene biguanide to nucleic acids. *Biochemical and biophysical research communications*, 318(2), 397–404. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.043
- Andrade, R. C. D. E. (2010). Aplicação do dióxido de cloro no tratamento de água para consumo humano: Desinfecção para controle de oocistos de *Cryptosporidium* sp ., Formação de subprodutos e manutenção de residuais desinfectantes em sistemas.
- Ashraf, S., Akhtar, N., Ghauri, M. A., Rajoka, M. I., Khalid, Z. M., & Hussain, I. (2012). Polyhexamethylene biguanide functionalized cationic silver nanoparticles for enhanced antimicrobial activity. *Nanoscale research letters*, 7(1), 267. doi:10.1186/1556-276X-7-267
- Barrett, S., Battacharyya, M., Butcher, M., Enoch, S., Fumarola, S., Gray, D., ... Gill Wicks. (2010). *PHMB and its potential contribution to wound management*.
- Becerro de Bengoa Vallejo, R., Losa Iglesias, M. E., Cervera, L. A., Fernández, D. S., & Prieto, J. P. (2011). Efficacy of intraoperative surgical irrigation with polihexanide and nitrofurazone in reducing bacterial load after nail removal surgery. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 64(2), 328–35. doi:10.1016/j.jaad.2010.01.011
- Behrens-Baumann, W., Seibold, M., Hofmüller, W., Walter, S., Haeberle, H., Wecke, T., ... Tintelnot, K. (2012). Benefit of polyhexamethylene biguanide in Fusarium keratitis. *Ophthalmic research*, 48(4), 171–6. doi:10.1159/000337140
- Bowen, G., Clinical, P., Manager, S., City, P., Pct, T., Spruce, P., & Consulting, T. (2009). An Evaluation of a Foam Dressing Impregnated With 0 . 5 % Polyhexamethylene Biguanide (Phmb) Within the Care Pathway of the Diabetic Foot Ulcer, 2009.
- Bromberg, L., Bromberg, D. J., Hatton, T. A., Bandín, I., Concheiro, A., & Alvarez-Lorenzo, C. (2012). Antiviral properties of polymeric aziridine- and biguanide-modified core-shell magnetic nanoparticles. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 28(9), 4548–58. doi:10.1021/la205127x

- Cranston, R. (2008). Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Textile Research Journal*, 78(1), 60–72. doi:10.1177/0040517507082332
- Dilamian, M., Montazer, M., & Masoumi, J. (2013). Antimicrobial electrospun membranes of chitosan/poly(ethylene oxide) incorporating poly(hexamethylene biguanide) hydrochloride. *Carbohydrate polymers*, 94(1), 364–71. doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.059
- Domingues, P. F. (n.d.). Disciplina:Higiene Zootécnica.
- Eberlein, Th., Wild, T. (n.d.). Approaches to therapy and an outlook on improving the clinical data situation, with a special focus on the polihexanide-containing Suprasorb® X+PHMB HydroBalanced dressing. 2008.
- Elsztein, C., de Lucena, R. M., & de Morais, M. a. (2011). The resistance of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to the biocide polyhexamethylene biguanide: involvement of cell wall integrity pathway and emerging role for YAP1. *BMC molecular biology*, 12(1), 38. doi:10.1186/1471-2199-12-38
- Environmental protection Agency. (2004). *Reregistration Eligibility Decision (RED) for PHMB Reregistration Eligibility Decision for PHMB.*
- European Chemicals Agency(ECHA). (2011). *Polyhexamethylene biguanide or Poly(hexamethylene) biguanide hydrochloride or PHMB* (pp. 1–77).
- Ferrari, G., Matuska, S., & Rama, P. (2011). Double-biguanide therapy for resistant *acanthamoeba keratitis*. *Case reports in ophthalmology*, 2(3), 338–42. doi:10.1159/000334270
- Finger, S., Wiegand, C., Buschmann, H.-J., & Hipler, U.-C. (2012a). Antimicrobial properties of cyclodextrin-antiseptics-complexes determined by microplate laser nephelometry and ATP bioluminescence assay. *International journal of pharmaceutics*, 436(1-2), 851–6. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.07.009
- Finger, S., Wiegand, C., Buschmann, H.-J., & Hipler, U.-C. (2012b). Antimicrobial properties of cyclodextrin-antiseptics-complexes determined by microplate laser nephelometry and ATP bioluminescence assay. *International journal of pharmaceutics*, 436(1-2), 851–6. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.07.009
- Forbes, S., McBain, A. J., Felton-Smith, S., Jowitt, T. a, Birchenough, H. L., & Dobson, C. B. (2013). Comparative surface antimicrobial properties of synthetic biocides and novel human apolipoprotein E derived antimicrobial peptides. *Biomaterials*, 34(22), 5453–64. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.03.087
- Franzin, A. M. (2010). Biguanida Polimérica Versatilidade e Diversificação em um só Produto, 1–11.
- Fumarola S. (2011). Polyhexamethylene biguanide dressings in wound management, 25(46), 63–68.

