



Ivelina da Silva

Infecção hospitalar: resistência a antibióticos

dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia realizada sob a orientação científica do Prof. Doutor António Carlos Matias Correia, Professor Associado com agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

o júri

Presidente: Prof. Doutor Fernando Gonçalves, professor associado com agregação da Universidade de Aveiro

Vogais: Prof. Doutor António Carlos Matias Correia, professor associado com agregação da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso, professora auxiliar da Universidade de Aveiro

Doutora Cláudia Sofia Soares de Oliveira, investigadora do CESAM

agradecimentos

A Deus, pela orientação que me deu na escolha e realização deste mestrado.

Ao Prof. Doutor António Correia, orientador desta dissertação, pelo seu apoio, disponibilidade e incentivo.

Ao Carlos, pelo seu apoio e presença constante.

Ao André, pela sua atenção, paciência e carinho.

Aos investigadores do laboratório de microbiologia que, directa e indirectamente, contribuíram para a introdução ao trabalho prático, pela sua disponibilidade, simpatia e recepção no grupo.

A Rui Silva, bibliotecário do Hospital Pedro Hispano, pela sua disponibilidade, simpatia e competência.

À minha família, pelo incentivo à continuação dos meus estudos.

resumo

A infecção hospital é um problema relevante e de grande impacto económico. Associado a este problema, surge a crescente resistência bacteriana a antibióticos. A disseminação da resistência e o alargamento do seu espectro são em parte consequência do abuso da antibioterapia quer na comunidade, quer no meio hospitalar. A melhor estratégia de combate à resistência é uma boa política de prescrição e uso dos antibióticos. Os antibióticos devem ser usados somente quando necessários e o seu consumo para finalidades que excluem o tratamento de doenças infecciosas deve ser evitado. São diversos os mecanismos através dos quais as bactérias desenvolvem resistências a antibióticos. Em princípio, em relação a qualquer antibiótico lançado de novo poderá a curto prazo surgir resistência bacteriana.

Resultando muitas vezes de processos básicos da célula, os processos moleculares subjacentes à resistência têm evoluído devido à pressão selectiva resultante do abuso da antibioterapia. Por outro lado, as bactérias intervêm em processos diversos de transferência de informação genética, o que permite a disseminação da resistência entre organismos da mesma espécie e de espécies diferentes. O ambiente hospitalar é por isso um ambiente particularmente favorável à evolução das características de resistência a todo o tipo de agentes antibacterianos.

Está a aumentar o destaque dado à necessidade da descontaminação do meio físico que rodeia o doente de forma a impedir a propagação de espécies que desenvolvem resistências múltiplas como é o caso *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* e outros microrganismos nosocomiais. As estratégias de prevenção e controle da infecção hospitalar têm sido revistas.

Procedimentos como o despiste precoce da infecção, o isolamento do doente, e o uso prudente de antibióticos são, em conjunto, estratégias importantes no controle e na prevenção de infecção nosocomial. As mãos adquirem regularmente os agentes bacterianos, mesmo que o contacto seja com superfícies limpas. Uma boa prática no controle da infecção implica a conformidade com as recomendações para uma correcta higiene das mãos. Embora a higiene eficaz das mãos possa minimizar esta contaminação, as áreas do ambiente hospitalar necessitam de uma higiene e descontaminação mais eficaz. A descontaminação convencional pode ser inadequada porque o contacto entre superfícies e detergente ou desinfectante é inadequado. Os doentes internados são cada vez mais vulneráveis à infecção e muitas bactérias podem persistir por períodos prolongados em superfícies inanimadas.

abstract

Hospital infection is a tremendous problem with a colossal economic impact. Associated to this problem, bacterial resistance to antibiotics is increasing. Both dissemination of resistance and the widening of its spectre are in part a consequence of the abuse of antibiotherapy to eliminate pathogens, in the community or in hospital environments. The best strategy to combat resistance is a judicious policy of prescription and use of antibiotics. The antibiotics should only be used when necessary and its consumption for purposes that exclude the treatment of infectious illnesses must be prevented. Diverse mechanisms are involved in the development of resistance. It is expected for any new antibiotic that bacterial resistance will emerge soon or later. Resulting many times of basic processes of the cell, the underlying molecular processes of resistance have evolved due to selective pressure resultant of antibiotherapy abuse. On the other hand, bacteria intervene in diverse processes of transference of genetic information, what then allows dissemination of resistance between organisms of the same or different species. The hospital environment is therefore an environment particularly favourable to evolution of resistance characteristics to all kinds of antibacterial agents. These facts emphasize the need of decontamination of the environment surrounding hospitalized patients.

Important to avoid is the propagation of species that develop multiple resistances as is the case of *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* and other nosocomial micro-organisms. The strategies of prevention and control of the hospital infections must be permanently under revision. Procedures as precocious avoidance of infection, isolation of patients, and the cautious antibiotic use are, all together, are important strategies in the control and the prevention of nosocomial infection. The hands of hospital personnel are particularly critical because they acquire bacterial agents regularly by simple contact with clean surfaces. A good practice in control of the infection implies conformity with the recommendations for correct hygiene of the hands. Although the efficient hygiene of the hands can minimize contamination, the areas of the hospital environment need a hygiene and more efficient decontamination. The conventional decontamination can be inadequate because the contact between surfaces and antiseptic detergent is inadequate. Hospitalized patients are often very vulnerable to infection and many bacteria can persist for prolonged periods in inanimate surfaces.

ÍNDICE

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. INFECÇÃO HOSPITALAR.....	7
2.1 Definição de infecção hospitalar.....	7
2.2 Agentes infecciosos.....	8
2.2.1 Incidência e prevalência da infecção hospitalar.....	9
2.2.2 Iniciativas europeias sobre o problema da infecção hospitalar	10
2.3 Processos de transmissão na infecção hospitalar.....	16
2.3.1. Isolamento de doentes e precauções.....	18
2.4 Susceptibilidade dos doentes.....	23
3. ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIAS.....	26
3.1 Estrutura química de antibacterianos.....	29
3.1.1.Os beta-lactâmicos.....	30
3.1.2 Os glicopeptídicos.....	32
3.1.3 Os carbapenemos.....	33
3.1.4 As tetraciclinas.....	34
3.1.5 Os macrólidos.....	35
3.1.6 As quinolonas.....	36
3.1.7 As estreptograminas.....	36
3.1.8 As oxazolidinonas.....	37
3.1.9 Os aminoglicosídeos.....	38
3.1.10 O cloranfenicol.....	38
3.1.11 As sulfonamidas e as suas associações.....	39
3.1.12 Outros antibióticos.....	39
3.2 Mecanismos de acção de antibacterianos.....	40

3.2.1. Antibióticos anti-parietais.....	46
3.2.1.1 Antibióticos que actuam na fase citoplasmática.....	47
3.2.1.2 Antibióticos que actuam na fase membrana.....	47
3.2.1.3 Antibióticos que actuam na fase parietal.....	47
3.2.2 Antibióticos membrano-activos.....	48
3.2.3 Antibióticos inibidores da síntese protéica.....	48
3.2.4 Antibióticos inibidores da síntese de ácidos nucleicos.....	48
3.2.5 Antibióticos anti-metabolitos.....	48
3.2.6 Nitrofuranos.....	49
3.3 Mecanismos gerais de resistência.....	49
3.3.1 Mecanismos de resistência.....	50
3.3.1.1 Alteração no local alvo.....	50
3.3.1.2 Diminuição da permeabilidade da membrana.....	51
3.3.1.3 Inactivação do antibiótico pela produção de enzimas de inactivação.....	51
3.3.1.4 Activação da bomba de efluxo.....	52
3.4 Transferência genética de resistência bacteriana.....	56
3.4.1 Mecanismos intrínsecos de resistência.....	57
3.4.2 Resistências adquiridas.....	57
4. DOIS GÉNEROS BACTERIANOS RELEVANTES.....	59
4.1 Bactérias do género <i>Acinetobacter</i>.....	59
4.1.1 Taxonomia.....	59
4.1.2 Caracteres bacteriológicos.....	61
4.1.3 Metodologias para identificação.....	62
4.1.4 Habitat.....	64
4.1.5 Papel na infecção hospitalar.....	65
4.1.6 Poder patogénico.....	67
4.1.7 Factores de virulência.....	68
4.1.8 Resistência aos antibióticos.....	69

4.1.9 Resistência aos antissépticos e desinfetantes.....	71
4.1.10 Tratamento.....	72
4.2 Bactérias do género <i>Staphylococcus</i>.....	77
4.2.1 Características gerais.....	77
4.2.2 Metodologias para identificação.....	78
4.2.3 Papel na infecção hospitalar.....	79
4.2.4 Poder patogénico.....	82
4.2.5 Resistência aos antibióticos.....	83
4.2.6 Resistência aos antissépticos e desinfetantes.....	87
4.2.7 Tratamento.....	87
5. CONTROLE DA INFECÇÃO HOSPITALAR E DA DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA.....	90
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da eritromicina B, metilina, tetraciclina e cefalosporina.....	30
Figura 2. Estrutura química das penicilinas.....	30
Figura 3. Estrutura química das cefalosporinas.....	31
Figura 4. Estrutura química da vancomicina.....	33
Figura 5. Estrutura química da doxiciclina.....	35
Figura 6. Estrutura química da eritromicina.....	35
Figura 7. Estrutura química da quinupristina, dalfopristina, ciprofloxacina e moxifloxacina.....	37
Figura 8. Estrutura química da estreptomicina.....	38
Figura 9. Estrutura química do cloranfenicol.....	39
Figura 10. Estrutura da célula bacteriana.....	45
Figura 11. Síntese do peptidoglicano.....	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Microrganismos resistentes vigiados nos países europeus.....	14
Tabela 2. Vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos em medicina humana nos países europeus.....	15
Tabela 3. Relação entre as entre os tipos de isolamento, a utilização de equipamento de protecção individual (EPI) e o espaço físico.....	22
Tabela 4. Mecanismos de resistência aos antibióticos.....	52

1. INTRODUÇÃO

A infecção hospitalar ou infecção nosocomial não torna resistentes os microrganismos que estão na sua etiologia. Os conhecimentos existentes têm-se demonstrado actualmente insuficientes para prevenir ou impedir a propagação da resistência aos antibióticos e os surtos de infecção hospitalar.

Para desenvolver uma estratégia a longo prazo contra a resistência aos antibióticos é essencial conhecer melhor a evolução da resistência/infecção hospitalar, os mecanismos de resistência subjacentes a estes fenómenos, as medidas de combate aos microrganismos, os profissionais e organismos envolvidos e os adjuvantes à proliferação dos microrganismos hospitalares.

Segundo critérios do Centers for Diseases Control and Prevention (CDC, Estados Unidos da América) “infecção nosocomial é uma situação localizada ou sistémica que resulta de uma reacção adversa da presença de agente(s) infeccioso(s) ou a(s) sua(s) toxina(s) e que não estava presente ou em incubação na altura da admissão no hospital.”

A prevalência e incidência dos agentes infecciosos nas instituições de saúde diferem de instituição para instituição dentro da mesma cidade ou do mesmo país. Há no entanto agentes e multi-resistências comuns em todo o mundo. Em Outubro de 1978, William E. Scheckler (presidente desde 2001 da Society for Healthcare Epidemiology of América) sugeriu ao CDC a elaboração de guias para prevenção e controle das principais infecções hospitalares, que deveriam ter bases científicas adaptadas à especificidade de cada instituição. Embora esta recomendação fosse referendada pela Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) de 1978, só “a partir de 1990, foi criado o Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee que elaborou guias baseados em evidências científicas” (Scheckler, 2002).

O Projecto HELICS é uma iniciativa Europeia para criação de redes de registo de infecção nosocomial nomeadamente nas unidades de cuidados intensivos (UCIs) e no doente cirúrgico. Uniformiza critérios para definições de infecção, dados a recolher, a sua

validação e garantia de qualidade, de forma a criar as condições para a comparabilidade dos dados a nível de cada país e entre os países europeus.

Na prática clínica, desde a década de 40 em que foi introduzida a antibioterapia, foi reconhecida a possibilidade dos microrganismos desenvolverem resistência aos antibióticos com o aparecimento das estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA).

A evolução da resistência bacteriana tornou-se um problema recorrente em meio clínico. Estar atento à terapêutica antibiótica inapropriada, internamentos prolongados, procedimentos invasivos de tratamento e diagnóstico e antecedentes clínicos dos doentes poderão permitir travar a evolução da resistência bacteriana.

O conhecimento do fenómeno da resistência a agentes físicos e químicos entre os microrganismos data do início da era microbiana (Wright, 2007). Ao observarem que em culturas de tripanossomas africanos tratados com arsénico e alguns tipos de corantes havia a sobrevivência de alguns exemplares da mesma população microbiana, Ehrlich e seus colaboradores Franke e Roehl em 1905, descobriram o fenómeno da resistência (Tavares, 2000). Descreveram infecções por tripanossomas tratadas com doses baixas de arsenicais e verificaram que um novo tratamento falhava porque os tripanossomas tinham desenvolvido resistência passando a ser hereditária.

O uso clínico de sulfonamidas em 1933 e da penicilina em 1941 levou à constatação de que a resistência bacteriana aos microrganismos podia ser uma característica intrínseca das espécies de bactérias ou adquirida por estirpes individuais dentro de uma população sensível.

Em 1928, Fleming descobriu a *Penicilium notatum*, um fungo produtor de uma substância anti – *Staphylococcus* a que chamou penicilina (Sousa, 2001).

Foi Fleming, em 1929 o primeiro observador da resistência natural de microrganismos aos antibióticos descrevendo que bactérias do grupo coli-tifóide e a *Pseudomonas aeruginosa* não eram inibidas pelo antibiótico (Tavares, 2000). A causa desta resistência natural foi

verificada por Abraham e Chain que em 1940 demonstraram em isolados de *E. coli* uma enzima capaz de destruir a acção da penicilina, a qual denominaram penicilinase (Sousa, 2001). A difusão do uso clínico da penicilina permitiu concluir que entre microrganismos sensíveis ao antibiótico havia exemplares resistentes sendo verificado por Kirby, em 1944, que alguns *S.aureus* isolados de material clínico se mostravam resistentes à penicilina devido à produção de penicilinase. Em 1946 nos Estados Unidos da América (EUA), cerca de 5% de *Staphylococcus* isolados de doentes ou portadores eram resistentes à penicilina. Em 1949 esta resistência podia ser notada em 29% dos microrganismos isolados em hospitais norte-americanos; em 1950 atingia 50% e em 1959 atingia cerca de 80% (Tavares, 2000). Admitindo que os microrganismos produtores de antibióticos existentes no meio ambiente apresentam mecanismos de defesa codificados geneticamente, considera-se que além da mutação por factores de pressão externos a origem da resistência adquirida em bactérias e fungos causadores de infecção no homem esteja relacionada com a transferência de genes de resistência presentes nos microrganismos (Tavares, 2000).

Desta forma, a existência de determinantes de resistência transferíveis entre os microrganismos é anterior à utilização de antibióticos na terapêutica. São igualmente indicativos deste facto o isolamento de exemplares de *E. coli* resistentes das fezes de pessoas vivendo em comunidades primitivas e que nunca receberam antibióticos; e a demonstração de genes de resistência em bactérias isoladas de doentes antes da introdução dos antibióticos (Tavares, 2000).

Uma das formas de resistência aos antibióticos é consequência da deslocação de características genéticas de resistência entre bactérias da mesma ou de diferentes espécies. A utilização repetida de um antibiótico permite essa forma de resistência e por esse motivo novos antibióticos foram desenvolvidos para contornar a resistência. Os agentes que constituem a comunidade hospitalar entram em contacto com os antibióticos de forma contínua e frequente devido a casos de prescrição não fundamentada dos antibióticos. Esta insistência facilita o desenvolvimento de resistências e consequentemente inabilita a actuação do antibiótico (Tavares, 2000).

Actualmente verificam-se consequências do uso abusivo dos antibióticos. O seu uso excessivo e inadequado na medicina humana, veterinária e na agricultura contribui para o aumento rápido aumento da prevalência de microrganismos resistentes. Vários antibióticos são compostos químicos estáveis que não são destruídos no metabolismo corporal e continuam activos durante muito tempo depois de excretados dando um contributo considerável ao problema crescente das substâncias médicas activas que circulam no ambiente (Lönnroth, 2002).

A necessidade do desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento eficaz de infecções bacterianas tornou-se portanto uma realidade devido aos crescentes casos de resistência. A situação poderá agravar-se se não forem tomadas medidas preventivas e é por isso inevitável que os novos medicamentos sejam utilizados mais restritivamente por razões de doença clinicamente documentadas.

A combinação de doentes imunodeprimidos, com internamentos prolongados sujeitos a procedimentos de diagnóstico e tratamento invasivos, tem levado a um aumento das infecções nosocomiais com microrganismos altamente resistentes, que incluem, nomeadamente, as espécies bacterianas *Acinetobacter baumannii* e o *S.aureus* resistente à meticilina (MRSA) (Wright, 2007).

S.aureus causa inúmeras infecções e colonizações no Homem e mais de 30% da população é portador assintomático. A capacidade do MRSA causar surtos epidémicos prolongados está relacionada com o meio hospitalar que rodeia o doente. MRSA torna-se patogénico em indivíduos imuno-comprometidos em internamentos hospitalares e os focos de contaminação encontrados são peças como tesouras, bips canetas, esfregões, puxadores das portas, camas, mesas, parapeitos de janelas, cortinas, colchões e cadeiras. Vários estudos demonstram que MRSA pode sobreviver em superfícies até 7 meses (Kramer, 2006).

Dentro do género *Acinetobacter*, *A.baumannii* é a principal espécie associada a casos de infecção hospitalar. Pode considerar-se um dos principais responsáveis pela taxa de mortalidade hospitalar pela sua capacidade em colonizar doentes submetidos a técnicas invasivas no entanto, *Acinetobacter* é um microrganismo de baixa virulência, que existe no

indivíduo saudável e no ambiente sendo por isso considerado um microrganismo oportunista (Wright, 2007). Isolados de *Acinetobacter* têm características únicas entre as bactérias Gram-negativas nosocomiais que favorecem sua persistência no ambiente hospitalar: são resistentes à acção de vários antibióticos, transmitem-se facilmente de um doente para outro e persistem no ambiente por longos períodos, que poderá ser de 5 meses. Estes factos poderão explicar a sua capacidade em causar surtos epidémicos prolongados (Kramer, 2006). No entanto, um estudo realizado em 2003 por Martró publicado no *Journal of Hospital Infection* demonstra a sensibilidade do microrganismo a vários desinfectantes e antissépticos hospitalares actualmente utilizados (Martró, 2003).

Do mesmo modo, as instalações de cuidados de saúde e domicílio para o idoso estão a tornar-se locais propícios à propagação bacteriana. O idoso tem internamentos recorrentes nos hospitais e risco elevado de contrair agentes infecciosos. A recorrência de internamentos e regresso a domicílios onde permanecem idosos em condições de imunodepressão, escassos cuidados de saúde e nutrição, favorece a cultura de microrganismos. Nos grupos de risco incluem-se também as crianças devido ao uso repetido de antibióticos para tratamento de infecções recorrentes.

O controle da infecção hospitalar representa custos sociais significativos na economia do país. A investigação dos factores intervenientes na propagação da infecção hospitalar proporciona lucros relevantes às instituições pelo que o investimento nesse âmbito é relevante. É neste contexto que fundamento o presente trabalho: os custos preventivos referem-se aos consumos necessários para reduzir a ocorrência de infecções hospitalares. Inclui a remuneração dos profissionais de saúde envolvidos no tratamento do doente, os gastos com a padronização de condutas, a formação na área da infecção hospitalar, a racionalização e selecção de materiais de isolamento e soluções de limpeza e desinfecção. No entanto a representatividade económica do tratamento das infecções hospitalares é superior aos custos de prevenção e com base nesses cálculos o investimento nesta área é uma parcela orçamental para a área da saúde de extrema relevância na economia nacional. O custo directo das infecções hospitalares é dispendido no diagnóstico e tratamento do doente que adquire a infecção, inclui internamento adicional, novos exames laboratoriais ou imagiológicos, a remuneração dos profissionais de saúde, os gastos com material de

isolamento, medicação e alimentação. Actualmente, o custo médio do desenvolvimento de um novo fármaco está da ordem dos 500 milhões de euros e os incentivos industriais parecem insuficientes na transposição suficientemente rápida desta barreira para garantir o acesso continuado a medicamentos anti-infecciosos eficazes (Lönnroth, 2002).