- Galán, J.-C., González-Candelas, F., Rolain, J.-M., & Cantón, R. (2013). Antibiotics as selectors and accelerators of diversity in the mechanisms of resistance: from the resistome to genetic plasticity in the β -lactamases world. *Frontiers in microbiology*, 4(February), 9. doi:10.3389/fmicb.2013.00009
- Gao, Y., & Cranston, R. (2010a). An Effective Antimicrobial Treatment for Wool Using Polyhexamethylene Biguanide as the Biocide , Part 2 : Further Characterizations of the Fabrics. doi:10.1002/app
- Gao, Y., & Cranston, R. (2010b). An Effective Antimicrobial Treatment for Wool Using Polyhexamethylene Biguanide as the Biocide , Part 1 : Biocide Uptake and Antimicrobial Activity. doi:10.1002/app
- Gao, Y., Yu, X., Pierlot, A. P., Denning, R. J., & Cranston, R. (2011). A simultaneous antimicrobial and shrink resistance treatment of wool woven fabrics using the polymeric biocide polyhexamethylene biguanide. *Journal of Materials Science*, 46(9), 3020–3026. doi:10.1007/s10853-010-5180-2
- Gentile, A., Gerli, S., & Di Renzo, G. C. (2012). A new non-invasive approach based on polyhexamethylene biguanide increases the regression rate of HPV infection. *BMC clinical pathology*, 12(1), 17. doi:10.1186/1472-6890-12-17
- Ghotaslou, R. (2012). *c r v i h o e f c r v i h o e f*, 2(1), 57–59. doi:10.5681/apb.2012.008
- Gilbert, P., Das, J. R., Jones, M. V., & Allison, D. G. (2001). Assessment of resistance towards biocides following the attachment of micro-organisms to, and growth on, surfaces. *Journal of applied microbiology*, 91(2), 248–54. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11473589>
- Gilliver, S. (2009). PHMB: a well-tolerated antiseptic with no reported toxic effects, 10–13.
- Goeres, D. M., Palys, T., Sandel, B. B., & Geiger, J. (2004). Evaluation of disinfectant efficacy against biofilm and suspended bacteria in a laboratory swimming pool model. *Water research*, 38(13), 3103–9. doi:10.1016/j.watres.2004.04.041
- Goethe-universität, K. D. J. W. (1999). In-vitro activity of polyhexamethylene biguanide (PHMB) against fungal isolates associated with infective keratitis, 291–302.
- Gupta, D. (2007). Antimicrobial treatments for textiles, 32(June), 254–263.
- Hales, J. Q. (1996). *J ournal of the S wimming P ool and S pa I ndustry*, 2(1).
- Hedin, G., Rynbäck, J., & Loré, B. (2010). Reduction of bacterial surface contamination in the hospital environment by application of a new product with persistent effect. *The Journal of hospital infection*, 75(2), 112–5. doi:10.1016/j.jhin.2010.02.007