A vigilância epidemiológica da resistência aos antibióticos nos microrganismos é uma componente essencial da estratégia. O consumo de antibióticos deve ser controlado e relacionado tanto com os dados da resistência como com os resultados clínicos. A padronização de condutas, a formação na área da infecção hospitalar, a racionalização, a selecção de materiais de isolamento e a monitorização da utilização de soluções de limpeza e desinfecção deve ser uma prioridade.

Os mecanismos de combate à resistência aos antibióticos devem ser atingíveis e reais para todos os profissionais de saúde porque todos estão envolvidos. Devem assentar na elaboração de uma abordagem integrada que possa explorar igualmente as várias estratégias intra-institucionais.

O problema da resistência aos antibióticos e da infecção hospitalar é portanto verdadeiramente multifacetado e traz consigo uma série de consequências sociais, económicas e políticas. O presente trabalho tem como objectivo geral expô-las e relacioná-las desenvolvendo dois agentes patogénicos de infecção hospitalar oportunistas, resistentes a vários antibióticos – *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus* de forma a adequar comportamentos assertivos e lançar questões para a realização de novos estudos.

2. INFECÇÃO HOSPITALAR

As manifestações clínicas da infecção hospitalar são: a bacteriemia (a bactéria entra na circulação na corrente sanguínea e linfática e propaga-se se por todo o organismo podendo levar o microrganismo a qualquer órgão e provocar a infecção); a septissémia ou sépsis (há fixação da bactéria no sistema circulatório); os abscessos provocados por bacteriemia; os furúnculos (a bactéria aloja-se no folículo sebáceo); o empiema (há acumulação de pús numa cavidade fechada); as infecções da mucosa como otites, amigdalites, conjuntivites e outras; a intoxicação alimentar; a osteomielite e artrites (reumática ou traumática; a pneumonia pós-operatória ou pós infecção respiratória viral e a morte (Souza, 2005).

2.1 Definição de infecção hospitalar

Infecção nosocomial ou hospitalar é “uma infecção adquirida após o internamento, que se manifesta durante o internamento ou após a alta. Há relação com intervenções hospitalares de diagnóstico ou de tratamento quando, na mesma topografia em que foi diagnosticada infecção comunitária, foi isolado um microrganismo diferente, seguido do agravamento das condições clínicas do doente” (Boas, 2004).

De acordo com esta definição, será considerada infecção hospitalar quando se verifique uma destas condições:

- A manifestação clínica de infecção apresenta-se a partir de 72 horas após a admissão hospitalar, antes de ser conhecido o período de incubação do microrganismo e sem evidência clínica ou dado laboratorial de infecção no momento do internamento (Boas, 2004).
- A manifestação clínica de infecção surge dentro das primeiras 72 horas de internamento, quando associada a procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos realizados durante esse período (Boas, 2004).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, Brasil) a definição de infecção hospitalar ou nosocomial é “... aquela adquirida após a admissão do doente e que

se manifeste durante o internamento ou após a alta, quando puder ser relacionada com o internamento e/ou com os procedimentos hospitalares”.

Considerando a infecção nosocomial como sendo "aquela que não está presente ou em incubação na altura em que o doente é admitido no hospital, mas se desenvolve após a sua admissão" segundo a Comissão de Infecção do Hospital São José em Lisboa, conclui-se que a ocorrência de infecção hospitalar aumenta com o tempo de internamento e/ou implica o aumento do tempo de internamento por manifestação de infecção ou a necessidade de re-internamento por consequência da infecção hospitalar.

2.2 Agentes infecciosos

Em Portugal, uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) possui profissionais habilitados a conhecer a prevalência e incidência dos microrganismos na instituição de saúde. Após detectar casos de infecção hospitalar, seguindo critérios de diagnósticos previamente estabelecidos deve elaborar normas de padronização para que os procedimentos realizados na instituição sigam um padrão de conduta. Com esses resultados realiza controle da prescrição de antibióticos, recomenda as medidas de isolamento, oferece apoio técnico à administração hospitalar para a aquisição de materiais e equipamentos e colabora na formação dos profissionais da saúde na prevenção e controle da infecção hospitalar.

A vigilância das infecções hospitalares deve ser definida em cada hospital com uma série de actividades planeadas e fundamentadas com a finalidade de identificar casos de infecção hospitalar determinando a topologia e os factores de risco da ocorrência.

O nome, idade, sexo, número de processo hospitalar, serviço, cama e dia de admissão do doente são dados identificativos essenciais para o seguimento do estudo. A data da infecção, o local, os factores de risco, o agente e os estudos de sensibilidade do microrganismo completam a informação. A partir da colheita de dados e do seu registo numa base de dados poder-se-á completar o estudo de prevalência e incidência e daí retirar informação que possa ser utilizada na prevenção de surtos epidémicos (Fernandes, 2000).

Nalguns hospitais o controle de infecção está vinculado ao laboratório. Os casos suspeitos são discutidos, são pedidos exames microbiológicos e são determinadas as condutas face aos resultados. A equipa da CCIH discute os resultados dos exames laboratoriais com técnicos de microbiologia e as informações são complementadas com visitas aos doentes sendo posteriormente notificados os casos de infecção hospitalar e os factores de risco aos profissionais de saúde (Fernandes, 2000).

2.2.1 Incidência e prevalência da infecção hospitalar

“As infecções são o resultado da interacção entre o homem e a sua microbiota...” (Fernandes, 2000), com os factores de risco inerentes ao doente, ao ambiente e as técnicas de diagnóstico e tratamento.

O processo de vigilância escolhido e a população a ser estudada determina a obtenção dos indicadores de infecção hospitalar e reflecte a inter-relação entre o doente exposto e o doente afectado dentro do ambiente. A partir daí poder-se-ão implementar medidas que como já referido variam de instituição para instituição. A incidência é o número de novos casos numa população definida num período de tempo definido; a prevalência fornece o número de casos existentes numa população num período de tempo definido.

Pretende-se que a informação recolhida nos estudos de prevalência e incidência estimule a monitorização da infecção hospitalar, criando indicadores locais úteis para a comparação e identificação de problemas, como a resistência aos antibióticos, agentes microbianos problema, perfil de consumo de antibióticos. A recolha, depuração e validação dos dados e a análise dos resultados, permite a apresentação e discussão dos mesmos.

A análise de prevalência demonstra ser um instrumento de trabalho que permite determinar num período de tempo (de dias a meses) a magnitude das infecções nas instituições de saúde. São registados os casos de infecção num determinado período de tempo (período de prevalência) e uma das vantagens é o de permitir conhecer o indicador epidemiológico de infecção hospitalar mais rapidamente obtido pela relação entre os expostos e os afectados.

No entanto o valor é sempre alterado pela duração da infecção e pelo período de prevalência utilizado em que pode haver maior ou menor número de casos (Fernandes, 2000).

2.2.2 Iniciativas europeias sobre o problema da infecção hospitalar

A participação de Portugal no Projecto HELICS (Hospitals in Europe Link for Infection Control Through Surveillance) permitiu a criação de uma rede de registo de infecção a integrar a rede europeia definida pela Decisão N° 2119/98/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 24 de Setembro de 1998 que institui uma rede de vigilância epidemiológica e de controlo das doenças transmissíveis na Comunidade.

Actualmente, a resistência aos antibióticos tornou-se uma grande preocupação e um problema em todo o Mundo. Apesar dos dados publicados todos os anos, quer a nível nacional ou através de estudos multinacionais envolvendo vários países, a extensão do problema ainda não é especificamente conhecida.

Nas últimas duas décadas, este problema tem sido colocado em várias reuniões científicas e políticas. Na conferência da União Europeia (UE) de Setembro de 1998, "A Ameaça Microbiana", que decorreu em Copenhaga, todos os estados membros da UE concordaram, por unanimidade, que a resistência aos antibióticos já não constituía um problema nacional, mas um assunto internacional de grande importância, que necessitava de uma estratégia comum a nível europeu. Segundo a Eurosurveillance, 2001 (Thèrre, 2001), "As recomendações emitidas após esta reunião expressaram quatro temas importantes:

- a necessidade de uma vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos;
- a recolha de dados sobre o fornecimento e consumo de antibióticos;
- o encorajamento da utilização correcta dos antibióticos;
- realização de investigações para combater o problema da resistência aos antibióticos."

Em Março de 2000, foi enviado um questionário aos representantes das autoridades de saúde pública (membros do quadro editorial do *Eurosurveillance*) em 17 países Europeus (Alemanha, Áustria, Bélgica, Dinamarca, Escócia, Espanha, Finlândia, França, Grécia, Holanda, Inglaterra e País de Gales, Irlanda, Itália, Luxemburgo, Noruega, Portugal e Suécia) (Thèrre, 2001). Solicitavam-se respostas a questões colocadas no âmbito das CCIH relativamente à utilização correcta dos antibióticos que incluíam os tipos de acções tomadas desde que foram emitidas as recomendações de Copenhaga. As respostas ao questionário foram actualizadas em Dezembro de 2000.

Em relação à vigilância da resistência nas infecções nosocomiais, alguns países possuíam um sistema específico nacional (por exemplo, a Bélgica, Alemanha, Holanda) ou regional (Inglaterra e País de Gales, França) para vigilância das infecções nosocomiais e a monitorização da resistência aos antibióticos. Noutros países (Áustria, Dinamarca, Finlândia, Suécia), a vigilância nosocomial dos microrganismos resistentes específicos fazia também parte do sistema de vigilância. Outros países como a Itália, Grécia, Portugal e Espanha, possuíam comités de controlo da infecção a nível hospitalar, os quais eram responsáveis por esta vigilância a nível local.

O primeiro país europeu a implementar um sistema de vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos, na clínica em humanos, foi a Dinamarca, em 1960, para o *S. aureus*. Desde o início, a vigilância do MRSA tem feito parte do sistema de vigilância nacional.

A maioria dos outros países estabeleceu os sistemas de vigilância nas décadas de 80 e 90. Na Finlândia, o primeiro relatório da resistência, elaborado por vários laboratórios relativamente aos isolados encontrados em culturas de sangue, foi publicado em 1984, seguido, em 1986, por um relatório de vigilância sobre *S.aureus* e *Escherichia coli*. Em 1997, foi definido um programa nacional de vigilância da resistência nas infecções nosocomiais, o SIRO (o programa finlandês para as infecções hospitalares).

Na Suécia, a notificação do MRSA e *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE) começou em 2000 e têm sido notificados por norma pelos laboratórios, desde 1995 e 1997, respectivamente.

Na Holanda foi iniciado em 1996 um programa nacional de vigilância em grande escala, o PREZIES (Preventie van Ziekenhuisinfecties door Surveillance), para a prevenção das infecções ocorridas em hospitais.

Em França, a vigilância das infecções hospitalares, e a vigilância da resistência aos antibióticos, tem sido efectuada desde 1992 através de cinco centros coordenadores CCLIN (Centre de Coordination Inter-régionale de la Lutte contre les Infections Nosocomiales), RAISIN, (Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales), o InVS (Institut de Veille Sanitaire), CNR (Centros Nacionais de Referência) desde o início da década de 90 e pela ONERBA (Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques) desde 1999.

Na Alemanha, a vigilância da resistência aos antibióticos começou em 1975, através da Sociedade Paul Ehrlich para a Quimioterapia. Em Janeiro de 2001, foi iniciada uma vigilância a nível nacional de infecções nosocomiais e dos principais microrganismos resistentes aos antibióticos. Desde 1997 são notificadas infecções nosocomiais associadas a instrumentos cirúrgicos e pós-operatórios, actualmente numa base de dados voluntária denominada KISS (Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System) para uma colaboração com o laboratório nacional de referência para a higiene hospitalar e o Robert Koch Institute. A notificação de microrganismos resistentes específicos foi introduzida na Alemanha desde 2001 pois até ao fim de 2000, a notificação de estirpes resistentes era obrigatória apenas em caso de surtos.

Na Bélgica, a vigilância de infecções nosocomiais foi iniciada em 1984 pelo Instituto de Saúde Pública (Bruxelas) para o *S. pneumoniae* e em 1990 para o MRSA.

Na Inglaterra foi desenvolvido um sistema de vigilância das infecções nosocomiais através de vários testes piloto regionais e pelo sistema nacional que disponibiliza módulos para a participação com as linhas do sistema USA NNIS (Vigilância Nacional das Infecções Nosocomiais).

Na Áustria, foi implementado um sistema nacional de vigilância em 1994, que inclui a vigilância do MRSA.

Em Portugal, a vigilância da resistência aos antibióticos é monitorizada pela Unidade de Resistência aos Antibióticos, que faz parte do Instituto Nacional de Saúde, desde 1989, e pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade de Lisboa desde 1993.

Na Grécia, a vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos e vigilância das infecções nosocomiais existe desde 1995 na maioria dos hospitais coordenados pelo Ministério da Saúde e Universidade de Atenas.

A Irlanda, Itália e Escócia implementaram a vigilância nacional dos microrganismos resistentes aos antibióticos nos últimos 9 anos:

Na Irlanda, o *M.tuberculosis* é monitorizado, especificamente, através de um sistema de vigilância com médicos de saúde pública. Na Itália, apesar dos dados sobre a resistência aos antibióticos das estirpes de *Neisseria meningitidis* se encontrarem disponíveis desde o início da década de 90 só em 1999 foi estabelecido um sistema nacional através de uma rede sentinela. Em 1998, a Escócia estabeleceu um sistema de vigilância voluntária através da cooperação entre a Associação Médica Escocesa (SMA) e o Centro Escocês para as Infecções e Saúde Ambiental SCIEH (Scottish Centre for Infection and Environment Health)

Na Noruega a vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos é efectuado a nível nacional pelo National Institute of Public Health. No Luxemburgo e Espanha a vigilância é feita a nível local (Thèrre, 2001).

Os microrganismos resistentes monitorizados através destes sistemas de vigilância variam entre países (Tabela 1). Em todos os países, incluem como principais bactérias resistentes o *Mycobacterium tuberculosis* e MRSA e Portugal inclui o *Acinetobacter* spp.

Tabela 1. Microrganismos resistentes vigiados nos países europeus (Fonte: adaptado de Thèrre, 2001)

Áustria	MRSA ,MDR <i>M. tuberculosis</i> , VRE, <i>N. meningitidis</i> , <i>E coli</i> , <i>Salmonella spp</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> , <i>S. pyogenes</i>
Bélgica	MRSA MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, VRE, <i>E. aerogenes</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>S. pyogenes</i>
Dinamarca	MRSA MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, <i>S. pyogenes</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp</i> , <i>Campylobacter</i>
Inglaterra e País de Gales	MRSA MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, VRE, <i>S. pyogenes</i> (macrolídeos)
Finlândia	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , VRE, PRP/PIP. <i>S.pneumoniae</i> , <i>H.influenzae</i> , <i>M.catarrhalis</i> , <i>S.pyogenes</i> , <i>N.gonorrhoeae</i> , <i>S.aureus</i> , <i>E.coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Campylobacter spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i>
França	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Haemophilus influenza</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Helicobacter pylori</i>
Alemanha	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, VRE, (<i>N. meningitidis</i> , <i>S. pyogenes</i>)
Grécia	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , VRE
Irlanda	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, , <i>invasive S. pneumoniae</i>
Itália	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, <i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> (invasiva), <i>Salmonella spp</i> , <i>Campylobacter</i>
Luxemburgo	MRSA , MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, VRE, <i>S. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter sp</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Aspergillus sp</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Noruega	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , VRE, <i>S. pneumoniae</i>
Portugal	MRSA, MDR, <i>M. tuberculosis</i> , GISA, VRE, <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>Acinetobacter spp multi-resistente</i> , <i>P.aeruginosa multi-resistente</i> .
Escócia	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , GISA, VRE
Espanha	MDR <i>M. tuberculosis</i>
Suécia	MRSA, MDR <i>M. tuberculosis</i> , VRE, penicillin resistant <i>S. pneumoniae</i>
Holanda	MRSA, MDR <i>M tuberculosis</i> , VRE <i>Streptococcus</i> resistentes a macrólídeos

Abreviaturas

GISA : *Staphylococcus aureus* de resistência intermédia aos glicopeptídeos

VRE : *Enterococcus* resistentes à vancomicina

MRSA : *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina

MDR : multiresistente

PRP/PIP :*Pneumococcus* resistentes à penicilina – *Pneumococcus* de resistência intermédia à penicilina

As formas de registo pelo instituto responsável da vigilância dos microrganismos resistentes e o ano de início em cada país europeu, estão representados na tabela 2.

Tabela 2. Vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos em medicina humana nos países europeus (Fonte: adaptado de Thèrre, 2001)

País	Ano de início do sistema de vigilância	Instituto responsável
Áustria	Nacional (1994)	FM for Social Security and Generations
Bélgica	Nacional (1984)	Institut de Santé Publique and GDEPIH*
Dinamarca	Nacional (1960 para <i>S. aureus</i>)	Statens Serum Institute
Inglaterra e País de Gales	Nacional (1989)	Public Health Laboratory Service
Finlândia	Regional e nacional (1991 e 1995 respectivamente)	Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance (FiRe) and Kansanterveyslaitos Folkhälsöinstitutet (KTL)
França	Regional e nacional (1993)	CCLIN, CNR, ONERBA and InVS **
Alemanha	Nacional (1975)	Paul-Ehrlich- Society for Chemotherapy (PEG)
Grécia	Nacional (1995)	Ministry of Health and Department of Hygiene Medical School (Athens University)
Irlanda	Nacional (1999)	National Disease Surveillance Centre
Itália	Nacional (1999)	Istituto Superiore di Sanita
Luxemburgo	Local	Um hospital central (único)
Noruega	Nacional (1995)	National Institute of Public Health
Portugal	Nacional (1989)	National Institute of Health / Microbiology Laboratory (Universidade de Lisboa)
Escócia	Nacional (1998)	SCIEH et SMA ***
Espanha	Regional	Vários hospitais
Suécia	Nacional (1980s)	Swedish Institute for Infectious Disease Control and SRGA and SRGA-M****
Holanda	Nacional (1990)	Rijksinstituut voor Volksgezondheit milieu

* GDEPIH Groupe de Dépistage Etude et Prévention des Infections Hospitalières
** CCLIN Centres de Coordination Interrégionale de Lutte contre les Infections Nosocomiales
** CNR Centre Nationaux de Référence des maladies infectieuses
** ONERBA Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques
** InVS Institut de Veille Sanitaire
*** SCIEH / SMA Scottish Centre for Infection and Environmental Health / Scottish Microbiology Association
**** SRGA / SRGA-M Swedish Reference Group for Antibiotics; SRGA-M: subcommittee on methodology

2.3 Processos de transmissão

Os microrganismos habitam no ar, nas superfícies e na pele. Porém, normalmente não produzem infecções já que existem barreiras naturais que protegem a sua entrada pelas possíveis vias de contaminação.

A maior barreira contra os microrganismos no ser humano é a pele. A camada superficial da pele é formada por células mortas com grande quantidade de queratina, gordura e suor. Esta faz com que a pele seja impermeável. Se a pele se altera na sua continuidade ou composição, os microrganismos que normalmente são inofensivos introduzem-se no organismo; Outra via importante para a entrada de microrganismos é a via respiratória. As células que revestem o aparelho respiratório e as células que segregam muco para reter os elementos estranhos têm cílios que se movem continuamente para expulsá-los para o exterior. Esse epitélio fica alterado e susceptível de contrair infecções quando é afectado por agentes externos que os modificam na sua composição ou na sua estrutura; O aparelho digestivo é também via de entrada para a infecção. No entanto possui formas de defesa contra a invasão de microrganismos como a saliva e suco gástrico; O aparelho urinário é protegido pelo esfíncter urinário e pela bexiga, um órgão muscular que permite o esvaziamento periódico da urina; O fluxo vaginal e as lágrimas são exsudados que combatem a entrada dos microrganismos por estas vias. A alteração destes exsudados facilita a invasão microbiana.

O ambiente asséptico tem gradualmente assumido posição na saúde. Certas estratégias facilitaram os procedimentos, tais como as luvas de borracha reutilizáveis, a esterilização e o emprego de antissépticos cada vez mais eficazes. Parte delas continuam a ser utilizadas, porém o progresso para minimizar os riscos da infecção fundamenta-se no uso de material descartável e nos métodos industriais de esterilização, que constituíram grande desenvolvimento no controle das infecções.

Simultaneamente ao avanço nos estudos de formas de combate aos microrganismos hospitalares sobre os materiais e sobre a pele permanece a investigação sobre a síntese de formas de combate aos microrganismos no indivíduo após contaminação. Alguns autores revelam relação entre a qualidade do ar nos hospitais e a infecção por bactérias que oferecem resistência aos antibióticos especialmente no *Staphylococcus* metilino-resistente (MRSA) e em *A.baumannii* mas não se encontra na literatura investigação nessa área. Interessados em determinar a relação entre a qualidade microbiológica do ar e as infecções nosocomiais, decorre actualmente um estudo que envolve a análise do ar, do ambiente e a sua relação com doentes internados, no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (Brasil): “Serão feitos cortes transversais, de base mensal, durante quatro meses consecutivos a partir de 2007, de amostras de ar, superfícies e mãos de profissionais de saúde, colhidas em diferentes áreas da enfermaria, num mesmo momento, para avaliar a presença de bactérias multi-resistentes. Essas amostras serão confrontadas, por meio de biologia molecular, com aquelas isoladas de doentes internados no mesmo período de investigação” (Ortega, 2006).

Outro foco de atenção é a utilização das instalações de cuidados de saúde que servem de cada vez mais de receptáculos para as bactérias resistentes e onde os grupos de risco, em que se incluem os idosos e as crianças, são submetidos a uma exposição prolongada durante o atendimento. Associado, está o facto das instalações modernas dos centros de atendimento em instituições de saúde se terem tornado em pontos sobre-aquecidos para a emergência e propagação da resistência aos antibióticos.

2.3.1. Isolamento de doentes e precauções

Em 1970 o CDC publicou um manual “Isolation Techniques for Use in Hospitals” que orientava numa série de procedimentos relacionados com a prevenção da infecção hospitalar criando assim vários tipos de isolamento identificados em cada enfermaria ou quarto através de cartões com cores diferentes. Os tipos de isolamento eram:

- Isolamento estrito
- Isolamento respiratório
- Isolamento de protecção entérica
- Isolamento de precaução com sangue
- Isolamento de precaução com material descartável

Estes tipos de isolamento demonstraram-se incompletos uma vez que se preocupavam com a doença e a sua epidemiologia e não com as formas de transmissão do microrganismo. Como todas as doenças envolvidas na mesma categoria contemplavam o mesmo tipo de isolamento não se atendendo a forma de contágio, algumas não possuíam a forma de isolamento inerente à sua disseminação e tornou-se ineficaz esta classificação (Fernandes, 2000). Simultaneamente novos conhecimentos epidemiológicos e o aparecimento de surtos multi-resistentes levaram a que o CDC criasse um novo manual.

Em 1983 surge o “Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals”, após um crescente conhecimento sobre a infecção hospitalar e após surgirem vários surtos de microrganismos multi-resistentes, o CDC, publicou um novo guião em que o objectivo passou a ser proteger da doença e não do doente, levando em consideração as condições do doente e as condições físicas da instituição de saúde. Cabia às Comissões de Controle da Infecção Hospitalar (CCIH) decidir se o isolamento seria por doença ou por categoria de isolamento:

- Isolamento estrito
- Isolamento entérico
- Isolamento de contacto

- Isolamento ou precauções respiratórias
- Isolamento para doentes com tuberculose
- Isolamento ou precauções com sangue e com fluídos

Embora semelhante, a anterior denominação “Precauções com sangue” passou também a englobar os fluidos orgânicos e passou a permitir o isolamento no caso dos doentes com sida tendo a denominação “Isolamento de Protecção” sido anulada por se demonstrar ineficaz na protecção dos doentes imunodeprimidos.

O isolamento por doença específica demonstrou-se insuficiente uma vez que em muitos casos o diagnóstico não era determinado no início do internamento e as medidas tornaram-se tardias colocando em risco outros doentes do hospital (Fernandes, 2000).

Ainda na mesma década, em 1985, revelou-se de extrema importância a implementação das Precauções Universais pelo que o guia do CDC sugeriu:

- Cuidados com sangue e fluídos corporais (líquido seminal, exsudados vaginais, líquido amniótico, líquido cefalo-raquidiano, pericárdico, peritoneal, pleural e abdominal).
As fezes, urina, exsudados nasais, secreções brônquicas, suor, lágrimas e vômito não eram consideradas de risco excepto se apresentassem sangue macroscópico;
- Aplicação das medidas a todos os doentes independentemente do seu diagnóstico;
- Prevenção de acidentes profissionais;
- Utilização de barreiras tradicionais (luvas e avental);
- Utilização de dispositivos de respiração individual nas situações em que fosse previsível a necessidade de ressuscitação;
- Lavagem das mãos imediatamente após retirar as luvas.

Em 1986 uma classificação mais simples e mais fácil de seguir por todos os profissionais de saúde foi aplicada e os isolamentos foram divididos em quatro classes numéricas. O uso de equipamento de protecção individual associava-se a cada número:

- Classe1-uso de luvas
- Classe2-uso de luvas e avental
- Classe3-uso de luvas e avental e máscara
- Classe4-uso de máscara

A classificação estava sinalizada no quarto ou cama correspondendo à necessidade de isolamento.

Em 1996, o CDC publicou um novo guia com três tipos de isolamento em que a forma de transmissão de doenças dependia e baseava-se essencialmente na porta de entrada no doente, na susceptibilidade do doente e nas vias de eliminação do agente microbiano pelo doente.

- Isolamento de contacto
- Isolamento de partículas
- Isolamento de gotículas

O sistema de vigilância epidemiológica representa desde aí, a principal forma de avaliação das medidas de profilaxia. Embora grande parte das infecções hospitalares sejam de difícil prevenção e controle, a vigilância dos factores de risco são importantes para a detecção e controle de complicações clínicas (Fernandes, 2000).

Com o objectivo de reduzir o risco de transmissão de microrganismos em instituições de saúde, a partir de fontes conhecidas ou não, implementaram-se precauções padrão (PP) que devem ser aplicadas a todos os doentes. Segundo ANVISA (2006) e o CDC (2004) as PP incluem o uso de barreiras com o Equipamento de Protecção Individual (EPI) e devem ser aplicadas sempre que haja contacto com:

- Sangue;
- Todos os fluídos corporais excepto o suor (não sendo necessário observar presença de sangue macroscópico);
- Perda da continuidade da pele;
- Mucosas.

O sistema de precauções divide-se em duas etapas: a primeira etapa é o Sistema de Precauções Padrão (SPP) e aplica-se a todos os doentes, independentemente do seu diagnóstico ou estado analítico; a segunda etapa de precauções é para doentes com infecção conhecida ou suspeita e são baseadas na transmissão.

Três precauções baseadas na transmissão são propostas:

- Precauções contra aerossóis ou partículas
- Precauções contra gotículas
- Precauções contra contacto

As precauções contra aerossóis ou partículas são previstas para reduzir o risco de exposição e infecção pela via de transmissão aérea, por meio de micro-gotículas dispersas pelo ar. Estas partículas são inferiores a 5 micra, provêm de gotículas desidratadas que podem permanecer em suspensão no ar por longos períodos de tempo e podem conter o agente infeccioso. Os microrganismos transportados desta forma podem ser disseminados para longe, pelas correntes de ar podendo ser inalados por um hospedeiro susceptível, dentro do mesmo quarto ou em locais situados a longa distância do doente. Por este motivo, impõe-se ventilação especial para prevenir esta forma de transmissão. A dimensão destes agentes permite o atingimento alveolar num indivíduo susceptível.

As precauções contra gotículas reduzem a disseminação de microrganismos maiores que 5 micra. A dimensão do agente permite alcançar as membranas mucosas do nariz, boca ou conjuntiva de um doente susceptível. As gotículas originam-se sobretudo durante a tosse, o espirro e em certos procedimentos que envolvam o contacto com os fluídos daí resultantes. A transmissão de gotículas requer um contacto mais próximo, entre o indivíduo e o

receptor, visto que não permanecem suspensas no ar e geralmente depositam-se em superfícies a curta distância. Por esse motivo não é necessário promover a circulação do ar ou ter ventilação especial para prevenir a sua transmissão.

As precauções contra contacto representam o modo mais importante e frequente de evitar a transmissão de infecções hospitalares e estão divididas em dois subgrupos: contacto directo e contacto indirecto.

O contacto directo envolve o contacto pele a pele e a transferência física, proveniente do doente infectado ou colonizado por microrganismos, para um hospedeiro susceptível. Esta transmissão pode ocorrer quando o profissional da saúde realiza procedimentos que envolvam contacto físico com o doente, como também entre dois doentes, pelo contacto com as mãos. O contacto indirecto envolve a transmissão para um hospedeiro susceptível através de objectos contaminados tais como instrumentos contaminados, roupas ou luvas que não são trocadas entre os procedimentos.

As medidas fundamentais para combater o processo de transmissão de doenças em meio hospitalar envolvem procedimentos padrão e materiais específicos para cada tipo de isolamento. Na Tabela 3 poder-se-á observar a relação entre os tipos de isolamento, a utilização de equipamento de protecção individual (EPI) e o espaço físico a ser utilizado em cada doente.

Tabela 3. Relação entre os tipos de isolamento, a utilização de equipamento de protecção individual (EPI) e o espaço físico (Fonte: adaptado de Fernandes, 2000)

TIPO DE ISOLAMENTO	USO DE LUVAS	USO DE MASCARA	USO DE ÓCULOS	USO DE AVENTAL	ESPAÇO FÍSICO
CONTACTO	SIM	SE CONTACTAR COM FACE	SE CONTACTAR COM FACE	SIM	ÁREA ISOLADA
PARTÍCULAS	SIM	SIM	SIM	SIM	QUARTO PRIVATIVO
GOTÍCULAS	SE CONTACTAR COM MÃOS	SE A DISTÂNCIA FOR INFERIOR A 1 METRO	SE A DISTÂNCIA FOR INFERIOR A 1 METRO	SE A DISTÂNCIA FOR INFERIOR A 1 METRO	ÁREA ISOLADA

A lavagem das mãos deve ser um procedimento mecânico e frequente, autónomo de cada profissional e visita. A técnica deve ser seguida. As mãos devem ser molhadas, em seguida aplicado um sabonete neutro líquido recolhido de um reservatório e esfregadas durante 15 segundos especialmente nos espaços inter-digitais, centro da palma da mão, unhas e antebraço até aos cotovelos. Em seguida devem ser enxaguadas e enxugadas com papel descartável. Será esse papel que servirá para fechar a torneira.

Em procedimentos invasivos deve ser prolongado o tempo de lavagem e só devem ser utilizados produtos antibacterianos em situações de realização de procedimentos invasivos.

2.4 Susceptibilidade dos doentes

A susceptibilidade dos doentes está relacionada com a imunidade do doente. O estado de imunodepressão inerente à doença favorece a infecção por agentes oportunistas e a infecção é disseminada através da circulação sanguínea até qualquer parte do corpo humano a partir da via de contaminação. A via de contaminação pode ser distal ao alvo da infecção sendo um dos motivos porque todas as vias de contaminação são objecto de estudo para o despiste da etiologia da infecção. São alvo de infecção a ferida cirúrgica no caso de um pós-operatório, a pele íntegra e descontinuada, o sistema respiratório, urinário, cardiovascular, gastrointestinal, reprodutor, osteoarticular e músculo-esquelético.

A idade, a presença de antecedentes clínicos pessoais e familiares (diabetes, doença cerebrovascular, patologia cardíaca e respiratória) potenciam o risco e a susceptibilidade para a infecção hospitalar. O doente idoso está mais susceptível de adquirir infecção hospitalar. A resposta imunológica do idoso é inferior devido às alterações fisiológicas do envelhecimento. O idoso necessita da realização de mais procedimentos invasivos de diagnóstico e de tratamento pela complexidade que a situação de doença acarreta. Cerca de 54% das infecções hospitalares ocorrem em indivíduos com mais de 65 anos de idade (Swartz, 1994).

Durante o internamento são usados métodos de diagnóstico considerados invasivos, tais como o cateterismo periférico e central, colheitas de produtos para análise por punção venosa e arterial, colocação de sondas para colheitas gástricas, angiografias cardíaca e cerebral, administração de produtos de contraste nos exames imagiológicos. Associadas à imunodepressão, tais procedimentos são susceptíveis de transmitir ao indivíduo doente microrganismos existentes no meio hospitalar que oportunamente proliferarão em condições ideais (Ferretti, 2002).

Os tratamentos são outra possibilidade de contaminação do indivíduo doente pelo meio. Durante o internamento o doente é sujeito a métodos de tratamento sistematizados no meio hospitalar, tais como a entubação naso e orogástrica, entubação naso e orotraqueal; cateterização venosa periférica, central, arterial, intracraniana, umbilical e vesical; a traqueostomia; a tricotomia; as drenagens torácica, abdominal, ventricular, de abscessos e articulares; a hemodiálise; a diálise peritoneal; as transfusões sanguíneas; a radioterapia; a quimioterapia; a corticoterapia; a antibioterapia profiláctica; a terapêutica antiácida; a ventilação mecânica; as endoscopias (urinária, digestiva, broncológica e óssea) e a administração de medicação endovenosa, intramuscular e subcutânea. Os procedimentos provocam a descontinuidade da pele anulando uma das barreiras de entrada para o corpo humano e/ou através dos orifícios naturais, invadem as barreiras de defesa do organismo (Bradford, 2001).

Ainda relativamente aos orifícios naturais, estes que, como anteriormente referido possuem defesas no combate à infecção, estão sujeitos a alterações da composição dos exsudados naturais reduzindo a sua eficácia tornando-se susceptíveis de contaminação e infecção local.

As cirurgias são outra porta de entrada aos microrganismos. A cirurgia favorece a descontinuidade da pele e acarreta a possibilidade de colocação de material desconhecido ao organismo como próteses, enxertos e colas aptos de provocar focos de contaminação e infecção local.

As mãos são o veículo de transporte mais invasivo na susceptibilidade do indivíduo doente. Através das suas próprias mãos, das mãos do pessoal de saúde, das visitas de família e amigos e de familiares acompanhantes em regime de tempo total e parcial os microrganismos são mobilizados de superfícies macroscopicamente limpas para o indivíduo doente e susceptível.

3. ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIAS

Um dos problemas mais graves da terapêutica antimicrobiana é a resistência dos microrganismos aos antibióticos. A propagação do problema ocorre com a introdução e vasta utilização de inúmeros antibióticos na década de 50, complicando-se a partir de 1960 com os novos antibióticos beta-lactâmicos.

A importância das substâncias antimicrobianas no aumento da resistência reside no seu papel seleccionador dos exemplares resistentes (seja bactéria ou outro microrganismo), através da pressão selectiva resultante de seu emprego clínico (humano e veterinário), industrial (conservação de alimentos), comercial (engorda de animais, tratamento de vegetais) e experimental (Tavares, 2005).

Previamente à introdução dos antibióticos para combate a bactérias (antimicrobianos) os principais microrganismos causadores de infecção hospitalar eram os cocos Gram positivos. A mortalidade dos indivíduos com bacteriemia por *Staphylococcus aureus*, situava-se na ordem dos 80% dos infectados (Swartz, 1994).

Com a descoberta da penicilina no início da década de 1940 o prognóstico melhorou consideravelmente mas desde 1942 foram identificados *Staphylococcus* resistentes. A actuação da penicilina sobre as bactérias Gram-positivas, fez emergir as bactérias Gram-negativas como predominantes entre os agentes infecciosos nosocomiais. Estes acontecimentos marcaram o início da era do uso intensivo de antibióticos antibacterianos e simultaneamente o início do problema da resistência (Swartz, 1994).

Segundo a Comissão Europeia - Investigação Europeia em Acção (Lönnroth, 2002), em muitos países europeus os antibióticos são a classe de medicamentos mais utilizada precedida pelos medicamentos analgésicos. Numerosos antibióticos são prescritos para infecções respiratórias superiores ainda que a maior parte sejam infecções víricas não confirmadas laboratorialmente.

A monitorização da utilização dos antibióticos a nível nacional tornou-se um processo de vigilância essencial em medicina humana e é efectuada em todos os países europeus. Na maioria dos países são considerados os sectores hospitalar e comunitário:

A Espanha e a Holanda monitorizam o consumo de antibióticos apenas na comunidade, enquanto que a Áustria monitoriza o consumo apenas no sector hospitalar. Na Bélgica, Inglaterra, Finlândia, Alemanha, Grécia, Luxemburgo e Noruega, a recolha de dados é efectuada nos sectores público e privado. Na Dinamarca, Portugal, Escócia e Espanha encontram-se disponíveis dados sobre o sector público. Na Suécia, todos os produtos farmacêuticos são geridos no sector público. Na Finlândia, para além das estatísticas médicas publicadas anualmente desde 1978, pela Agência Nacional para os Medicamentos e Instituição Nacional de Seguros, foi criada uma base de dados com base na prescrição em estabelecimentos de saúde, através do Programa para as Estratégias de Tratamento com Antibióticos (MIKSTRA) em 1998.

A organização responsável por esta monitorização de antibióticos varia dependendo do país: institutos de saúde, organizações de seguros, a indústria farmacêutica, as organizações nacionais de médicos, ministérios da saúde e comités governamentais específicos. Em Itália o observatório nacional para o consumo de fármacos que depende do Ministério da Saúde é o organismo responsável recolhendo dados sobre os antibióticos vendidos nas farmácias e administrados nos hospitais.

Na Alemanha, existem vários sistemas para a recolha de dados que envolvem os institutos centrais e os produtores. Em França, esta vigilância é da responsabilidade do ONPCM (Observatório Nacional de Prescrições e Consumo de Medicamentos) para a agência pública AFSSAPS (Agência Francesa de Segurança Sanitária dos Produtos de Saúde). De 10 em 10 anos é publicada uma tabela do consumo dos diferentes antibióticos. Os dados podem ser igualmente fornecidos através de estudos efectuados de 10 em 10 anos, em todo o país, pelo INSEE (Instituto Nacional de Estatística e Estudos Económicos) sobre saúde e cuidados médicos. Além disso, em Novembro de 1999 foi iniciado um estudo envolvendo todos os hospitais franceses para obter uma perspectiva geral dos modos de administração de antibióticos.

Em França, estão a ser desenvolvidos instrumentos de análise para avaliar o número de dias de tratamento e de doentes tratados com base nos dados obtidos a partir das vendas de antibióticos.

Em Portugal, a vigilância dos microrganismos resistentes aos antibióticos em medicina humana faz-se através da National Institute of Health / Microbiology Laboratory (Universidade de Lisboa) desde 1989. Os dados hospitalares de monitorização do consumo de antibióticos são colhidos a nível nacional pelo INFARMED (National Institute for Drugs and Pharmaceuticals Products) abrangendo cerca de 90% dos hospitais públicos. Os dados comunitários abrangem todos os antibióticos administrados sob o serviço nacional de saúde.

Nos países desenvolvidos, segundo a Comissão Europeia – Investigação Europeia em Acção, 60% das infecções hospitalares devem-se a microrganismos que resistem aos medicamentos e nos mais recentes inclui-se o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) como um dos maiores responsáveis por infecções nosocomiais. Já na década de 1980 um dos principais microrganismos causador de infecção hospitalar era o *Staphylococcus aureus* (Lowy, 2003).

O tratamento empírico requer uma avaliação exacta dos factores de risco do doente e das realidades locais intervenientes no tratamento. As condutas padrão criadas nas instituições de saúde são fundamentais para se desenvolver tratamentos apoiados por evidências. O tratamento empírico inicial do doente internado numa UCI deve considerar: o início da infecção (inicial ou tardia), os factores de risco do doente, os microrganismos locais prevalentes e as possíveis resistências. O tratamento inicial deve ter uma cobertura ampla contra os possíveis microrganismos envolvidos sendo necessário assumir o compromisso de reduzir o espectro, de acordo com os resultados microbiológicos e com a avaliação clínica (Casellas, 2006). Desta forma, passa-se então a um tratamento específico, para se evitar a utilização imprópria de antibióticos.

O programa SENTRY- Antimicrobial Surveillance Program, desde 1997 analisa dados sobre microrganismos e resistências a antibióticos. O programa foi estabelecido com o objectivo de monitorizar os patógenos predominantes e as resistências antimicrobianas

quer ao nível hospitalar quer ao nível comunitário. Recorre a metodologias de referência para a identificação e a determinação da susceptibilidade de isolados microbianos e fornece dados fiáveis relativos à relação entre infecções hospitalares e níveis de resistência a antibióticos.

Nos Estados Unidos, em dois milhões de infecções hospitalares adquiridas por ano, os microrganismos resistentes aos antibióticos mais isolados são actualmente por ordem:

- *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes;
- *Enterococcus spp.* resistentes à vancomicina;
- *E.coli e Klebsiella spp.* resistentes às cefalosporinas de terceira geração;
- Microrganismos que desenvolveram resistência à ciprofloxacina e a outras fluoroquinolonas;
- *P. aeruginosa* e o *Acinetobacter spp.* multi-resistentes.