- Irmgard Neumann. (2011). soluções utilizadas para Higiene Oral em Pacientes de Terapia Intensiva.
- Jarroux, N. (2011). Toward a More Accurate Structural Determination of High Molecular Weight Polyrotaxanes Based on Cyclodextrins by MALDI - TOF MS, 1821–1830.
- Kaehn, K. (2010). Polihexanide: a safe and highly effective biocide. *Skin pharmacology and physiology*, 23 Suppl(suppl 1), 7–16. doi:10.1159/000318237
- Kampf, G., & Ostermeyer, C. (2004). Influence of Applied Volume on Efficacy of 3-Minute Surgical Reference Disinfection Method prEN 12791 Influence of Applied Volume on Efficacy of 3-Minute Surgical Reference Disinfection Method prEN 12791, 70(12). doi:10.1128/AEM.70.12.7066
- Kawabata, A., & Taylor, J. A. (2004). Effect of reactive dyes upon the uptake and antibacterial action of poly (hexamethylene biguanide) on cotton . Part 1 : Effect of Coloration Technology, 120, 213–219.
- Kedik, S. A., Bocharova, O. A., An, H. K., Panov, A. V, Sedishev, I. P., Zhavoronok, E. S., ... Beksaev, S. G. (2011). Structure of Chemical compounds, methods of analysis and process control structure and molecular-weight characteristics, 44(10), 568–573.
- Kramer, a, Hübner, N.-O., Assadian, O., & Mulder, G. (2010). Polihexanide-- perspectives on clinical wound antisepsis. *Skin pharmacology and physiology*, 23 Suppl(suppl 1), 1–3. doi:10.1159/000318899
- Krebs, F. C., Miller, S. R., Ferguson, M. L., Labib, M., Rando, R. F., & Wigdahl, B. (2005). Polybiguanides, particularly polyethylene hexamethylene biguanide, have activity against human immunodeficiency virus type 1. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomédecine & pharmacothérapie*, 59(8), 438–45. doi:10.1016/j.biopha.2005.07.007
- Lee, C. K., Chua, Y. P., & Saw, a. (2012). Antimicrobial gauze as a dressing reduces pin site infection: a randomized controlled trial. *Clinical orthopaedics and related research*, 470(2), 610–5. doi:10.1007/s11999-011-1990-z
- Lee, W. R., Tobias, K. M., Bemis, D. a, & Rohrbach, B. W. (2004). In vitro efficacy of a polyhexamethylene biguanide-impregnated gauze dressing against bacteria found in veterinary patients. *Veterinary surgery : VS*, 33(4), 404–11. doi:10.1111/j.1532-950X.2004.04059.x
- Lim, N., Goh, D., Bunce, C., Xing, W., Fraenkel, G., Poole, T. R. G., & Ficker, L. (2008). Comparison of polyhexamethylene biguanide and chlorhexidine as monotherapy agents in the treatment of Acanthamoeba keratitis. *American journal of ophthalmology*, 145(1), 130–5. doi:10.1016/j.ajo.2007.08.040

- Lucas, A. D. (2012). Environmental fate of polyhexamethylene biguanide. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 88(3), 322–5. doi:10.1007/s00128-011-0436-3
- Lucas, A. D., Gordon, E. a, & Stratmeyer, M. E. (2009). Analysis of polyhexamethylene biguanide in multipurpose contact lens solutions. *Talanta*, 80(2), 1016–9. doi:10.1016/j.talanta.2009.07.031
- Mark A. Mitchell, DVM, MS, PhD, 1 Rudy Bauer, DVM, PhD, DACVP, 2 Randy Nehlig, 1 Mary-Claire Holley1Mark A. Mitchell, DVM, MS, PhD, 1 Rudy Bauer, DVM, PhD, DACVP, 2 Randy Nehlig, 1 Mary-Claire Holley1. (2003).Evaluating the efficacy of Baquacil® against Salmonella sp. In the aquatic habitat of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*), 9525(225).
- Marquardt, C., Krohs, U., Bil, E., Schiedeck, T., Paglinawan, R., Simon, M., & Reid, S. (2010). Surgical Site Infections after Median Laparotomy Treated with NPWT and PHMB Gauze, 1547617.
- McBain, a. J. (2013). SP19-1 The role of biofilms in wound management: composition, recalcitrance and in vitro modelling. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42, S21. doi:10.1016/S0924-8579(13)70182-1
- McDonnell, G., & Russell, a D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12(1), 147–79. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=88911&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Meyer, B., & Cookson, B. (2010). Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? *The Journal of hospital infection*, 76(3), 200–5. doi:10.1016/j.jhin.2010.05.020
- Moreira, K. M., Amorim, C. M. S., Coutinho, N. P. S., & Rodrigues, A. S. (2008). Opinião dos profissionais de saúde sobre a lavagem das mãos em uma unidade de terapia intensiva. *Revista do Hospital Universitário/UFMA* 9(2): 9-14, jul-dez, 2008, 51–56.
- Muangman, P., Nitimonton, S., & Aramwit, P. (2011). Comparative Clinical Study of Bactigras and Telfa AMD for Skin Graft Donor-Site Dressing. *International journal of molecular sciences*, 12(8), 5031–8. doi:10.3390/ijms12085031
- Mueller, S. W., & Krebsbach, L. E. (2008). Impact of an antimicrobial-impregnated gauze dressing on surgical site infections including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *American journal of infection control*, 36(9), 651–5. doi:10.1016/j.ajic.2007.12.005
- Müller, G., Koburger, T., & Kramer, A. (2013). Interaction of polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB) with phosphatidylcholine containing o/w emulsion and consequences for microbicidal efficacy and cytotoxicity. *Chemico-biological interactions*, 201(1-3), 58–64. doi:10.1016/j.cbi.2013.01.001