Estima-se que a incidência de bacteriémia por *Acinetobacter* seja dez vezes menor do que por *S. aureus*. *Acinetobacter* foi relacionado com *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) e tem sido designado por “MRSA Gram-negativo” (Joly-Guillou, 2005).

Os conhecimentos actuais são insuficientes quer para prever, quer para impedir a propagação da resistência aos antibióticos. Para desenvolver uma estratégia a longo prazo é essencial conhecer melhor os mecanismos moleculares subjacentes a estes fenómenos.

3.1 Estrutura química de antibacterianos

Os antibióticos lançados no mercado como os análogos penicilínicos, meticilina e cefalosporina, além de tetraciclina e eritromicina (Figura 1), tornaram-se limitados devido ao desenvolvimento de resistências aos antibióticos antibacterianos.

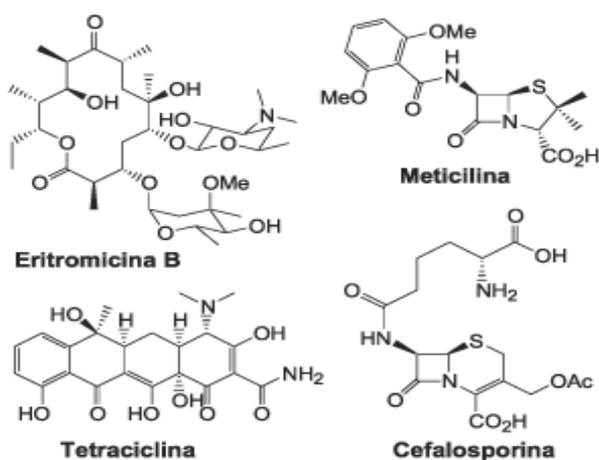


Figura 1. Estrutura química da eritromicina B, meticilina, tetraciclina e cefalosporina (Fonte: Silveira, 2006).

3.1.1. Os beta-lactâmicos

Os antibióticos beta-lactâmicos possuem mecanismos de acção e efeitos adversos semelhantes, diferindo nas suas propriedades farmacocinéticas e no seu espectro de acção. Têm em comum um anel beta-lactâmico e com base na sua estrutura química, podem estabelecer-se quatro subgrupos: penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenemos.

A penicilina é uma molécula caracterizada pela presença do anel lactâmico. Actualmente existem vários tipos de penicilinas onde a diferença estrutural está na variação do radical R (Figura 2) (Ferreira, 2007).

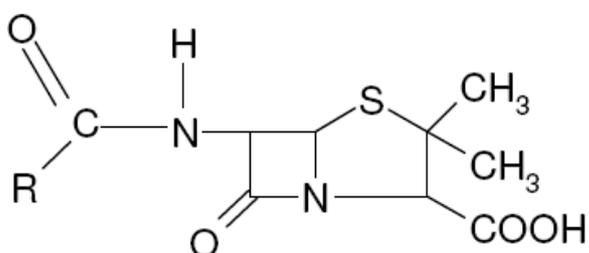


Figura 2. Estrutura química das penicilinas (Fonte: Ferreira, 2007)

Assim como as penicilinas, as cefalosporinas são classificadas como antibióticos beta-lactâmicos e podem ser de origem natural (fungo *Cephalosporium*) ou de origem semi-sintética (Ferreira, 2007). Existem vários tipos de cefalosporinas que variam nos radicais R1 e R2 (Figura 3).

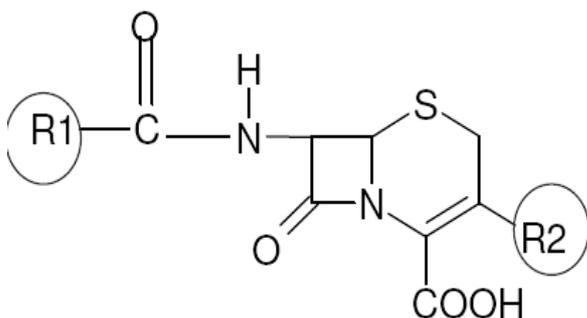


Figura 3. Estrutura química das cefalosporinas (Fonte: Ferreira, 2007)

As cefalosporinas dividem-se em 4 grupos:

Cefalosporinas de 1^a geração (cefalotina, cefazolina, cefalexina, cefadroxil e cefradina). Têm um espectro de acção relativamente próximo do das amino-penicilinas (boa actividade contra as bactérias Gram-positivas, incluindo o *Staphylococcus*) e são mais resistentes à hidrólise pelas beta-lactamases. Algumas cefalosporinas de 1^a geração são sensíveis aos ácidos gástricos, como a cefalotina e a cefazolina, pelo que não podem ser administradas por via oral. Outras são resistentes, podendo por isso ser administradas por aquela via (cefalexina e cefradina) (Infarmed, 2007).

Cefalosporinas de 2^a geração (cefoxitina, cefamandol, cefaclor e cefuroxima). As cefalosporinas de 2^a geração, comparadas com as de 1^a geração, perdem actividade em relação às bactérias Gram-positivas mas aumentam a actividade contra bactérias Gram-negativas. São resistentes a beta-lactamases produzidas por bactérias Gram-negativas (Hooper, 2005).

Cefalosporinas de 3^a geração (ceftriaxona, cefotaxima, cefoperazona, ceftazidima, cefpodoxima e cefixima). São ainda mais resistentes a inactivação pelas beta-lactamases,

sendo indicadas no caso de infecções por bactérias Gram-negativas resistentes, como as estirpes intra-hospitalares. A ceftazidima é a mais eficaz contra a *Pseudomonas aeruginosa*; a cefotaxima é a mais indicada para utilização nos recém-nascidos, por não interferir com o metabolismo da bilirrubina; a ceftriaxona tem um espectro de actividade idêntico à cefotaxima mas com uma semi-vida bastante maior, o que permite reduzir o número de administrações diárias para uma ou duas (Infarmed, 2007).

Cefalosporinas de 4ª geração (cefepima e cefipiroma). Entre os avanços da terapêutica antimicrobiana estão as cefalosporinas de quarta geração com ampla acção antimicrobiana e com a vantagem de não induzirem resistências, o que ocorre com cefalosporinas da segunda e da terceira gerações. No entanto, as cefalosporinas da quarta geração não têm acção contra *Staphylococcus* resistentes à oxacilina, nem têm acção contra anaeróbios Gram-negativos e podem ser inactivadas por beta-lactamases de amplo espectro não tendo apresentado vantagens nas necessidades hospitalares (Tavares, 2005).

A introdução dos inibidores de beta-lactamases, tais como o ácido clavulânico, o sulbactam e o tazobactam que restauram a actividade dos antibióticos beta-lactâmicos contra alguns microrganismos resistentes, foi um avanço no combate à resistência. Dentro dos antibióticos beta-lactâmicos estão incluídos penicilina e derivados (penicilina, ampicilina, piperacilina), penicilina associada a inibidores beta-lactâmicos (amoxicilina e ácido clavulânico; ampicilina e sulbactam; piperacilina e tazobactam), carbapenemos (imipenemo e meropenemo), oxacilina e meticilina e monobactâmicos (aztreonam) – o único antibiótico monobactâmico disponível para uso terapêutico que é o primeiro com uma acção exclusiva em bactérias Gram-negativas anaeróbias (Vilela, 2004).

3.1.2 Os glicopeptídeos

Os glicopeptídeos, vancomicina e teicoplanina, têm um espectro de acção exclusivamente sobre bactérias Gram-positivas. Têm indicação no tratamento de infecções graves em doentes com hipersensibilidade comprovada aos beta-lactâmicos e nas infecções por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) ou por *Enterococcus* resistentes à ampicilina. A sua utilização deve reservar-se para situações bem identificadas, uma vez que constituem uma das poucas alternativas para o tratamento destas situações, pelo risco

O primeiro carbapenemo disponível para uso clínico foi o imipenemo. Encontra-se associado na relação de 1:1 com a cilastatina, que impede a sua inactivação, ao inibir a di-hidropetidase I (enzima renal). O meropenemo tem actividade semelhante à do imipenemo mas difere deste por ser estável à di-hidropetidase I e atravessar a barreira hemato-encefálica (Infarmed, 2007).

O ertapnemo, dotado de uma maior semi-vida, tem um espectro de acção um pouco mais estreito que os anteriores, tendo menor actividade que o imipenemo sobre a generalidade dos agentes aeróbios Gram-positivos e praticamente ausência de actividade sobre *Enterococcus*, não tendo actividade relevante sobre *Pseudomonas*.

Dentro das reacções adversas deste grupo de antibióticos, é de referir as relacionadas com o sistema nervoso central (SNC), nomeadamente convulsões, sendo maior o risco em doentes com patologia a esse nível, anterior ou concomitante (traumatismo craniano, neurocirurgia ou história prévia de convulsões). A referência destes episódios é superior em relação ao imipenemo (embora inferiores a 1%), o que pode ser devido ao seu maior tempo de utilização (Infarmed, 2007).

3.1.4 As tetraciclina

No grupo das tetraciclina (doxiciclina, limeciclina, minociclina), a doxicilina (Figura 5) é a que apresenta características mais favoráveis: é melhor absorvida por via digestiva e menos prejudicada na sua absorção pela presença de alimentos; tem uma semi-vida mais longa, o que permite uma a duas administrações por dia. Além disso, como é apenas ligeiramente excretada por via renal, pode ser administrada a doentes com qualquer grau de insuficiência renal. Os tetraciclina são antibióticos de primeira escolha no tratamento da Cólera, da Peste, da Brucelose, das Riquetsioses e no tratamento das infecções por *Chlamydia* e por *Mycoplasma*.

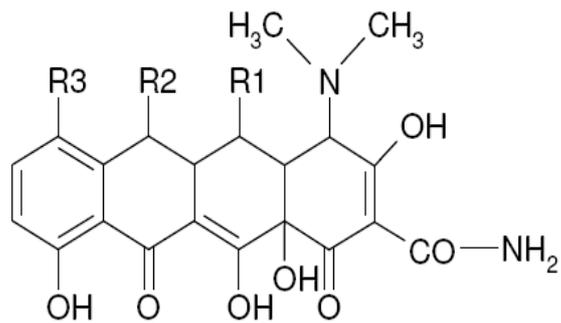


Figura 5. Estrutura química da doxiciclina (Fonte: Ferreira, 2007)

3.1.5 Os macrólidos

Nos macrólidos a claritromicina, a azitromicina e a telitromicina são antibióticos com um espectro de acção mais amplo que a eritromicina (Figura 6) e têm perfil farmacocinético mais favorável e menos efeitos adversos. Deve-se destacar, em particular, a actividade da azitromicina e da claritromicina contra o *Mycobacterium avium-intracellulare*, causador de infecções de alta gravidade em pacientes com SIDA (Tavares, 2005).

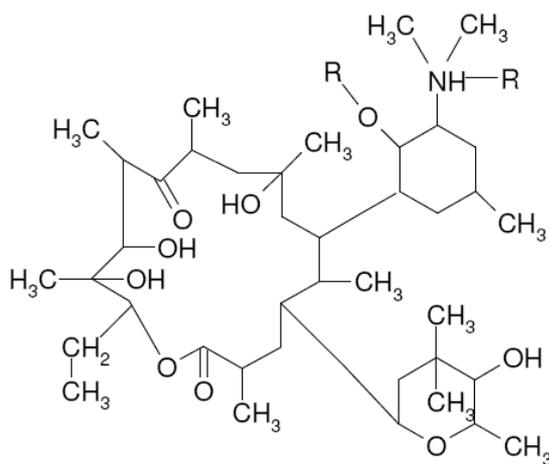


Figura 6. Estrutura química da eritromicina (Fonte: Ferreira, 2007)

3.1.6 As quinolonas

As quinolonas são outra classe de antibióticos que merece destaque. De 1ª geração – nalidíxico, cinoxacina e ácido oxolínico; 2ª geração – norfloxacin, ciprofloxacina (Figura 7), lomefloxacina e ofloxacina; 3ª geração – levofloxacina e trovafloxacina e 4ª geração – moxifloxacina e gatifloxacina (Ferreira, 2007).

A norfloxacina em 1980 foi a primeira quinolona fluorada utilizada em meio clínico humano sendo seguida pela ofloxacina e a ciprofloxacina e caracterizadas pela sua elevada potência contra bactérias Gram-negativas, ação contra a *Pseudomonas aeruginosa*, capacidade de inibir *Staphylococcus* coagulase positivo e negativo e grande actividade contra neisserias e hemófilos. Mais recentemente, foram descobertas novas quinolonas (de 3ª geração) que simultaneamente à sua actividade terapêutica em infecções sistêmicas por microrganismos Gram-negativos e *Staphylococcus* actuam contra bactérias Gram-positivas incluindo os *Streptococcus* hemolíticos e o *Pneumococcus* e contra as bactérias atípicas (mycoplasma, clamídias e legionelas) cuja ciprofloxacina não tem qualquer acção. Nas quinolonas da quarta geração a gatifloxacina é activa contra bactérias anaeróbias Gram-negativas, como o *Acinetobacter spp.* (Sader, 2001) mas a rápida emergência de resistências em relação a este grupo, nomeadamente de *Pseudomonas* e *Staphylococcus*, tende a reduzir-lhe as suas potencialidades iniciais (Infarmed, 2007).

3.1.7 As estreptograminas

A quinupristina/dalfopristina (Figura 7) é a primeira formulação da classe das estreptograminas e tem actividade contra bactérias Gram-positivas que adquiriram resistências a outros agentes antibacterianos tais como *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina e causadoras de pneumonias nosocomiais e infecções relacionadas com o uso de cateterização vascular. Entretanto a sua actividade sobre o *Enterococcus faecalis* é pequena (Manzella, 2001; Caierão, 2004).

A quinupristina/dalfopristina e o linezolide (oxazolidinonas) são capazes de actuar contra microrganismos Gram-positivos, tais como os *Staphylococcus*, *Enterococcus* e *Pneumococcus* resistentes embora estudos demonstrem que 27,6% de *Streptococcus pneumoniae* apresentam uma taxa de susceptibilidade apenas intermédia frente a quinupristina-dalfopristina pelo que se torna necessário um exame contínuo de susceptibilidade *in vitro* para a detecção precoce de resistência pneumocócica. O espectro de acção da quinupristina/dalfopristina atinge *Streptococcus*, incluindo os *Pneumococcus* resistentes à penicilina e à eritromicina e *Staphylococcus*, incluindo as estirpes meticilina-resistentes e eritromicina-resistentes. Os efeitos adversos associados com o uso da quinupristina/dalfopristina são a flebite quando administrada em perfusão periférica, mialgias e aumento da bilirrubina conjugada. Altera o metabolismo de medicamentos como ciclosporinas, nifedipina, midazolam, aumentando suas concentrações plasmáticas (Caierão, 2004).

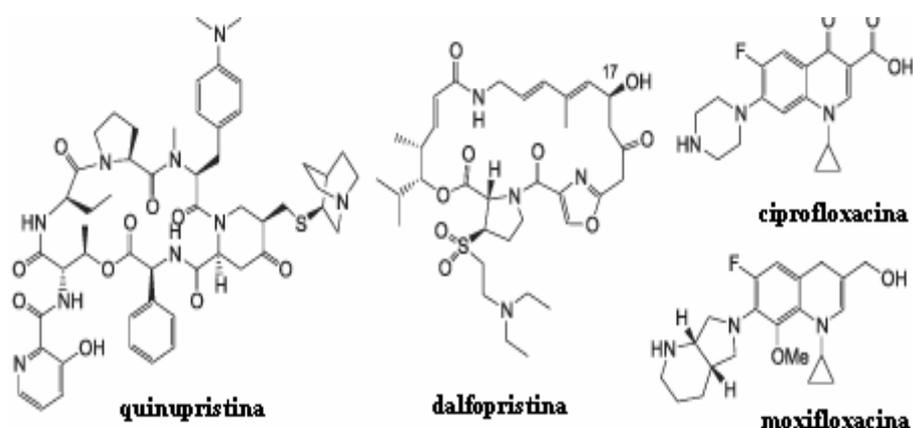


Figura 7. Estrutura química da quinupristina, dalfopristina, ciprofloxacina e moxifloxacina (Fonte: Silveira, 2006)

3.1.8 As oxazolidinonas

O linezolide, o único antibiótico usado na prática clínica pertencente às oxazolidinonas, manifesta-se eficaz contra as bactérias Gram-positivas, inibindo *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Enterococcus*, inclusive os *Staphylococcus* resistentes à meticilina, os

Pneumococcus resistentes à penicilina e os *Enterococcus*, tanto o *E. faecalis* como o *E. faecium*, resistentes à ampicilina e à vancomicina (Jones, 2007).

3.1.9 Os aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos, como a gentamicina, a tobramicina, a ampicacina e a estreptomicina (Figura 8) são geralmente utilizadas no tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Fluit, 2001). O seu modo de acção baseia-se no bloqueio da síntese protéica interferindo com a ligação do formilmetionil-tRNA aos ribossomas. O aminoglicosídeo pode ser ministrado com sinergismo com a penicilina por agir sobre a síntese de parede celular, facilitando a entrada dos aminoglicosídeos em tratamentos contra *Staphylococcus* (Infarmed, 2007).

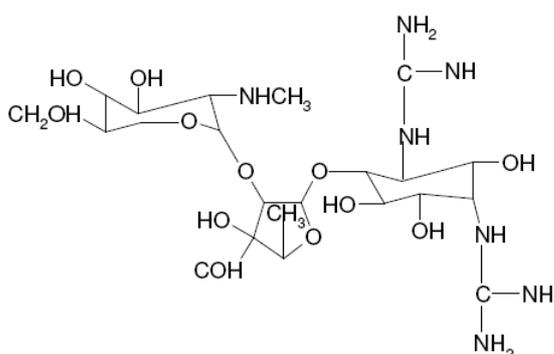


Figura 8. Estrutura química da estreptomicina (Fonte: Ferreira, 2007)

3.1.10 O cloranfenicol

O cloranfenicol tem características farmacocinéticas que lhe permitem atingir concentrações elevadas em determinados focos de infecção embora com potencial toxicidade hematológica. Esse antibacteriano de largo espectro continua a estar entre os de primeira escolha no tratamento de abscessos cerebrais por anaeróbios e febre tifóide (Ferreira, 2007).

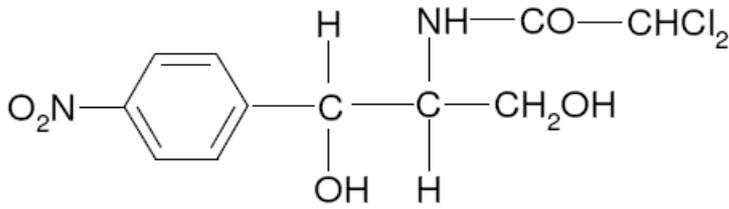


Figura 9. Estrutura química do cloranfenicol (Fonte: Ferreira, 2007)

3.1.11 As sulfonamidas e as suas associações

A sulfadiazina, do grupo das sulfonamidas pode ser usada em esquemas de tratamento da meningite meningocócica dada a sua penetração no espaço subaracnoideu. O sulfametoxazol + trimetoptim (cotrimoxazol) é a primeira escolha nas pneumonias por *Pneumocystis carinii*. É activo em diversas infecções urinárias e nas prostatites bacterianas pela sua especial penetração no tecido prostático.

O trimetropim isolado é utilizado no controlo de infecções urinárias recorrentes, nomeadamente em casos pediátricos que aguardam cirurgia reparadora.

As sulfamidas (sulfonamida, sulfapiridina, sulfametoxazol) são antibióticos de largo espectro de acção mas com o uso clínico bastante limitado actualmente, devido principalmente à existência de fármacos mais eficazes (Ferreira, 2007).

3.1.12 Outros antibióticos

Outros agentes quimioterapêuticos, dispersos por vários grupos, continuam a ter uma grande importância na prática clínica.

A nitrofurantoína mantém uma excelente eficácia em relação à maior parte dos agentes causadores das infecções urinárias baixas, permitindo o seu tratamento sem perturbação da flora bacteriana endógena.

A clindamicina tem um espectro de acção sobre microrganismos Gram-positivos, incluindo *Staphylococcus*. Tem também boa actividade sobre bactérias anaeróbias, incluindo *Bacteroides fragilis*.

O metronidazol, revelou ser um agente eficaz no tratamento de infecções por bactérias anaeróbias, incluindo *Bacteroides fragilis*.

As polimixinas, a cujo grupo pertence a colistina, são muito activas sobre bactérias Gram-negativas, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*. Não são absorvidas por via oral e a sua toxicidade limita fortemente o uso sistémico. A colistina tem sido utilizada por via inalatória, em doentes com fibrose quística, no intuito de controlar as infecções repetitivas por *P. aeruginosa* (Infarmed, 2007).

A ivermectina é um antibiótico anti-helmíntico pertencente à classe das avermectinas, que actua principalmente sobre as formas imaturas de nematódeos. Exerce alguma acção contra os nematódeos adultos, mas não age contra trematódeos. Tem também notável acção contra artrópodes.

Nos antifúngicos existem as apresentações lipídicas da anfotericina B com menor toxicidade e melhor perfil de tolerabilidade que a anfotericina B convencional e foram introduzidas medicamentos antimicóticos como o voriconazol e a caspofungina, activas contra fungos problemáticos pela gravidade da infecção e pela resistência que apresentam (Tavares, 2005).

3.2 Mecanismos de acção de antibacterianos

Para se poder compreender o mecanismo de acção dos antibacterianos no tratamento das infecções bacterianas deve perceber-se:

- O motivo pelo qual os antibacterianos são eficazes no combate a infecções bacterianas e são inofensivos no combate das infecções por fungos, vírus e parasitas.

- O motivo pelo qual os antibacterianos têm actuação nas células bacterianas e não prejudicam a célula humana.

As células bacterianas possuem alvos para os antibióticos que não existem nas células dos fungos, protozoários e na célula humana. Os vírus não possuem estrutura celular. Tal significa que existem particularidades na célula bacteriana que permitem a produção de medicamentos capazes de ter um alvo específico na bactéria. Assim o antibiótico pode percorrer e contactar com a célula humana sem lhe conferir o mesmo dano. Da mesma forma outro microrganismo existente à sua passagem estará protegido contra qualquer acção destrutiva por parte do antibiótico.

Por esse motivo é importante conhecer a etiologia da infecção antes de prescrever o antibiótico considerando-se diferentes formas de resistência aos antibióticos e diferentes mecanismos que impedem a eficácia de um antibiótico testado (Sousa, 2001).

A deficiente resposta do doente à terapêutica antibiótica levantou interrogações e os estudos demonstram que a bactéria é capaz:

- de produzir enzimas que inactivam o antibiótico,
- de mudar o alvo na membrana celular,
- de provocar o aumento do mecanismo de efluxo,
- de alterar a permeabilidade da membrana celular de forma a impedir que o antibiótico penetre na célula.

As células dividem-se em eucariotas (humana, fungos e protozoários) e procariotas (bactérias) (Sousa, 2001).

A célula bacteriana (Figura 10) é composta por material nuclear não rodeado por uma membrana lipídica própria e frequentemente denominado de nucleóide (composto por DNA circular, normalmente organizado apenas num cromossoma e superenrolado podendo

ultrapassar mais do que mil vezes o tamanho da célula) e DNA extra cromossômico ou plasmídico.

Os plasmídeos são elementos genéticos constituídos por DNA extra-cromossômico, podendo existir integrados no cromossoma bacteriano, mas normalmente em estado autônomo e têm tamanhos variáveis podendo atingir dimensões semelhantes às do cromossoma. Numa célula bacteriana pode existir um plasmídeo ou vários plasmídeos compatíveis entre si e estes elementos são frequentemente responsáveis pela transmissão de genes de resistência para outras células da mesma espécie ou de espécies diferentes.

Ainda responsáveis pela transmissão de resistências são as estruturas genéticas móveis-transposões (sequências de DNA de cadeia dupla capazes de executar a transposição entre plasmídeos, de um plasmídeo para um cromossoma e vice versa) e integrões (elementos genéticos móveis com cassetes de resistência a antibióticos).

A membrana citoplasmática é constituída principalmente por lipídios e proteínas, desempenhando importante papel na permeabilidade selectiva da célula (funciona como uma barreira osmótica).

A parede celular é uma estrutura rígida que recobre a membrana citoplasmática e confere forma às bactérias. É composta por uma macromolécula complexa denominada peptidoglicano (também denominado de mucopeptídeo ou mureína) e forma a estrutura rígida da parede. Além disso, a parede celular protege a célula e mantém a pressão osmótica intrabacteriana impedindo a lise da célula.

A divisão das bactérias em Gram-positivas e Gram-negativas, de acordo com a resposta à coloração de Gram, é decorrente das diferenças na composição e estrutura da parede celular. Quando a parede tem uma camada espessa de peptidoglicano a célula tinge de cor púrpura ou azul quando fixada com violeta-cristal, uma preparação conhecida como técnica de Gram (do nome do cientista Hans Christian Gram que inventou esta técnica), e denominam-se bactérias Gram-positivas.

As bactérias Gram-Positivas possuem uma quantidade maior de peptidoglicano na sua parede celular, o que torna a parede dessas bactérias mais espessa e rígida do que a das bactérias Gram-negativas. Composta de proteínas, lípidos, peptidoglicano e ácidos teicóicos (cadeias de polifosfato com resíduos de ribitol e glicerol), essas bactérias são sensíveis à lisozima e sua parede constitui o local de acção de alguns antibióticos. As bactérias Gram-negativas possuem uma parede celular menos espessa e são mais complexas do que as Gram-positivas por apresentarem uma membrana externa cobrindo a fina camada de peptidoglicano. A membrana externa é o que distingue as bactérias Gram-negativas, servindo como uma barreira selectiva para a entrada e saída de algumas substâncias da célula. A estrutura da membrana externa é composta por fosfolípidos, lipoproteínas e lipopolissacarídeos (LPSs). Os lipopolissacarídeos estão localizados exclusivamente na camada externa da membrana, enquanto que os fosfolípidos estão presentes quase completamente na camada interna. Os LPSs são compostos por três segmentos ligados: lípido A (firmemente embebido na membrana); cerne do polissacarídeo (localizado na superfície da membrana); e antígenos O (polissacarídeos que se estendem como pêlos a partir da superfície da membrana em direcção ao meio circundante. A porção lipídica do LPSs é também conhecida como endotoxina e pode actuar como um veneno, causando febre, diarreia, destruição dos glóbulos vermelhos (hemácias) e um choque potencialmente fatal.

No Canadá cientistas decifraram a estrutura de uma proteína que compõe a parede celular de certas bactérias. O trabalho coordenado por Natalie Strynadka, da Universidade da Columbia Britânica (Canadá), permite o desenvolvimento de novos antibióticos (Lim, 2003). A parede celular das bactérias é composta por dois grupos de enzimas, as glicosiltransferases (GT) e as transpeptidases (TP). A penicilina e outros antibióticos derivados agem no grupo TP, mas a resistência das bactérias a esses antibióticos tem aumentado. As enzimas do grupo GT são alvos prometedores para novos fármacos, mas são difíceis de purificar e estudar. A proteína descrita pelos autores – conhecida como PBP2, obtida da bactéria *Staphylococcus aureus* – tem características dos dois grupos. Os dados obtidos pela equipe da cientista ajudam a entender o processo de formação da parede celular bacteriana e podem ajudar a projectar novos antibióticos.

Os mesossomos são invaginações da membrana citoplasmática que podem ser simples dobras ou estruturas tubulares ou vesiculares. Podem estar próximos da membrana citoplasmática ou afundar-se no citoplasma. Os mesossomos profundos e centrais parecem estar ligados ao material nuclear da célula estando envolvidos na replicação de DNA e na divisão celular. Os mesossomos periféricos atravessam ligeiramente o citoplasma, não são restritos à localização central da bactéria e não estão associados com o material nuclear. Parecem estar envolvidos na secreção de certas enzimas a partir da célula, tais como as penicilinasas que destroem a penicilina.

Os pili ou fímbrias são micro-fibrilhas proteicas que se estendem da parede celular em muitas espécies especialmente Gram-negativas. São constituídas por uma proteína chamada pilina e originam-se de corpúsculos basais na membrana citoplasmática sendo a sua função relacionada com a troca de material genético durante a conjugação bacteriana (fímbria sexual) e com a aderência às superfícies mucosas. As fímbrias podem ser removidas sem comprometimento da viabilidade celular e regeneram rapidamente. Um tipo especial de pili é o pili (ou pilus) sexual, estrutura oca que serve para ligar duas bactérias, de modo a trocarem plasmídeos. A envolver todos estes componentes encontra-se a membrana citoplasmática constituída por fosfolípidos e proteínas.

O citoplasma é composto por cerca de 80% de água, ácido nucléico, proteínas, carboidratos, lípidos e iões inorgânicos. Esse fluido denso é o local de muitas reacções químicas.

Os ribossomas são formados por duas estruturas – a sub-unidade 50s e a sub-unidade 30s, estão dispersos no citoplasma e são compostos por RNA ribossómico (RNAr). A sua função é a síntese protéica bacteriana.

O flagelo é uma estrutura protéica que se movimenta como uma hélice e auxilia na mobilidade de algumas bactérias. É constituída por uma estrutura protéica denominada flagelina, formando longos filamentos delgados e ondulados que partem do corpo da bactéria e se estendem externamente à parede celular. O flagelo propuliona a bactéria através do líquido. As bactérias recebem denominações especiais de acordo com a distribuição dos flagelos: atríquias (sem flagelo); monotríquias (um flagelo numa das

extremidades); anfitríquias (um flagelo em cada extremidade); lofotríquias (tufo de flagelos numa ou ambas as extremidades); e peritríquias (cercadas de flagelos).

Os grânulos de reserva são polímeros insolúveis de substâncias de reserva como polímeros de glicose, fosfato inorgânico e lípidos.

A cápsula está relacionada com a virulência da bactéria pois confere resistência à fagocitose, de modo que numa mesma espécie, as amostras capsuladas são mais virulentas que as não capsuladas. Nas bactérias desprovidas de cápsula ocorre a formação de um envoltório viscoso delgado chamado de camada limosa (slime layer).

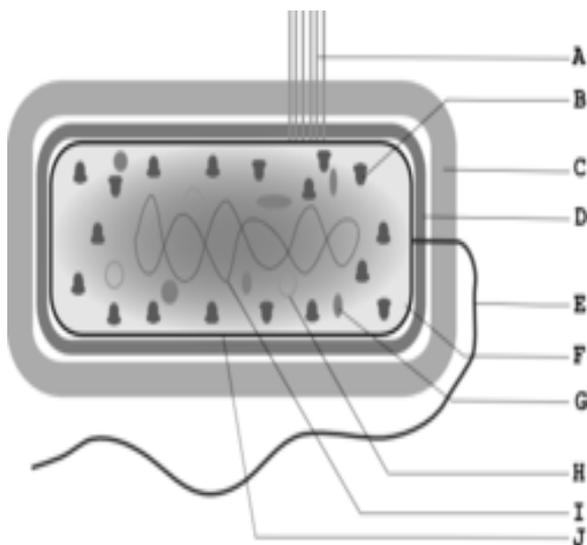


Figura 10. Estrutura da célula bacteriana (Fonte: Wikipédia)

- A-Pili
- B-Ribossomas;
- C-Cápsula;
- D-Parede celular;
- E-Flagelo;
- F-Citoplasma;
- G-Grânulos de reserva;
- H-Plasmídeo;
- I-Nucleóide;
- J-Membrana celular

3.2.1. Antibióticos anti-parietais

Sendo o peptidoglicano que confere a rigidez da célula bacteriana, a síntese de peptidoglicano pela parede celular (Figura 11), permite que a célula bacteriana possa sobreviver em meios hipotônicos. Os antibióticos que inibem a produção desta molécula são eficazes na destruição das bactérias Gram-negativas e são denominados de antibióticos anti-parietais.

Os antibióticos anti-parietais actuam numa das fases da síntese do peptidoglicano e estão por isso divididos em grupos de acordo com a fase em que actuam na síntese do peptidoglicano. Neste grupo incluem-se a fosfomicina, D-cicloserina, glicopeptídeos (bacitracina, vancomicina e teicoplanina) e os beta-lactâmicos.

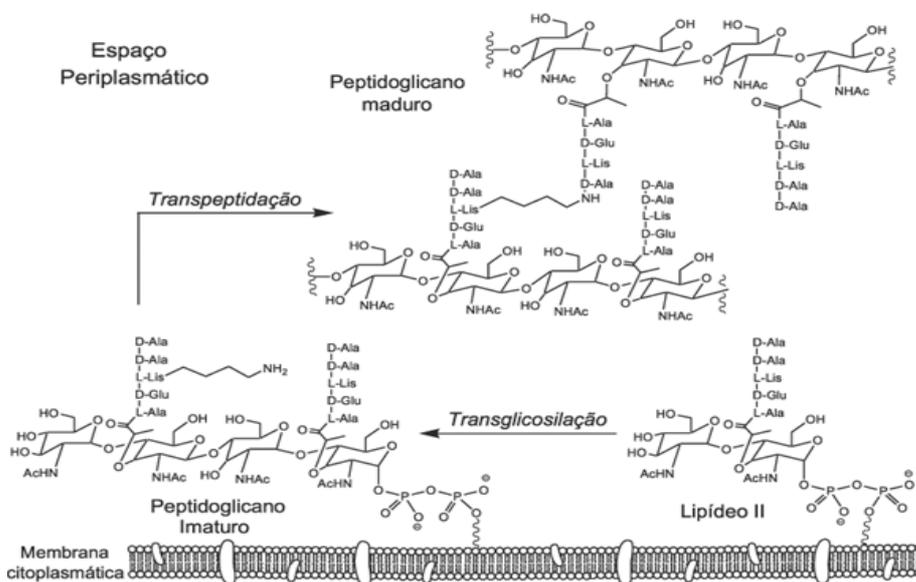


Figura 11. Síntese do peptidoglicano (Fonte: Silveira, 2006)

3.2.1.1 Antibióticos que actuam na fase citoplasmática

A fosfomicina é um análogo estrutural do fosfoenolpiruvato (substrato natural da fosfomicina) que atravessa a membrana citoplasmática da bactéria por intermédio das permeases e no citoplasma inibe a transferase. A síntese do peptidoglicano é inibida numa fase inicial tornando a parede celular frágil e susceptível de lisar destruindo a bactéria (Sousa, 2001)

A D-Cicloserina tem uma estrutura semelhante à D-Alanina que é componente da parede celular e inibe a D-Alanina racemase e a D-Alanil-D-Alanina sintetase dada a sua analogia estrutural. A síntese do peptidoglicano é inibida no final da fase citoplasmática após atravessar a membrana citoplasmática também mediada por permeases, como no caso da fosfomicina (Sousa, 2001).

3.2.1.2 Antibióticos que actuam na fase membranar

A bacitracina impede a desfosforilização do pirofosfato lipídico pelas fosfatases da membrana citoplasmática bacteriana, bloqueando a síntese do peptidoglicano.

A vancomicina e a teicoplanina são antibióticos glicopeptídicos que têm a capacidade de atravessar a parede celular e a membrana citoplasmática da bactéria Gram positiva ligando-se ao dipeptídeo D-alanil-D-alanina do pentapeptídeo precursor do peptidoglicano na interface membrana citoplasmática-parede celular e impede a transferência de unidades recém sintetizadas para a matriz parietal em crescimento (Sousa, 2001).

3.2.1.3 Antibióticos que actuam na fase parietal

Nos beta-lactâmicos todas as moléculas possuem um anel beta-lactâmico que é indispensável à acção anti-bacteriana. Os PBPs (Penicilin Binding Proteins) são compostos por enzimas autolíticas e enzimas biossintéticas essenciais ao crescimento da célula bacteriana. Estão localizados na parede externa da membrana citoplasmática. São neutralizados pelo antibiótico e deixam de ter a função regeneradora e de crescimento da

bactéria provocando por inactivação a sua destruição, quando os antibióticos beta-lactâmicos os utilizam como alvos. Desta forma o PBPs perdem a sua actividade e a síntese de peptidoglicano é interrompida sendo a actividade das autolisinas bacterianas potenciada (Sousa, 2001).

3.2.2 Antibióticos membrano-activos

A permeabilidade da membrana citoplasmática permite à célula bacteriana ter um meio intracelular diferente do meio em que está inserida. Qualquer alteração na membrana poderá incompatibilizar a célula de sobreviver. É essa a actuação deste grupo de antibióticos em que se inclui a colistina (polimixinas), tirotricina, gramicidina e a daptomicina.

3.2.3 Antibióticos inibidores da síntese proteica

Este antibiótico associa-se ao seu alvo (16sRNA) na subunidade 30s-ribossomal provocando um erro de leitura na mensagem do mRNA. A proteína errada incorpora-se na membrana celular bacteriana e altera a sua permeabilidade como acontece nos aminoglicosídeos, mupirocina, espectinomicina, tetraciclina, gliciliclinas, macrólidos, lincosamidas, estreptograminas, ácido fusídico, oxazolidinonas, cetólidos, evernimicina.

3.2.4 Antibióticos inibidores da síntese de ácidos nucleicos

Este antibiótico impede a síntese de mRNA interrompendo a cadeia da síntese proteica da bactéria. Neste grupo inclui-se a rifampicina, metronidazol e as quinolonas.

3.2.5 Antibióticos anti-metabolitos

Estes antibióticos inibem a cadeia metabólica do ácido para-aminobenzóico (PABA). O PABA é essencial ao crescimento celular dado que é fundamental para a síntese de ácidos nucleicos. Exemplos deste grupo são as sulfonamidas e trimethoprim.

3.2.6 Nitrofuranos

Tem uma acção anti-bacteriana múltipla actuando em baixas e altas concentrações de forma distinta. A baixas concentrações reduz a síntese de beta-galactisidase e galactoquinase e a altas concentrações inibe enzimas do ciclo de Krebs , a síntese de DNA e de RNA e a síntese proteica. Neste grupo encontra-se a nitrofurantoína.

3.3 Mecanismos gerais de resistência

Para que um antibiótico exerça efeito é necessário que atinja a célula bacteriana. A produção de beta-lactamases é um dos mecanismos de resistência bacteriana mais comum e existem inúmeras mediadas por plasmídeos que conferem resistência a cefalosporinas como o ceftriaxone, cefotaxima e ceftazidima. Nestes casos alguns antibióticos têm ainda efeito nesse tipo de resistências tais como a meropenemo e o imipenemo, o tazobactam e as fluoroquinolonas (Sousa, 2001).

No caso das beta-lactamases cromossomais podem ocorrer mutações espontâneas. A mutação origina um organismo hiperprodutor de beta-lactamases. Nestes casos as fluoroquinolonas e os aminoglicosídeos são eficazes nestas bactérias e os únicos beta-lactâmicos que tem efeito sobre estas bactérias são a cefepima e os carbapenemos.

Os canais de difusão através dos quais os antibióticos atingem a membrana externa da bactéria e nela penetram são formados por umas proteínas denominadas por porinas. Se há alguma alteração nestas proteínas os canais modificam-se e o antibiótico não consegue atingir o local específico (local-alvo) da bactéria. Neste mecanismo encontramos a forma de resistência de algumas bactérias tais como a *Pseudomonas aeruginosa* ao imipenemo e às quinolonas.

Se o antibiótico conseguir atravessar a membrana e entrar na célula bacteriana ainda pode haver resistência bacteriana se a bactéria tiver mudado o local alvo para o antibiótico. A mais comum é uma alteração na enzima alvo. Este mecanismo é importante na resistência aos beta-lactâmicos e as fluoroquinolonas. As proteínas de união à penicilina são enzimas

bacterianas responsáveis pela produção de peptidoglicosídeos necessários para a formação da parede celular da bactéria. Serve também como local alvo para os antibióticos beta-lactâmicos. Deste modo se houver alterações nestas proteínas também há alteração no local alvo e daí surge a resistência não só à penicilina mas também a certos beta-lactâmicos como às cefalosporinas de terceira geração.

3.3.1 Mecanismos de resistência

As bactérias têm desenvolvido mecanismos de defesa à ação dos antibióticos. A resistência, comum a Gram-positivas e Gram-negativas baseia-se em quatro mecanismos: alteração no local alvo do antibiótico na bactéria, diminuição da permeabilidade da membrana, inativação do antibiótico pela hiperprodução de enzimas e activação da bomba de efluxo dentro da célula bacteriana.

3.3.1.1 Alteração no local alvo

A resistência a antibióticos devido a modificação do alvo da bactéria ocorre quer por mutações nos genes cromossomais, quer através da aquisição de genes suplementares que codificam para enzimas com menor afinidade para o antibiótico em questão. O antibiótico não reconhece o alvo pelo que não exerce as suas propriedades de antibiose. A modificação do alvo pode ser por modificação química mediado por genes plasmídicos ou cromossómicos.

No *S.aureus* (MRSA) a resistência à metilina e à penicilina baseia-se no mecanismo de alteração do alvo criando um novo alvo refractário ao antibiótico, com a produção de uma PBP, designada PBP2 codificada pelo gene *mecA*. Esta PBP não tem afinidade para os antibióticos beta-lactâmicos mas substitui em funcionalidade as PBPs clássicas habitualmente inibidas por este antibiótico (Sousa, 2001).