- Müller, G., Kramer, A., Schmitt, J., Harden, D., & Koburger, T. (2011). Reduced cytotoxicity of polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB) by egg phosphatidylcholine while maintaining antimicrobial efficacy. *Chemico-biological interactions*, *190*(2-3), 171–8. doi:10.1016/j.cbi.2011.02.024
- Nascimento, A. P., Maria, J., Tanomaru, G., & Matoba-júnior, F. (2008). Maximum inhibitory dilution of mouthwashes containing chlorhexidine and, *16*(5), 336–339.
- Network, I., & Informatics, M. (2007). The biocide polyhexamethylene biguanide remains an uncommon contact allergen Recent multicentre surveillance data, (4), 235–239.
- Noguchi, E., & Yamamoto, M. (2011). Efficacy of surgical antiseptic handrub containing PHMB. *BMC Proceedings*, *5*(Suppl 6), P270. doi:10.1186/1753-6561-5-S6-P270
- O'Malley, L. P., Collins, A. N., & White, G. F. (2006). Biodegradability of end-groups of the biocide polyhexamethylene biguanide (PHMB) assessed using model compounds. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, *33*(8), 677–84. doi:10.1007/s10295-006-0103-6
- O'Malley, L. P., Hassan, K. Z., Brittan, H., Johnson, N., & Collins, A. N. (2006). Characterization of the biocide polyhexamethylene biguanide by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Applied Polymer Science*, *102*(5), 4928–4936. doi:10.1002/app.24915
- Omali, N. B., Zhao, Z., Zhu, H., Tilia, D., & Willcox, M. D. P. (2013). Quantification of individual proteins in silicone hydrogel contact lens deposits. *Molecular vision*, *19*(February), 390–9. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3580989&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Passic, S. R., Ferguson, M. L., Catalone, B. J., Kish-Catalone, T., Kholodovych, V., Zhu, W., ... Krebs, F. C. (2010). Structure-activity relationships of polybiguanides with activity against human immunodeficiency virus type 1. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomédecine & pharmacothérapie*, *64*(10), 723–32. doi:10.1016/j.biopha.2010.10.001
- Paula, G. F., Netto, G. I., & Mattoso, L. H. C. (2011). Physical and Chemical Characterization of Poly(hexamethylene biguanide) Hydrochloride. *Polymers*, *3*(4), 928–941. doi:10.3390/polym3020928
- Pérez-Santonja, J. J., Kilvington, S., Hughes, R., Tufail, A., Matheson, M., & Dart, J. K. G. (2003). Persistently culture positive acanthamoeba keratitis: in vivo resistance and in vitro sensitivity. *Ophthalmology*, *110*(8), 1593–600. doi:10.1016/S0161-6420(03)00481-0
- Pinto, F., Maillard, J.-Y., Denyer, S. P., & McGeechan, P. (2010). Polyhexamethylene biguanide exposure leads to viral aggregation. *Journal of applied microbiology*, *108*(6), 1880–8. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04596.x

- Pinto, Federica, Maillard, J.-Y., & Denyer, S. P. (2010). Effect of surfactants, temperature, and sonication on the virucidal activity of polyhexamethylene biguanide against the bacteriophage MS2. *American journal of infection control*, 38(5), 393–8. doi:10.1016/j.ajic.2009.08.012
- Rebong, R. a, Santaella, R. M., Goldhagen, B. E., Majka, C. P., Perfect, J. R., Steinbach, W. J., & Afshari, N. a. (2011). Polyhexamethylene biguanide and calcineurin inhibitors as novel antifungal treatments for *Aspergillus keratitis*. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(10), 7309–15. doi:10.1167/iovs.11-7739
- Rosin, M., Welk, a, Bernhardt, O., Ruhnau, M., Pitten, F. a, Kocher, T., & Kramer, a. (2001). Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *Journal of clinical periodontology*, 28(12), 1121–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11737509>
- Roth, B., & Brill, F. H. H. (2010). Polihexanide for wound treatment--how it began. *Skin pharmacology and physiology*, 23 Suppl(suppl 1), 4–6. doi:10.1159/000318236
- Rowhani, T., & Lagalante, A. F. (2007). A colorimetric assay for the determination of polyhexamethylene biguanide in pool and spa water using nickel-nioxime. *Talanta*, 71(2), 964–70. doi:10.1016/j.talanta.2006.07.042
- Russell, a D. (2002). Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. *Symposium series (Society for Applied Microbiology)*, (31), 121S–135S. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12481837>
- Santodomingo-Rubido, J., Mori, O., & Kawaminami, S. (2006). Cytotoxicity and antimicrobial activity of six multipurpose soft contact lens disinfecting solutions. *Ophthalmic & physiological optics : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 26(5), 476–82. doi:10.1111/j.1475-1313.2006.00393.x
- Sattar, S. a. (2004). Microbicides and the environmental control of nosocomial viral infections. *The Journal of hospital infection*, 56 Suppl 2, S64–9. doi:10.1016/j.jhin.2003.12.033
- Sifuentes, L. Y., Gerba, C. P., Weart, I., Engelbrecht, K., & Koenig, D. W. (2013). Microbial contamination of hospital reusable cleaning towels. *American journal of infection control*, 1–4. doi:10.1016/j.ajic.2013.01.015
- Simoncic, B., & Tomsic, B. (2010). Structures of Novel Antimicrobial Agents for Textiles - A Review. *Textile Research Journal*, 80(16), 1721–1737. doi:10.1177/0040517510363193
- Slais, K., Horká, M., & Kubesová, A. (2012). Analytica Chimica Acta Capillary and gel electromigration techniques and MALDI-TOF MS – Suitable tools for identification of filamentous fungi, 716, 155–162. doi:10.1016/j.aca.2011.12.032