3.3.1.2 Diminuição da permeabilidade da membrana

A membrana externa é composta por porinas que permitem a entrada dos nutrientes para o interior da célula bacteriana. As porinas são canais aquosos compostos por proteínas. Os antibióticos ao utilizarem determinada porina para entrar na célula e havendo antibióticos comuns que utilizam a mesma porina ficam condicionados a essa forma de actuação. Esta forma de resistência baseia-se na alteração da estrutura dessa proteína que por consequência não é reconhecida pelo antibiótico e não lhe permite encontrar a porta de entrada para o combate a célula bacteriana. Existindo vários antibióticos a utilizar a mesma porina, serão vários os antibióticos cuja célula bacteriana oferecerá resistência.

Na *P.aeruginosa*, a resistência ao imipenemo baseia-se neste mecanismo e consiste numa resistência específica ao antibiótico uma vez que a porina alterada era específica para o imipenemo e por isso somente utilizada por este antibiótico. Verifica-se que na *K.pneumoniae* o mesmo mecanismo se repete para o mesmo antibiótico mas com outra porina também específica para este antibiótico mas diferente da porina da *P. aeruginosa* (Sousa, 2001).

3.3.1.3 Inactivação do antibiótico pela produção de enzimas de inactivação

A inactivação enzimática dos antibióticos retira as propriedades antibacterianas às moléculas do antibiótico desactivando-lhe a propriedade de antibiose. É o caso das beta-lactamases, da acetil, adenil e fosfotransferases mediadas por genes plasmídicos e cromossómicos.

A mais frequente forma de resistência a antibióticos beta-lactâmicos é a produção de beta-lactamases. As beta-lactamases são enzimas que actuam no anel beta-lactâmico na ligação amida e tornam o antibiótico inócuo no combate aos antibióticos (Sousa, 2001).

3.3.1.4 Activação da bomba de efluxo

A bomba de efluxo é constituída por uma proteína na membrana citoplasmática e por uma porina na parede celular no caso das Gram negativas ligadas por outra proteína no espaço periplasmático. As bombas podem ser específicas para determinados antibióticos e normalmente actuam em conjugação com o mecanismo da diminuição da permeabilidade da membrana para aumentar o espectro de resistência aos antibióticos.

A resistência pode ser causado por vários mecanismos e por outro lado um gene que não se manifeste *in vitro* pode manifestar-se *in vivo*. A Tabela 4 demonstra de forma resumida os mecanismos de resistência associados a cada antibiótico.

Tabela 4. Mecanismos de resistência aos antibióticos (Fonte: Vilela, 2004)

MECANISMOS DE ACÇÃO	ESTRUTURA QUÍMICA	TIPOS DE ANTIBIÓTICOS	EXEMPLOS	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA
Inibidores da síntese da Parede celular	Beta-lactâmicos Ligam-se a enzimas (PBPs) e impedem a acção dessas enzimas nas etapas finais da construção da parede celular	Penicilina e derivados	Penicilina, Ampicilina, Amoxicilina, Piperacilina, Carbenicilina, Ticarcilina.	A- Alteração no local alvo: O MRSA sintetiza uma PBP adicional com afinidade muito baixa aos beta-lactâmicos mas com capacidade para continuar a síntese da parede. B- Alteração no acesso ao local alvo Este mecanismo é encontrado nas bactérias Gram negativas, onde os beta-lactâmicos acessam o alvo por difusão através de canais
		Penicilina associados a inibidores de beta-lactamases	Amoxicilina/ácido clavulânico; Ampicilina/sulbactam Piperacilina/tazobactan	
		Oxacilina/meticilina	Oxacilina/meticilina	
		Cefalosporinas (1 ^a , 2 ^a , 3 ^a e 4 ^a geração)	Cefalotina, Cefoxitina, Ceftazidima, Cefepime, cefpirona.	

	<p>Glicopeptídeos Interferem com a síntese da parede celular ao ligarem ao terminal D-ala-D nas cadeias terminais pentapeptídicas</p>	<p>Carbapenemos</p> <p>Monobactâmicos</p>	<p>Imipenemo, Meropenemo, Ertapenemo.</p> <p>Aztreonamo</p> <p>Teicoplanina, Vancomicina.</p>	<p>de porinas na membrana externa. Mutações nos genes de porinas resultam em diminuição da permeabilidade da membrana externa</p> <p>C- Produção de beta-lactamases enzimas que catalizam a hidrólise do anel beta-lactâmico. Gram-positivas libertam beta-lactamases no ambiente extracelular. Em Gram-negativas, as Beta-lactamases permanecem no periplasma.</p>
<p>Inibidores da síntese protéica</p>	<p>Aminoglicosídeos Interferem com a ligação do formilmetionil-tRNA aos ribossomas</p>		<p>Estreptomicina, Amicacina, Gentamicina, Neomicina, Netilmicina, Tobramicina.</p>	<p>1. Produção de enzimas modificadoras dos aminoglicosídeos Constituem o mecanismo mais importante da resistência adquirida. (Plasmídeos)</p> <p>2. Alteração no local-alvo ribossômico Substituição de um aminoácido na proteína P10 da subunidade 30S impede a ligação da estreptomicina. Bacilos Gram-negativos podem apresentar alteração na</p>

	<p>Macrólidos Ligam-se aos ribossomas impedindo a liberação do RNA após a formação da ligação peptídica</p>		<p>Azitromicina, Eritromicina, Espiramicina.</p>	<p>permeabilidade da parede ou no transporte dependente de energia através da membrana citoplasmática. A resistência ocorre em função de uma alteração no rRNA 23S pela metilação de dois nucleotídeos adenina.</p>
	<p>Lincosaminas</p>		<p>Clindamicina</p>	<p>A enzima metilase é induzida e mediada por plasmídeos</p>
	<p>Cloranfenicol Bloqueia a acção da peptidil-transferase impedindo a síntese de ligações peptídicas</p>		<p>Cloranfenicol</p>	<p>O mecanismo mais comum da resistência envolve a inactivação do fármaco catalizado pelas acetiltransferases do cloranfenicol. São enzimas intracelulares, mediadas por plasmídeos, capazes de inactivar todo o cloranfenicol no ambiente próximo à célula.</p>

	<p>Tetraciclina Inibem a síntese protéica ao impedir a penetração do RNA aminoacil de transferência nos locais aceptores nos ribossomas.</p>		<p>Tetraciclina, Vibramicina</p>	<p>Indução da síntese de novas proteínas da membrana citoplasmática são sintetizadas na presença de tetraciclina. A tetraciclina é positivamente eliminada das células resistentes (mecanismo de efluxo)</p>
<p>Inibidores da síntese de ácidos nucléicos</p>	<p>Sulfonamidas Inibidores da síntese dos precursores do DNA Análogas do ácido paraaminobenzóico; Interferem na síntese de purinas e pirimidinas</p>	<p>Sintéticos Inibidores da síntese dos precursores</p>	<p>Sulfonamidas; Trimetoprim</p>	<p>Genes plasmidicos codificam uma diidropteroato sintetase alterada que apresenta afinidade reduzida para a sulfonamida mas é essencialmente inalterada na sua afinidade para o PABA. Uma célula resistente possui duas enzimas distintas, uma sensível cromossomal e uma resistente plasmidial. A resistência ao trimetoprim é mediada por diidrofolato redutase com afinidade alterada.</p>
	<p>Quinolonas Inibidoras da replicação do DNA; Inibem a actividade da DNA girase e impedem o super-enovelamento do</p>	<p>Sintéticos Inibidores da replicação do DNA</p>	<p>Ciprofloxacina, Perfloxacina, Norfloxacina, Levofloxacina.</p>	<p>A resistência é cromossomal e apresenta-se sob duas formas: Alterações na subunidade da estrutura da DNA-girase, com menor</p>

	cromossoma			afinidade pelo fármaco Alteração na permeabilidade, resultando em menor absorção, podendo levar resistência a outros antimicrobianos não relacionados
	Rifampicina Inibidor da RNA polimerase; bloqueia a síntese do mRNA	Inibidora da RNA polimerase	Rifampicina	Mutações cromossômicas que alteram a RNA polimerase alvo, que apresenta menor afinidade pela rifampicina
Função da membrana celular	Polimixinas Agem como detergente e rompem a estrutura fosfolipídica da membrana celular		Polimixicina B Polimixina E (colistina)	Alterações mediadas por genes cromossomais na estrutura da membrana e na absorção do antibiótico.

3.4 Transferência genética de resistência bacteriana

As resistências podem ser intrínsecas (características da espécie) ou adquiridas (após pressão selectiva). As resistências adquiridas devem-se a modificações genéticas por mutação pontual, aquisição exógena de DNA e por re-arranjos intra-moleculares de DNA (transposões e integrões).

3.4.1 Mecanismos intrínsecos de resistência

As resistências naturais são características de cada espécie. Como exemplo temos as espécies Gram-negativas que são naturalmente resistentes à vancomicina e as bactérias anaeróbias estritas resistentes aos aminoglicosídeos. As bactérias Gram-negativas são resistentes à vancomicina pela sua hidrofobicidade e incapacidade em permitir a difusão da vancomicina na célula bacteriana via canais de porina. As bactérias anaeróbias estritas são resistentes aos aminoglicosídeos pela ausência de permeases oxidativas na membrana celular não permitindo a penetração das moléculas para o citoplasma bacteriano. Assim não há contacto do antibiótico com a ribossoma e não pode haver inibição da síntese proteica.

3.4.2 Resistências adquiridas

A resistência bacteriana adquirida aos antibióticos é desenvolvida por meio de mecanismos como a mutação, transdução, transformação, transposição e conjugação.

➤ Mutação

A mutação é um fenómeno decorrente de um grande número de divisões da célula bacteriana num espaço curto de tempo. Essa alta velocidade de divisão pode levar à troca de bases no processo de síntese do DNA, resultando na modificação das características genéticas da bactéria. Neste tipo de fenómeno, a resistência é adquirida apenas para um tipo de antibiótico e denomina-se transferência vertical;

➤ Transformação

Esse mecanismo consiste na captação, por uma bactéria receptora, do DNA proveniente do cromossoma ou de plasmídeo libertado por outra bactéria por transferência horizontal. Em condições naturais, a transformação acontece quando a bactéria lisa e o seu DNA é captado pela bactéria receptora. A transformação habitualmente só acontece entre bactérias da mesma espécie e tem sido verificada entre hemófilos, neissérias, *Staphylococcus* e *Streptococcus*.

➤ Transdução

A transdução por plasmídeo é o principal mecanismo de aquisição de resistência dos *Staphylococcus*, e pode ser simples ou múltipla dependendo dos genes mediadores correspondentes no plasmídeo (Ex.: contra a canamicina, eritromicina, penicilina e tetraciclina). Além disto, os *Staphylococcus* podem incorporar diversos plasmídeos contendo genes diferentes, por transferência horizontal já tendo sido descrito casos de até 40 cópias de um pequeno plasmídeo numa única célula

➤ Conjugação

Esse mecanismo de transferência horizontal de uma bactéria viável para outra é mediado pela fímbria ou pili sexual. Na ausência do pili sexual, o contacto com a célula é feito através de proteínas denominadas adesinas. O pili parte da bactéria dadora que possui um plasmídeo responsável pela resistência conferida à célula receptora. O plasmídeo é replicado na bactéria dadora e a sua cópia que é um filamento simples de DNA, é transferida para a bactéria receptora formando uma célula filha. A célula filha pode então incorporar o plasmídeo no seu cromossoma e iniciar um processo de recombinação genética.

➤ Transposição

Este mecanismo consiste na transferência horizontal de genes de um plasmídeo para outro, para o cromossoma ou para um bacteriófago através de uma molécula de DNA (plasmídeo ou cromossoma) para outra molécula de DNA (plasmídeo ou fago) (Ferreira, 2007).

4. DOIS GÊNEROS BACTERIANOS RELEVANTES

As espécies do género *Acinetobacter*, especialmente *A.baumannii*, fazem parte de vários focos de infecção hospitalar. São agentes de sépsis, bacteriémias, meningites (usualmente após neurocirurgia), infecções urinárias e infecções respiratórias associadas a ventilação mecânica invasiva. *A.baumannii* tem assumido maior importância como agente patogénico oportunista, principalmente em ambiente nosocomial (Wright, 2007). No entanto faz parte do ambiente e encontra-se no solo, na água, nos vegetais, na pele saudável de animais e do Homem fazendo parte da flora cutânea normal podendo ser encontrado em zonas húmidas, como axilas, unhas e espaços interdigitais. Quando *A.baumannii* é sujeito a pressões externas adquire resistências a múltiplos antibióticos sendo as medidas de evicção de stress bacteriano de crescente importância.

S.aureus e MRSA são uma das causas principais de infecção hospitalar, juntamente com a *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e a *Pseudomonas aeruginosa*. *S.aureus* é a causa de várias infecções tais como sépsis e bacteriémias responsáveis por elevada mortalidade em ambiente clínico hospitalar. A sua ampla distribuição intra e extra-hospitalar e na flora cutânea humana permite que esteja presente nas múltiplas circunstâncias de saúde e de imunodepressão e pela sua característica oportunista permite infectar o indivíduo colonizado com facilidade. A sua crescente resistência intrínseca e adquirida aos antibióticos confere-lhe um amplo estatuto no âmbito da infecção hospitalar.

Todos os países da Europa incluem o MRSA como uma das principais bactérias resistentes tal como o *Mycobacterium tuberculosis*. Ambos os géneros bacterianos – *Acinetobacter spp.* e *Staphylococcus* são considerados microrganismos resistentes vigiados em Portugal (Thèrre 2001; Monteiro, 2007).

4.1 As bactérias do género *Acinetobacter*

4.1.1 Taxonomia

As primeiras estirpes do género *Acinetobacter* foram isoladas em 1911 por Beijerinck e foram denominadas "*Micrococcus calco-aceticus*". Em 1948, Schaub et Hauber isolaram

novamente a bactéria e colocaram-lhe o nome "*Bacterium anitratum*" que foi em seguida mudado para "*Moraxella lwoffii* variante *glucidolytica*" e depois "*Moraxella glucidolytica*". Em 1953, Brisou transfere a espécie para o género *Achromobacter* com a nomenclatura de "*Achromobacter anitratum*" (Euzéby, 2003).

Em 1954, Brisou et Prévot propõem o género *Acinetobacter* para as achromobactérias das "*Achromobactereae*" imóveis, por vezes capsuladas, aeróbicas ou anaeróbicas, facilmente cultivadas. Este género compreendia 16 espécies com a espécie "*Acinetobacter anitratum*". Em 1961, no "Traité de systématique bactérienne" Prévot descreve 18 espécies e elege "*Acinetobacter stenohalis*" a espécie tipo do género. A generalização do teste à oxidase e a sua aplicação ao género *Acinetobacter* demonstrou que as espécies incluídas neste género por Brisou et Prévot eram tanto oxidase positivas como oxidase negativas (Euzéby, 2003).

Em 1968, um estudo de taxonomia numérica realizado por Baumann demonstrou que as estirpes oxidase negativas constituíam um único género e os autores restringiram o género *Acinetobacter* estirpes oxidase negativas. Em 1971 Baumann reconhece uma única espécie que denominam *Acinetobacter calcoaceticus*. A sua capacidade de oxidar a glucose permitiu distinguir as estirpes. Para certos autores este critério permitiria reconhecer as sub-espécies denominadas *A.calcoaceticus* variante *anitratus* para as estirpes oxidantes de glucose e "*A.calcoaceticus* variante *lwoffii*" para as estirpes incapazes de oxidar a glucose. Para outros autores a capacidade de oxidar a glucose permitiu definir duas espécies *A.calcoaceticus* e *A.lwoffii* (Euzéby, 2003).

Tendo em conta este critério, em 1980 a "Approved Lists of Bacterial Names" passou a incluir as duas espécies: *A.calcoaceticus* e *A.lwoffii* (Euzéby, 2003).

Com base em critérios de hibridização de DNA Bouvet et Grimont em 1986 delinearão 12 espécies genómicas baseadas em 85 estirpes, que podiam ser diferenciadas por 28 testes fenotípicos reorganizando assim este género. Quatro novas espécies *A.baumannii*, *A.haemolyticus*, *A.johnsonii* e *A.junii*, foram propostas e as espécies *A.calcoaceticus* e *A.lwoffii* foram redescritas (Tjerrnberg, 1991). A este esquema foram incluídas mais espécies genómicas. Pois, apesar dos vários estudos de hibridização, apareceram novas variedades não classificadas, o que indica que a variedade do género vai além dos grupos já descritos (Nemec, 2001).

Embora os testes para identificação de Bouvet e Grimont parecessem apropriados, a sua realização tornou-se trabalhosa e demorada. Esquemas de identificação simples como os de Gerner-Smidt et al. (1991) e Tjernberg (1991) junto com testes de susceptibilidade antimicrobiana podem ser úteis em laboratórios de poucos recursos evitando-se o uso de metodologia molecular de custo mais elevado (Prashanth,2000).

Em 1988, Nishimura *et al.* descrevem *Acinetobacter radioresistens*. Em 1989, Bouvet et Jeanjean evidenciam cinco espécies genómicas e no mesmo ano Tjernberg et Ursing descrevem mais três (13, 14 et 15) em que a espécie genómica 14 é idêntica à 13 de Bouvet e Jeanjean por isso os termos “espécie genómica 13, 14, ou 15” devem sempre ser seguidas dos nomes dos autores Bouvet e Jeanjean ou Tjernberg e Ursing de forma a diferenciá-las.

Em 1993, Gerner-Smidt et Tjernberg individualizam duas espécies genómicas suplementares representadas pelas estirpes 10095 et 10169 “ (Euzéby, 2003).

Em 2001, Nemeč *et al.* descrevem *Acinetobacter ursingii* et *Acinetobacter schindleri*. O género *Acinetobacter* compreende actualmente 32 espécies genómicas das quais 17 receberam um nome validado publicamente. As análises filogenéticas baseadas na sequenciação do gene *gyrB*, demonstraram que o género *Acinetobacter* é muito heterogéneo. Durante muito tempo foi considerado como um representante da família *Neisseriaceae*, mas o género *Acinetobacter* está actualmente incluído na família *Moraxellaceae* (ordem das *Pseudomonadales*, classe das "*Gammaproteobacteria*", phylum das "*Proteobacteria*", domínio das "*Bacteria*") " (Euzéby, 2003).

Existem pequenas diferenças nos esquemas de numeração propostos por diferentes autores para as espécies genómicas no entanto os grupos 1 (*A. calcoaceticus*), 2 (*A. baumannii*), 3 e 13TU, relatado por Tjernberg e Ursing, são semelhantes e recebem a denominação de complexo *A. calcoaceticus* – *A. baumannii*. " (Euzéby, 2003).

4.1.2 Caracteres bacteriológicos

As estirpes do género *Acinetobacter* são constituídas por bactérias Gram-negativas, não esporuladas, capsuladas, imóveis, aeróbias estritas, com metabolismo respiratório estrito, catalase positivas e oxidase negativas.

Em fase exponencial de crescimento, os organismos do género *Acinetobacter* apresentam-se sob a forma de 0,9 à 1,6 µm de diâmetro por 1,5 à 2,5 µm de comprimento frequentemente agrupados por dois e por vezes em cadeias de comprimento variável podendo nalgumas culturas observar formas esféricas ou filamentosas " (Euzéby, 2003).

Bactérias do género *Acinetobacter* spp. não reduzem geralmente os nitratos em nitritos em meio complexo mas por vezes algumas estirpes reduzem em meio mineral mínimo. A oxidação da glucose em acido glucónico resulta da presença de uma glucose desidrogenase membranar. Durante muitos anos a oxidação da glucose foi utilizada para diferenciar variantes da mesma espécie.

A.baumannii, *A.calcoaceticus*, *A.genomospécies 3* e *A.genomospécies 13* (Tjernberg e Ursing) são muito difíceis de distinguir pelas suas características fenotípicas e são muitas vezes agrupadas no "complexo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*". O seu crescimento é facilmente conseguido em meios comuns e a temperatura de incubação deve estar compreendida entre 30 e 35°C pois *A. johnsonii*, *A.tjernbergiae*, *A. genomospecies 11* e de *A. genomospecies 14* (Tjernberg e Ursing) não crescem a 37°C. *Acinetobacter parvus* cresce a 37°C e as condições ideais são a 30°C.