- Szczotka-Flynn, L., Ahearn, D. G., Barr, J., Benjamin, W. J., Kiang, T., Nichols, J. J., ... Winterton, L. (2013). 1. History, evolution, and evolving standards of contact lens care. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association*, 36 Suppl 1, S4–8. doi:10.1016/S1367-0484(13)60003-X
- Taylor, P., Jiang, Z., Wang, B., Che, H., & Liu, B. (n.d.). Structural Characterization and Bacteriostatic and Cytotoxicity to 3T3 Cells Study of Oligobiguanidine (Polyhexamethylene Biguanidine Hydrochloride) and its 3-Glycidoxypopyltrimethoxysilane Derivatives Structural Characterization and Bacteriostatic and. 2013, (April 2013), 37–41. doi:10.1080/10601325.2012.722856
- Timmons, J. (2010). PHMB: The role of Kendall, 40–46.
- Turner, N. a, Russell, a D., Furr, J. R., & Lloyd, D. (2004). Resistance, biguanide sorption and biguanide-induced pentose leakage during encystment of *Acanthamoeba castellanii*. *Journal of applied microbiology*, 96(6), 1287–95. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02260.x
- Ulmer, M., Patzelt, a, Vergou, T., Richter, H., Müller, G., Kramer, a, ... Lademann, J. (2013). In vivo investigation of the efficiency of a nanoparticle-emulsion containing polyhexanide on the human skin. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 84(2), 325–9. doi:10.1016/j.ejpb.2012.11.011
- Uyan, Z. S., Carraro, S., Piacentini, G., & Baraldi, E. (2009). Swimming pool, respiratory health, and childhood asthma: should we change our beliefs? *Pediatric pulmonology*, 44(1), 31–7. doi:10.1002/ppul.20947
- Varesano, A., Vineis, C., Aluigi, A., & Rombaldoni, F. (2011). Antimicrobial polymers for textile products, 99–110.
- Wang, L., Han, C., Sui, W., & Wang, M. (2013). MALDI-TOF MS applied to indirect carbapenemase detection : a validated procedure to clearly distinguish between carbapenemase-positive and carbapenemase-negative bacterial strains, 5259–5266. doi:10.1007/s00216-013-6913-2
- Wei, D., Ma, Q., Guan, Y., Hu, F., Zheng, A., Zhang, X., ... Jiang, H. (2009). Structural characterization and antibacterial activity of oligoguanidine (polyhexamethylene guanidine hydrochloride). *Materials Science and Engineering: C*, 29(6), 1776–1780. doi:10.1016/j.msec.2009.02.005
- Wicks, G. (2009). Suprasorb X + PHMB: the clinical evidence, 15–21.
- Widmer, a F. (2013). Surgical hand hygiene: scrub or rub? *The Journal of hospital infection*, 83 Suppl 1, S35–9. doi:10.1016/S0195-6701(13)60008-0
- Windler, L., Height, M., & Nowack, B. (2013). Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications. *Environment international*, 53, 62–73. doi:10.1016/j.envint.2012.12.010

Wojtowicz, J. A. (2004). Sanitizer and Oxidizer Product Information Summaries, 5(1), 20–38.

Zhang, X., Zhu, S., Xiong, Y., Deng, C., & Zhang, X. (2013). Development of a MALDI-TOF MS Strategy for the High-Throughput Analysis of Biomarkers : On-Target Aptamer Immobilization and Angewandte, 6055–6058.
doi:10.1002/anie.201300566

www.clorhexidinefacts.com , consultado a 30- 08- 2013

8.Anexos



Questionário 1

O questionário surge inserido na tese de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas do aluno Francisco Ribeiro Afonso, aluno do Instituto Superior de Ciências de Saúde Egas Moniz, sendo apenas objecto de estudo científico e sem qualquer carácter comercial. Este é dirigido somente a profissionais que trabalhem em desinfecção e tratamento de água de piscinas e *spas*.

1. Utiliza algum tipo de tratamento Químico na Piscina ou *Spa*?

Sim

Não

2. Se sim, qual o tratamento que utiliza?

Hipoclorito de Sódio

Bromo

Oxigénio activo

Outro

3. Conhece a Polihexametileno Biguanida (PHMB), exemplo comercial - BaquacilTM?

Sim

Não

4. Se sim, reconhece alguma das seguintes situações como vantagem relativamente a outros produtos disponíveis no mercado?

Administração semanal

Não irritante ocular e dérmico

Sem alteração por exposição solar

Sem alteração com matéria orgânica

Sem alteração por variação temperatura

Sem alteração por variação pH

5. No seu caso, que conhece o composto- PHMB, qual a razão pela qual justificaria a não utilização do mesmo?



Questionário 2

O questionário surge inserido na tese de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas do aluno Francisco Ribeiro Afonso, aluno do Instituto Superior de Ciências de Saúde Egas Moniz, sendo apenas objecto de estudo científico e sem qualquer carácter comercial. Este é dirigido somente a profissionais de saúde integrados em Hospitais tanto públicos como privados.

1. No processo de Desinfecção Hospitalar utiliza produtos químicos?

Sim

Não

2. Se sim, quais os produtos mais utilizados?

Álcool e derivados

Cloroheixidina

Compostos Fenólicos

Cloro orgânico ou inorgânico

Compostos de Amónio Quaternário

Outros

Se outros:

3. Conhece a Polihexametileno Biguanida (PHMB), exemplo comercial - Vantocil™?

Sim

Não

4. Aquando da aquisição deste tipo de produtos quais os parâmetros mais relevantes?

Custo

Espectro de acção

Toxicidade

Tempo e modo de aplicação

Outros

Se outros:

5. Conhecendo o composto PHMB, aponta alguma razão para a não utilização do mesmo?

Questionário para Avaliação da PHMB em Piscinas e Spas					
Questionários	Pergunta 1	Pergunta 2	Pergunta 3	Pergunta 4	Pergunta 5
I	Sim	Hipoclorito de Sódio	Não	-	-
II	Sim	Hipoclorito de Sódio	Não	-	-
III	Sim	Hipoclorido de Sódio e Bromo	Sim	-	Não faz parte dos desinfetantes não clorados definidos no decreto de lei nº 5/97
IV	Sim	Hipoclorito de Sódio	Não	-	-
V	Sim	Hipoclorito de Sódio e Bromo	Não	-	-
VI	Sim	Outro: Tricloro	Não	-	-
VII	Sim	Outros: Hipoclorito de cálcio, Dicloroisocianúrico, Tricloroisocianúrico	Sim	-	Não suporta cargas bacterianas elevadas e leveduras
VIII	Sim	Hipoclorito de sódio; Oxigénio Activo	Sim	Sem alteração por exposição solar, pH e matéria orgânica; Não irritante dérmico e ocular:	Preço

Resultados dos questionários para avaliação da PHMB em Piscinas e *Spas*. Pergunta 1- Utiliza algum tipo de tratamento Químico na Piscina ou *Spa*?; Pergunta 2- Se sim, qual o tratamento que utiliza?; Pergunta 3- Conhece a Polihexametileno Biguanida (PHMB), exemplo comercial - BaquacilTM?; Pergunta 4- Se sim, reconhece alguma das seguintes situações como vantagem relativamente a outros produtos disponíveis no mercado?; Pergunta 5- No seu caso, que conhece o composto- PHMB, qual a razão pela qual justificaria a não utilização do mesmo?

Questionário para avaliação da PHMB em Meio Hospitalar					
Questionário	Pergunta 1	Pergunta 2	Pergunta 3	Pergunta 4	Pergunta 5
I	Sim	Álcool e derivados;Clorohexidina; Cloro e derivados; Amónio quaternário	Não	-	-
II	Sim	Álcool e derivados;Clorohexidina; Amónio quaternário	Não	-	-
III	Sim	Álcool e derivados;Clorohexidina; Cloro e derivados; Amónio quaternário	Sim	Espectro de acção; Tempo e modo de aplicação	Custo, Políticas e comissões de controlo de infecção Hospitalar
IV	Sim	Álcool e derivados;Clorohexidina; Cloro e derivados; Amónio quaternário	Sim	Custo, Toxicidade; Espectro de acção; Tempo e	A não divulgação em acções de formação

				modo de aplicação	na área da desinfeção
V	Sim	Álcool e derivados	Não	Custo, Toxicidade; Espectro de acção; Tempo e modo de aplicação	-
VI	Sim	Álcool e derivados; Cloro e derivados; Clorohexidina;	Não	Custo, Toxicidade; Espectro de acção;	-
VII	Sim	Álcool e derivados; Clorohexidina; Cloro e derivados	Não	Custo, Toxicidade; Espectro de acção; Tempo e modo de aplicação	-

Resultados dos questionários para avaliação da PHMB em Meio Hospitalar. Pergunta 1- No processo de Desinfeção Hospitalar utiliza produtos químicos?; Pergunta 2- Se sim, quais os produtos mais utilizados?; Pergunta 3- Conhece a Polihexametileno Biguanida (PHMB), exemplo comercial - VantocilTM?; Pergunta 4- Aquando da aquisição deste tipo de produtos quais os parâmetros mais relevantes?; Pergunta 5- Conhecendo o composto PHMB, aponta alguma razão para a não utilização do mesmo?