No meio TSA a 30°C as colónias são convexas, circulares, lisas, translúcidas ou levemente opacas, mucosas nas estirpes capsuladas e não pigmentadas, com excepção de *A.parvus* em que o diâmetro das colónias é de 0,5 à 2,0 mm depois de 24h de incubação e de 2 à 4 mm de diâmetro depois de 48h de incubação. As colónias de *A.parvus* são mais pequenas e o seu diâmetro não passa de 0,9 mm depois de 48h de incubação. Depois de 48h de incubação as colónias obtidas numa geleia de sangue de ovelha ou de cavalo podem ser hemolíticas.

4.1.3 Metodologias para identificação

A identificação bioquímica das diferentes espécies e espécies genómicas torna-se difícil e os resultados variam de acordo com as técnicas utilizadas e os autores (Euzéby, 2003).

- a capacidade de crescimento a 37, 41 e 44°C varia segundo a composição do meio. Em meio TSA inoculado com 2 gotas de uma cultura de 24 horas, a leitura deve ser efectuada após 24 a 48 horas num banho-maria. A acidificação da D-glucose e de outros açúcares é posta em evidência num meio de Hugh et Leifson em "Purple agar base medium" (Difco). Segundo os autores a leitura deve ser efectuada 24 horas após a incubação a 30°C e após 5 dias.

Os testes de assimilação são indispensáveis para a identificação. Os testes de fontes de carbono efectuam-se num meio definido como o meio de Cruze ou o meio M63 contendo uma concentração final de 0,1% de cada substrato carbonado. A técnica preconizada por Bouvet e Joly-Guillou consiste em colocar 0,1 ml de uma suspensão de opacidade 0,5 da escala de MacFarland em 3ml do meio de Cruze repartido em tubos de 12 x 120 mm. Os tubos são inclinados com o objectivo de favorecer a aerobiose e a leitura é efectuada entre 48 horas a seis dias depois.

As galerias de identificação comerciais (API 20 NE, Biolog) não permitem um diagnóstico exacto de espécie.

Para colmatar as limitações da identificação bioquímica, várias outras técnicas foram propostas como a electroforese de proteínas do invólucro celular, a amplificação de diversos genes (genes que codificam para o RNA ribossomal, genes que codificam especificamente para o RNA 16S, genes RecA) seguido de restrição dos amplicões, AFLP (Amplified-Fragment Length Polymorphism), FAFLP (Fluorescent Amplified-Fragment Length Polymorphism), ARDRA (Amplified rDNA Restriction Analysis), a amplificação de sequências intergénicas 16S-23S e a electroforese de iso-enzimas.

A identificação das espécies genómicas de *Acinetobacter* por ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) foi aplicada a todas as espécies e espécies genómicas susceptíveis de infectar o Homem e os animais e para caracterizar as estirpes de *A.baumannii* isoladas em medicina veterinária (Euzéby, 2003).

Foram estudadas por ARDRA 53 estirpes de referência pertencentes às espécies genómicas descritas. ARDRA recorre a "primers" para o gene universal que codifica para rRNA16S e que é aplicável na identificação da maioria das espécies (Vaneechoute, 1994). Para isso o

gene é amplificado por PCR e o produto da amplificação é digerido com enzimas de restrição. A separação por electroforese dos fragmentos resultantes, resulta em padrões de bandas que permitem discriminar estirpes.

Após amplificação do gene codificando para rRNA16S, a utilização das enzimas de restrição *AluI*, *CfoI*, *MboI*, *RsaI* e *MspI* permitiu a identificação de todas as espécies de *Acinetobacter* excepto as espécies genómicas 4 (*A.haemolyticus*) e 7 (*A.johnsonii*), 5 (*A.junii*) e 17, 10 e 11, formando grupos de 3 pares. Análises com enzimas *HaeIII*, *HinfI*, *NciI*, *ScrFI*, ou *TaqI* não permitiram a diferenciação das espécies dentro destes 3 grupos. No entanto utilizando a análise fenotípica (hemólise, crescimento a 37°C, produção de ácido a partir da glucose e a hidrólise da gelatina) permitiu diferenciar as espécies dentro destes 3 grupos.

ARDRA é um método eficaz para a identificação da maioria das espécies genómicas do *Acinetobacter* incluindo aquelas cujo DNA é muito semelhante e permite identificar espécies de *Acinetobacter* esclarecendo a ecologia e o significado clínico das diferentes espécies (Vaneechoutte, 1995).

4.1.4 Habitat

Acinetobacter spp. tem como habitat o solo, a água, os vegetais, a pele saudável de animais e do Homem. Assim como é difícil caracterizar as diferentes espécies genómicas também é preciso com exactidão o seu habitat.

A.baylyi, *A.bouvetii*, *A.calcoaceticus*, *A.gernerii*, *A.grimontii*, *A.haemolyticus*, *A.johnsonii*, *A.junii*, *A.lwoffii*, *A.radioresistens*, *A.tandoii*, *A.tjernbergiae*, "*A.venetianus*" e *A.espécie genómica 3* são as principais espécies isoladas no meio exterior.

Estirpes de *Acinetobacter spp.* são frequentemente isoladas em águas usadas e são capazes de fixar os fosfatos acumulando-os sob a forma de polifosfatos.

No Homem *Acinetobacter spp.* faz parte da flora cutânea normal e é frequentemente encontrados em zonas húmidas como axilas, unhas e espaços interdigitais. Esta bactéria também é encontrada na boca, na garganta, na traqueia, no nariz, na conjuntiva, no recto e

na urina. A importância destes locais difere, dependendo do facto de ser um indivíduo sã ou doente. De uma forma geral as espécies mais frequentemente isoladas são *A.baumannii*, *A.johnsonii*, *A.lwoffii*, *A.radioresistens*, *A.genomospecies 3* et *A.genomospecies 13* (Tjernberg e Ursing" (Euzéby, 2003).

Nos animais a maioria das estirpes não são completamente identificadas e são frequentemente classificadas em *A.calcoaceticus*. Encontram-se estirpes de *A.baumannii* nos cavalos, cães e gatos.

Acinetobacter especialmente *A.johnsonii* é encontrado nos alimentos frescos ou deteriorados como as carcaças de frango e peixe mas também em carne de animais nos talhos, no leite e nos produtos lácteos guardados em condições de anaerobiose. A sua capacidade de agente de alteração dos alimentos é muito discutível uma vez que não possuem plenas capacidades proteolíticas e não produzem hidrogénio sulfurado mas tem um poder lipolítico e hidrolizam o Tween 80 dando uma consistência viscosa ao leite e as superfícies do queijo, fenómeno devido a produção de levano que é um constituinte da sua cápsula.

4.1.5 Papel na infecção hospitalar

Se a imunidade do indivíduo não estiver afectada *Acinetobacter* não infecta o indivíduo. A via de transmissão entre indivíduos é por contacto, sendo o veículo transmissor principal as mãos do pessoal de saúde.

O tempo de internamento, o internamento em unidades de cuidados intensivos, a antibioterapia e a ventilação mecânica invasiva são factores que potenciam a infecção por *A.baumannii*. Actualmente *A.baumannii* é responsável por 2%-10% das infecções por bactérias Gram-negativas nas unidades de cuidados intensivos da Europa e dos Estados unidos da América (Richet, 2006) e *A.baumannii* é causador de 80% das infecções por *Acinetobacter* (CDC, 2004).

Em França a espécie mais identificada em meio hospitalar e que é responsável por cerca 90% das infecções por *Acinetobacter* é *Acinetobacter baumannii* (Joly-Guillou, 2005).

Foram descritos surtos de *A.baumannii* multi-resistente associados a infecções hospitalares em hospitais portugueses resultando em ocorrência de mortalidade (Monteiro, 2007).

Nos doentes hospitalizados *A.baumannii* manifesta-se por meio de abscessos cerebrais e cutâneos, infecções urinárias, meningite, celulites associadas a catéteres, infecção de feridas operatória e traumática, pneumonia, sépsis e bacteriémia.

Os factores de pressão hospitalares para a colonização e infecção nos doentes hospitalizados são a antibioterapia empírica prévia, os tratamentos invasivos e o internamento em unidades de cuidados intensivos. A utilização de antibioterapia empírica prévia favorece a formação de resistências pelo que o uso indiscriminado de antibióticos deve ser ponderado. Durante a abordagem ao doente os procedimentos devem ser realizados atendendo às várias portas de contaminação que existem no corpo humano actuando na prevenção:

- Os procedimentos devem ser individuais na passagem de um local para outro tratando o mesmo doente como se de outro doente se tratasse, impedindo desta forma a propagação da bactéria de vias respiratórias para a via urinária por exemplo.
- Utilizar solutos exclusivamente para o mesmo doente e de uso único.
- Usar vestuário protector (EPI-equipamento de protecção individual) como bata ou avental impermeáveis para não transportar a bactéria na roupa.
- Se a bactéria for isolada nas vias respiratórias torna-se necessário a utilização de máscara na abordagem ao doente.
- Retirar o EPI junto ao doente e rejeitar em contentores de lixo inerentes a produtos contaminados.
- Toda a roupa do doente deve ser colocada em recipientes próprios para tratamento específico e sempre manipulada com movimentos lentos.
- Os líquidos resultantes do contacto com o doente como a água do banho e a urina devem ser despejados de modo a não se formarem salpicos ou aerossóis.
- O material que contacta com o doente deve ser lavado e desinfectado com álcool a 70°C.

- Deve permanecer junto dele o material portátil tal como o termómetro, suportes de soros, mangas de avaliação da tensão arterial e estetoscópio.

Considerando que as vias de transmissão invasivas são uma forma de disseminação importante há que considerar:

- A suspensão precoce de cateterização venosa ou vesical e proteger a integridade cutânea com pensos fechados.

4.1.6 Poder patogénico

Os resultados sobre *A.schindleri* (espécie descrita em 2001), *A.ursingii* (espécie descrita em 2001) e *A.parvus* (espécie descrita em 2003) são ainda escassos. *A.schindleri* e *A.ursingii* só foram identificados no Homem. *A.schindleri* foi isolado em locais não estéreis como na pele, urina, região genital garganta e nariz em indivíduos não hospitalizados. A maioria das estirpes *A. ursingii* tem como origem doentes hospitalizados com doenças graves e num estudo foram isolados cerca de 50% no sangue por sépsis.

Globalmente as espécies mais frequentemente isoladas são *A.baumannii*, *A.haemolyticus*, *A.junii*, *A.lwoffii*, *A.radioresistens*, *A. espécie genómica 3* e *Acinetobacter espécie genómica 13* (Tjernberg et Ursing) (Joly-Guillou, 2005).

As bactérias *Acinetobacter spp.* são consideradas pouco patogénicas provocando sintomas em doentes e não em indivíduos saudáveis. A espécie *A.baumannii* revela-se pouco patogénica para os ratos e por via intraperitoneal a dose letal 50% varia 10^6 à 10^8 unidades formadoras de colónias. No entanto num modelo experimental de pneumonia no rato C3H/HeN, a administração intratecal de *A.baumannii* conduz a uma pneumonia hemorrágica semelhante a pneumonias comunitárias descritas em países tropicais (Euzéby, 2003).

No Homem bactérias do género *Acinetobacter spp.* são responsáveis por infecções hospitalares principalmente em doentes graves com imunodepressão.

Acinetobacter sp. são responsáveis por infecções hospitalares e a sua grande resistência aos antibióticos torna o tratamento dos doentes muito difícil e, nalguns casos, impossível. Muitos factores são responsáveis pela prevalência e incidência da infecção hospitalar:

- *Acinetobacter* spp. são bactérias frequentemente isoladas nos doentes e no pessoal de saúde;
- *Acinetobacter* spp. estão presentes no meio exterior como sistemas de ventilação, sifões de casas de banho, material médico, material de mobiliário hospitalar;
- *Acinetobacter* spp. sobrevive em material inerte até 5 meses (Kramer, 2006);
- A utilização de antibióticos de largo espectro favorece a selecção de estirpes multi-resistentes aos antibióticos;
- A utilização e desenvolvimento de técnicas de tratamento e diagnóstico invasivas favorece a contaminação do doente.

Tal permite que actualmente as infecções mais frequentes sejam as sépsis, bacteriémias, infecções urinárias, meningites pós operatorias e as infecções respiratórias.

4.1.7 Factores de virulência

A produção de muco (polissacarídeo de superfície) pelas estirpes *Acinetobacter* sp. aumenta a virulência de outras bactérias como *Pseudomonas aeruginosa* ou *Escherichia coli*. Cerca de metade das acinetobacterioses são infecções mistas o que confere a esta afirmação uma certa importância clínica. O muco produzido no curso da fase exponencial de crescimento inibe a migração dos granulócitos neutrófilos e possui um poder tóxico para as células. No entanto num estudo de 100 estirpes diferentes somente 14 produziam o muco. A presença de uma cápsula polissacarídica é considerado um factor de virulência porque permite resistir à fagocitose e as fímbrias facilitam a adesão às células epiteliais (Euzéby, 2003).

Como outras espécies Gram-negativas *Acinetobacter* possui um lipopolissacarídeo (LPS) dotado de propriedades endotóxicas: é tóxico para o rato, pirogênico para o coelho, e provoca uma lise dos amebócitos do limulo (artrópode semelhante a aranha muito utilizado em pesquisa médica- *Limulus polyphemus*). A endotoxina é produzida *in vivo* pois a reacção positiva ao teste de limulo é observada durante as sépsis.

Nos indivíduos saudáveis a superfície da célula bacteriana *Acinetobacter* é mais hidrófila do que nos indivíduos doentes. As estirpes *A.baumannii* isolados nos dispositivos médicos como os catéteres, as sondas traqueais e vesicais, apresentavam uma superfície hidrófoba.

A capacidade de hidrofobicidade da superfície de um microrganismo é um factor importante para explicar a aderência da bactéria aos diversos polímeros constituintes dos materiais biológicos e esta propriedade de extrema importância na sua virulência (Euzéby, 2003).

4.1.8 Resistência aos antibióticos

As estirpes *Acinetobacter* spp. são naturalmente resistentes à penicillina G mas em 1970 eram sensíveis à grande maioria dos outros antibióticos. A utilização de grandes quantidades de antibióticos e de antibióticos de largo espectro seleccionou as espécies multi-resistentes. Desta forma as espécies mais resistentes foram isoladas em meio hospitalar e certas estirpes de *A.baumannii* são consideradas as mais resistentes dos bacilos Gram-negativos. Todas as outras espécies ou espécies genómicas do género *Acinetobacter* isoladas na clínica são capazes de exprimir a mesma multi-resistência. No entanto as estirpes *A.junii*, de *A.lwoffii* e de *A.genomospecies 13* (Tjernberg et Ursing) são geralmente mais sensíveis que as estirpes *A.baumannii* e as estirpes *A.johnsonii* e *A.genomospecies 3* et 10 têm uma sensibilidade intermédia.

Esta multi-resistência coloca numerosos problemas no tratamento das infecções hospitalares com a realização de mais análises laboratoriais, exames de diagnóstico, aumento do tempo de internamento, eleva a taxa de mortalidade, exige rigorosas normas de

isolamento de doentes, encerramento de camas ou de serviços para limpeza e desinfeção de serviços.

Os mecanismos de resistência são numerosos:

- Produção de cefalosporinases;
- Produção de penicilinases plasmídicas;
- Aquisição de plasmídeos ou de transposões que codificam para as enzimas modificadoras de aminoglicosídeos;
- Mutações de ADN-gyrase provocando uma resistência às quinolonas;
- Resistência plasmídica ao trimetropin;
- Transposões que codificam para uma acetiltransferase inibindo o cloranfenicol;
- Mecanismos de impermeabilidade;
- Mecanismos de efluxo

Os mecanismos de resistência, a transferência epidémica dos genes de resistência entre as bactérias e a propagação epidémica das estirpes resistentes entre os doentes varia com a combinação da espécie e do antibiótico, mas cada processo é determinado pela pressão selectiva da sua utilização (Livermore, 2000).

Quatro processos contribuem para o aumento da resistência:

- Espécies com resistência intrínseca são favorecidas;
- Mutantes resistentes de estirpes previamente sensíveis são seleccionados;
- Genes de resistência transferíveis disseminam entre estirpes isoladas transferidos por plasmídios, transposões e integrações;

- Estirpes resistentes propagam-se de modo epidémico entre doentes, hospitais e países.

A importância relativa destes processos varia com o agente bacteriano e com o local. A prudente prescrição de antibióticos adequados realiza-se melhor se os médicos tiverem acesso a testes de diagnóstico rápidos e não dispendiosos para identificarem microrganismos e as respectivas propriedades de resistência (Livermore, 2000).

A maioria dos surtos envolve poucos doentes de uma unidade mas a prevalência da resistência está associada a doentes imunodeprimidos e com tempo de internamento que envolva a utilização de antibióticos.

A resistência é causa de mortalidade e de despesas para a saúde. Vários estudos determinam a necessidade de redução ao número de antibióticos para fazer face as resistências “é simples antecipar o alcance do controle da resistência e os esforços devem ser de manutenção ao invés de eliminação, com o objectivo de diminuir o desenvolvimento de novas resistências enquanto continuam a desenvolver-se novos agentes numa velocidade suficiente para manter-se à frente da bactéria” (Livermore, 2003)

4.1.9 Resistência aos antissépticos e desinfetantes

A desinfecção e a antissépsia são de extrema importância no controle de *A.baumannii*. É interessante notar que a grande resistência que *A.baumannii* apresenta aos antibióticos não se verifica em relação aos antissépticos e desinfetantes. O estudo realizado por E.Martró (2003) demonstra que, após submeter 9 variantes do microrganismo a 6 antissépticos e 2 desinfetantes, este mostra-se sensível a todos eles.

O estudo foi publicado em 2003 pelo Journal of Hospital Infection (Martró, 2003) e demonstra a sensibilidade do microrganismo a vários desinfetantes e antissépticos hospitalares actualmente utilizados. Os produtos utilizados para teste foram:

•“Sterillium” (mecetronium ethylsulphate, n-propanol and iso-propanol, Bode Chemie, Hamburgo Alemanha);

•“Gel Antisséptico de Manos’ (ethanol and didecyldimethylammonium chloride. Laboratorios Inibsa SA, Llica de Vall, Barcelona, Espanha);

•“Solucion Antisséptica de Manos’ (propanol, isopropanol and o-phenyl-phenol, Laboratorios Inibsa SA, Llica de Vall, Barcelona, Espanha);

•“Hibiscrub” (4% chlorhexidine digluconate, Zeneca SA, Espanha) um antisséptico para lavagem higiênica e lavagem cirúrgica das mãos;

•“Clorinaw” (sodium tosylchloramide, Squibb Industria Farmacêutica SA, Espanha) um produto para antissépsia comum da pele;

• Lifosit (B. Brawn-Dexon SA, Espanha) , um sabão líquido para lavagem comum sem propriedades antissépticas foi também testado e considerado controle.

Dois desinfetantes : Virkon a 1% (potassium monoperoxysulphate triple salt, sulphamic acid and sodium alkyl benzene sulphonate Antec International Ltd, Sudburym, Suffolk, Reino Unido) e Instrunet Superficies” (glutaraldehyde, formol, glyoxal and dodecyl-dimethylammonium chloride. Laboratorios Inibsa SA, Llica de Vall, Barcelona, Espanha).

A sensibilidade dos microrganismos aos desinfetantes demonstra que os produtos utilizados na limpeza das unidades são adequados e eficazes se correctamente utilizados e se os procedimentos forem assíduos (Martró, 2003). São também os focos de contaminação do meio físico institucional os recipientes de microrganismos a combater (Bloomfield, 2006).

4.1.10 Tratamento

A sensibilidade de *A.baumannii* aos antibióticos é diferente entre os países e entre as unidades de um hospital pelo que podem reflectir diferentes protocolos de uso de antibióticos nas diferentes situações. A vigilância local determina a terapêutica mais adequada para infecções por *A.baumannii*. Até o início dos anos 70 as infecções hospitalares por *A.baumannii* eram tratadas com sucesso com gentamicina, minociclina,

ácido nalidíxico, ampicilina ou carbenicilina, isolados ou combinados mas há relatos do aumento das taxas de resistência entre 1971 e 1974. Desde 1975 surtos sucessivos têm demonstrado o aumento da resistência em isolados clínicos de espécies de *Acinetobacter*. Vários *Acinetobacter* são resistentes aos níveis clínicos da maioria dos antibióticos utilizados na clínica incluindo aminopenicilinas, ureidopenicilinas, cefalosporinas de pequeno espectro e amplo espectro, cefamicinas, a maioria dos aminoglicosídeos, cloranfenicol e tetraciclina (Cisneros, 2002).

Para alguns antibióticos como cefalosporinas de quarta geração, imipenemo, tobramicina, amicacina e fluoroquinolonas permanecem relativamente sensíveis mas a CIM (concentração inibitória mínima) destes antimicrobianos tem aumentado substancialmente.

Os *A.baumannii* que causam surtos de infecção hospitalar são geralmente sensíveis a ceftazidima, cefepime, sulbactam, imipenemo, meropenemo, amicacina, polimixina B e colistina. Foram relatados isolados de *A.baumannii* no Japão, Itália, Hong Kong e Coreia que contêm metalo-enzimas classe B mediadas por plasmídeos que hidrolizam todos os antibióticos beta-lactâmicos excepto o aztreonam. A resistência do *A.baumannii* aos carbapenemos entre isolados do Canadá e dos EUA é causada por uma combinação de proteínas das porinas e beta-lactamases.

O imipenemo e meropenemo (carbapenemos) são os antimicrobianos beta-lactâmicos de largo espectro de eleição face a muitas bactérias Gram-positivas e contra a maioria das Gram-negativas. As suas características permitem uma rápida penetração através das membranas, grande afinidade pelas PBPs e elevada estabilidade frente à hidrólise pela maioria das beta-lactamases. Uma das aplicações clínicas mais relevantes dos carbapenemos é o tratamento das infecções nosocomiais por bactérias Gram-negativas multi-resistentes (Urban, 2003).

A combinação de um inibidor de beta-lactamases e um antibiótico beta-lactâmico tem obtido resultados satisfatórios na resistência mediada por beta-lactamases. Inibidores de beta-lactamases possuem uma estrutura beta-lactâmica, mas uma actividade antimicrobiana limitada. A sua função é bloquear a actividade catalítica das beta-lactamases contra os antibióticos beta-lactâmicos através de uma ligação irreversível aos locais activos das

enzimas produzidas pela bactéria. O espectro anti beta-lactamases destes inibidores inclui enzimas transferíveis mediadas por plasmídios e várias enzimas de amplo espectro. Há três inibidores de beta-lactamases para o meio clínico: sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico (Levin, 2002).

A.baumannii tem sido um microrganismo de interesse no que respeita as infecções hospitalares e a sua resistência aos antibióticos. *A.baumannii* expressa uma variedade de beta-lactamases diferentes incluindo as metalo-enzimas que conferem resistência ao carbapenemos. Dois tipos de bombas de efluxo multidrogas foram descritas no género *Acinetobacter*: AdeABC no *A. baumannii* e AdeDE na espécie genómica DNA grupo 3 (Rice, 2006).

Uma das opções terapêuticas é o sulbactam como um inibidor de beta-lactamases para ser usado junto a outros antibióticos beta-lactâmicos como ampicilina. Uma característica que distingue sulbactam de outros inibidores de beta-lactamases disponíveis é a sua actividade antibiótica directa contra *Acinetobacter spp*, microrganismos contra os quais a maioria das cefalosporinas evidencia pouca ou nenhuma actividade (Levin, 2002).

A resistência ao sulbactam tem sido observada em isolados resistentes a imipenemo, sendo as polimixinas (colistina-polimixina E e polimixina B) as alternativas de terapêutica (Rice, 2006). As polimixinas têm sido eficazes no tratamento de infecções causadas por *A.baumannii*. No entanto, a nefrotoxicidade e neurotoxicidade tem limitado a sua utilização. Estes antibióticos ficam acumuladas nos tecidos, especialmente rins e cérebro, mas o mecanismo molecular exacto de toxicidade ainda não é claro e pode ser um pouco exagerado. No entanto, há relatos de resistência durante o tratamento prolongado com estes antibióticos por alterações na membrana citoplasmática (Rice, 2006).

As polimixinas são do grupo dos peptídeos policatiónicos naturalmente sintetizados pelo *Bacillus polymyxa*. Membros desta classe de antibióticos actuam na parede celular bacteriana de Gram-negativas, levando a alterações rápidas de permeabilidade na membrana citoplasmática e à morte da célula. A membrana externa é lesada e torna-se mais permeável, o que permite a entrada aumentada de componentes permeabilizantes.

Entre as cinco polimixinas conhecidas (A até E), apenas a polimixina B e E tem uso terapêutico avançado. Desde 1980 outros agentes antimicrobianos menos tóxicos foram disponibilizados e o uso clínico das polimixinas foi limitado a formulações tópicas para tratamentos de pele, ouvido e olho. Formulações tópicas de polimixina B também têm sido usadas de modo profilático na prevenção de infecções em pacientes neutropênicos ou com fibrose cística. Recentemente, o surgimento de isolados de *P.aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* multi-resistentes causando infecções tem renovado a indicação terapêutica potencial do uso parenteral de polimixinas (Manikal, 2000).

A colistina não tem efeito contra bactérias Gram-positivas, tem um efeito antifúngico ténue e é efectiva contra bacilos Gram-negativos. Pela toxicidade nunca foi a primeira escolha para tratamento de infecções por Gram-negativos. Como a colistina é excretada principalmente pelos rins, elevados níveis sanguíneos do fármaco podem mais tarde prejudicar a função renal (Levin, 2002.) A interacção *in vitro* da polimixina B em combinação com imipenemo ou com rifampicina mostraram-se eficazes, provando ser uma alternativa de tratamento (Yoon, 2004; Manikal, 2000). O provável papel da polimixina B é sua rápida permeabilidade pela membrana externa o que permite a penetração aumentada e actividade da rifampicina e do imipenemo. A eficácia na combinação entre polimixina B ou outro antibiótico peptídico e os carbapenemos é esperado quando a resistência aos carbapenemos é causada por uma proteína de porina deficiente o que pode não ser evidente se o microrganismo possuir actividade de carbapenases significativa por beta-lactamases de classe B (Yoon, 2004).

O maior foco de resistência a antibióticos que ocorreu nos anos 90 com bactérias Gram-positivas como foi o caso do MRSA (*Staphylococcus* resistentes à meticilina) e do VRE (*Enterococcus* resistente à vancomicina) permitiu que fossem desenvolvidos antibióticos eficazes contra estes microrganismos. No entanto muitos deles não têm efeitos em microrganismos Gram-negativos (Rice, 2006).

Imipenemo ou meropenemo são geralmente considerados os antimicrobianos de escolha no tratamento de infecções causadas por *A.baumannii*. Porém, a resistência a estes agentes está a aumentar. Doripenemo é um carbapenemo desenvolvido por Península Pharmaceuticals (Jones, 2004; Ge, 2004). Apresenta uma actividade contra bactérias

Gram-positivas semelhante ao imipenemo e contra bactérias Gram-negativas semelhante ao meropenemo. Doripenemo é menos susceptível de ser hidrolizado por metallo-beta lactamases do que os outros carbapenemos (Rice, 2006). Doripenemo, imipenemo e meropenemo são igualmente eficazes contra *A.baumannii*. (Jones, 2004).

Tigeciclina (Tygacil) é o primeiro membro do novo grupo de antibióticos denominado glicilciclinas estruturalmente semelhantes aos antibióticos da classe das tetraciclinas e foi aprovado por US Food and Drug Administration em Junho de 2005 para o tratamento de infecções da pele e tecidos e infecções intra-abdominais complexas (Dartois, 2004). Tigeciclina é eficaz contra microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e anaeróbios (Milatovic, 2003) e demonstrou ser altamente eficaz no combate a infecções por *A.baumannii* multi-resistentes. No entanto ainda não há estudos em número suficiente que envolvam o tratamento de doentes com este antibiótico (Pachon-Ibanez, 2004).

Tigeciclina não é considerado um agente infalível nas infecções por *A.baumannii*. A existência de bombas de efluxo RND-tipo no *A.baumannii* sugere que possa emergir resistência durante o tratamento (Rice, 2006). Mas o Tygacil é um antibiótico de largo espectro que constitui uma útil opção alternativa até ser identificada a bactéria. O Tygacil foi desenvolvido pela Wyeth para vencer dois mecanismos-chave de resistência às tetraciclinas, as bombas de efluxo e a protecção ribossomática e não é afectado por outros mecanismos de resistência tais como as beta-lactamases de largo espectro, que limitam o número de opções de antibióticos disponíveis.

Futuros desenvolvimentos na área do combate a infecções por microrganismos Gram-negativos será desenvolver novos inibidores beta-lactâmicos tais como os actualmente desenvolvidos ampicilina-sulbactam, ticarcilina-ácido clavulânico e piperacilina-tazobactam mas que já apresentam limitação face às enzimas AmpC e as metalo-enzimas (Rice, 2006). A importância das bombas de efluxo na resistência a *A.baumannii* fez com que se desenvolvessem mecanismos de inibição às bombas de efluxo. Porém torna-se um objectivo complexo devido à multi-resistência das bactérias a vários antibióticos levando a que estas tenham uma variedade de diferentes bombas de efluxo (Kriengkauykiat, 2005).

Os agentes mais frequentemente activos no tratamento de infecções por *A.baumannii* são:

➤ Agentes isolados:

- imipenemo, meropenemo, sulbactam, ampicillina/sulbactam, amicacina, polimixina B e E-colistina (Rahal, 2000).

➤ Combinações (in vitro):

- Polimixina B com azitromicina, ripampicina sulfametoxazole-trimetropin, imipenemo e meropenemo (Manikal, 2000).
- Sulbactam com rifampicina, azitromicina ou trovafloxacina (Appleman, 2000).
- Rifampicina com imipenemo ou ticarcilina com clavulanate-sulbactam (Wolff, 1999)

4.2 Bactérias do género *Staphylococcus*

4.2.1 Características Gerais

Staphylococcus aureus cresce em meios correntes. Em agar sangue produz hemólise B completa e para além de hemólise quente-fria (37/4/37°C). Forma colónias lisas, brilhantes, convexas e possui um pigmento que pode ser de cor amarelo-alaranjado a branco porcelana dourado (aureus). Fermenta glucose, maltose e lactose e manitol em condições de anaerobiose. Produz ácido e não produz gás. Expressa vários quadros clínicos em animais devido a variedade de enzimas e toxinas que produz. No Homem cerca de 30% são portadores sãos na naso-faringe e na pele. O seu poder patogénico é resultado da síntese de toxinas e enzimas (Kluytmans, 1997).

Designam-se MRSA o *Staphylococcus aureus* que adquiriu o gene *mecA* de resistência a meticilina (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Este gene é codificado num elemento genético móvel designado Staphylococcal Cassette_Chromosome *mec* (SCC*mec*) (Ito, 2003). É um coco Gram-positivo, catalase positivo e oxidase negativo com as

características fenotípicas de caixos de uvas. MRSA tem vários factores de virulência em que se inclui a Panton-Valentine Leukocidin (PVL), que está implicada nas infecções da pele e tecidos e causa doenças graves tais como a pneumonia necrosante (Gillet, 2002; Lina et al. 1999). Outros factores de virulência incluem hemolisinas, enterotoxinas e outras toxinas tornando os MRSA patogéneos extraordinários especialmente para hospedeiros imuno-comprometidos (Kluytmans, 1997).

4.2.2 Metodologias de identificação

A avaliação laboratorial da sensibilidade aos antibióticos para *S. aureus* é realizada através do teste de difusão em discos, PCR (Reacção em Cadeia da Polimerase), Eletroforese em campo pulsado (PFGE) e E-test.

O teste de difusão em discos é realizado em placas contendo agar Mueller-Hinton (MH) acrescido de 2% de cloreto de sódio.

As placas são incubadas a 37°C durante 24 horas. A leitura é realizada medindo-se os diâmetros dos halos de inibição formados ao redor dos discos; a interpretação é feita de acordo com a tabela de halos padronizada pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) recentemente denominada CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), uma organização norte-americana privada, que mantém convenções com especialistas da indústria e do governo dos Estados Unidos da América. Desenvolve normas para laboratórios clínicos, mas não defende, avalia ou recomenda qualquer sistema comercial para teste de sensibilidade dado que essa função pertence a Food and Drug Administration (FDA — Administração de Alimentos e Drogas, dos EUA) (Peloso, 2005). Em geral, o resultado é expresso em sensível, moderadamente resistente (intermédio) e resistente. No antibiograma relaciona-se o diâmetro do halo de inibição e a CIM ou Concentração Inibitória Mínima.

A detecção de resistência do *S.aureus* à meticilina e de outros antibióticos pode ser realizada através de equipamentos automatizados que forneçam o valor da CIM. O E-test é uma técnica prática e rápida. Coloca-se uma fita plástica com concentrações crescentes de

antibiótico numa placa de Petri que contem agar Mueller-Hinton a 37°C e será fornecido o valor da concentração inibitória mínima directamente segundo o CLSI (Souza, 2005).

Outro método utilizado para a genotipagem de *Staphylococcus* é a electoforese em campo pulsado (PFGE, pulsed-field gel electrophoresis). Indicado para estudos com finalidade epidemiológica é sobretudo útil na investigação de surtos hospitalares (Teixeira, 1995).

Em PFGE as enzimas de restrição reconhecem sítios pouco frequentes, o que resulta em fragmentos de DNA grandes. O número de fragmentos varia de um isolado para outro possibilitando a formação de padrões eletroforéticos de fácil análise e comparação (Bannerman 1995).

A técnica de PFGE tem sido considerada um método *gold standard* para a tipagem de MRSA devido ao seu elevado poder discriminatório, a sua alta reprodutibilidade e sua boa correlação com dados epidemiológicos (Senna, 2002).

4.2.3 Papel na Infecção Hospitalar

A existência de antibióticos reduziu a mortalidade devido a várias doenças infecciosas. No entanto a administração de antibióticos ao Homem e seu uso com outras finalidades favoreceram e ainda favorecem a selecção de microrganismos resistentes. Assim muitos antibióticos perderam e ainda perdem a sua eficácia, facto que agora se estende à comunidade extra hospitalar (Souza, 2005).

Os avanços tecnológicos que auxiliam nos procedimentos de diagnóstico e tratamento permitiram que a utilização de técnicas invasivas (técnicas que atravessam a barreira cutânea do doente) permitam a invasão microbiana. Um dos procedimentos generalizado em meio hospitalar é a colocação de catéteres para terapêutica endovenosa.

Durante a colocação do catéter pode haver contaminação da mucosa pelas bactérias hospitalares provocando uma reacção inflamatória com produção de toxinas bacterianas que irão por sua vez favorecer a fixação de bactérias. Daí pode resultar uma infecção

crónica, necrose tecidual, sépsis e levar à resistência aos antibióticos pela migração entre a superfície do catéter e o vaso sanguíneo. Os microrganismos que acedem ao corpo humano podem ter origem em microrganismos existentes na própria pele introduzidos aquando da punção ou serem microrganismos contaminantes do próprio catéter. Os microrganismos mais frequentes nessas infecções são *S.aureus*, bactérias Gram negativas e fungos (Ferretti, 2002). A hospitalização prolongada expõe o doente mais tempo a um ambiente populado de microrganismos e aumenta o risco de infecção hospitalar (Thèrre, 2001).

As infecções hospitalares por *Staphylococcus* através de partículas aéreas em hospitais ocorrem particularmente nos centros cirúrgicos e enfermarias (Montimer, 1960). Os sistemas de ar condicionado podem acumular bactérias, vírus e fungos capazes de sobreviver em ambientes secos por longos períodos (Kramer, 2006). Os principais microrganismos identificados como potenciais causadores de infecção hospitalar num estudo realizado no Brasil por Afonso (2004), foram: *Legionella pneumophila*, *Bacillus sp*, *Flavobacterium sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Actinomyces spp.*, *Paracoccidioides spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Fusarium spp.* e vírus da influenza, *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus spp.* e vírus Norwalk sendo estes três últimos microrganismos, associados a casos de infecção hospitalar disseminados por ar condicionado. O reservatório do sistema de ar condicionado foi a principal fonte de multiplicação microbiana encontrada por formar um biofilme e desencadear a cadeia de transmissão.

A capacidade de do MRSA causar surtos epidémicos prolongados está relacionada com o meio hospitalar que rodeia o doente (Kramer, 2006). Foram documentados focos de contaminação em objectos do meio hospitalar como:

- de tesouras dos profissionais de saúde, em que de 232 tesouras analisadas, 182 estavam colonizadas com *S.aureus* e eram utilizadas em meio hospitalar (Embil, 2002);

- de terminais de computador que sugere que a contaminação do ambiente com MRSA não se limita ao quarto ou enfermaria em que o doente se encontra e que os terminais de computador são um reservatório complexo de MRSA. (Bures, 2000; Devine, 2001);
- de canetas dos profissionais de saúde em que foi isolado MRSA e dos estetoscópios foi isolado *S.aureus* embora não se tenham relacionado surtos a partir destes utensílios (Embil, 1998);
- de esfregões para limpeza de materiais e esfregonas para limpeza de pavimentos (Ballemans, 2003);
- de grelhas de ventilação de onde foi isolado MRSA (Kumari, 1998);
- de puxadores das portas. De 196 puxadores analisados num hospital universitário, 53 estavam contaminados com MRSA e/ou *S. aureus* (41 puxadores estavam contaminados com *S. aureus* e 17 com MRSA, havendo 5 contaminados com MRSA e *S. aureus*) (Oie, 2002);
- de camas, mesas, parapeitos de janelas, piso de instituições hospitalares de onde foi isolado MRSA (Blythe, 1998);
- de aparelhos de televisão em que foi isolado MRSA (Bloomfield, 2006);
- de cortinas, fraldas, colchões e cadeiras onde foi isolado MRSA (Bloomfield, 2006);
- de bips onde foi isolado MRSA e *S. aureus* (Singh, 2002);
- de camas e colchões sobretudo de quartos de isolamento (Sexton, 2006).

Vários estudos demonstram que MRSA pode sobreviver em superfícies até 6 meses (Smith, 1996; Wagenvoort, 2002) ou 7 meses (Kramer, 2006) podendo ser transmitidos pelas mãos dos profissionais de saúde e visitas de amigos e familiares ao doente por transmissão indirecta (Boyce, 1997).

Num estudo recente (Huws, 2006) foi demonstrado que MRSA infecta e reproduz-se na *Acanthamoeba polyphaga*. Após 24h de MRSA dentro de uma suspensão de amoeba, 50% da amoeba estava infectada com MRSA. Esta amoeba existe habitualmente no ambiente e pode ser encontrada em superfícies. O estudo demonstra que MRSA prolifera na presença de *A. Polyphaga* pelo que as Comissões de Controle de Infecção Hospitalar poderão utilizar este conhecimento para medidas de controle de MRSA através de medidas de controle deste protozoário.

Embora a limpeza convencional reduza o nível de contaminação está estudado que MRSA persiste no ambiente apesar da limpeza das instituições (Blythe, 1998; Sexton, 2006).

A resistência apresentada pelas bactérias em ambiente hospitalar deve-se aos factores desencadeantes dessa resistência. A pressão selectiva sobre as bactérias, favorece a multiplicação de mutantes resistentes presentes em toda população bacteriana. Estas são mais frequentes no ambiente nosocomial, levando ao aumento da morbidade e mortalidade, por limitar a opção de antimicrobianos para o tratamento (Sader, 1996).

Frequentemente, o isolamento de MRSA em doentes no meio extra-hospitalar está relacionado ao uso prévio de antibióticos, internamento recente (infecção hospitalar), atendimento diário em instituições de saúde e uso de drogas por via endovenosa (Tavares, 2000).

4.2.4 Poder patogénico

S. aureus causa inúmeras infecções e colonizações no Homem e mais de 30% da população é portador assintomático (Kluytmans, 1997). O mesmo acontece com MRSA. A colonização ocorre quando MRSA habita num organismo são, normalmente na pele ou na oro-faringe. A descolonização de MRSA é realizada com antissépticos tópicos na higiene

corporal e por antibióticos tópicos como é o caso da mupirocina na colonização nas fossas nasais.

MRSA torna-se patogénico em indivíduos imuno-comprometidos e em internamentos hospitalares mas há também registos de infecções por MRSA em indivíduos saudáveis sem internamentos anteriores (Zetola, 2005).

Na década de 1940, *S.aureus* era sensível à penicilina. No fim dos anos 50, a espécie *S.aureus* tinha adquirido resistência a praticamente todos os antibióticos de uso parenteral, incluindo a eritromicina e a tetraciclina (Chambers, 2001).

A introdução das penicilinas resistentes a penicilinasas, na década de 1960, possibilitou um avanço na terapêutica. Com o uso das penicilinas semi-sintéticas, como a meticilina utilizada no tratamento de infecções estafilocócicas, surgiram estirpes resistentes à meticilina denominadas MRSA, cujo padrão de resistência se estende a outros antibióticos beta-lactâmicos. Em 1997, foram descobertas amostras de *S. aureus* resistentes aos glicopeptídeos denominadas VRSA (Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*) (Chambers, 1993).

4.2.5 Resistência aos antibióticos

Os isolados de *Staphylococcus* resistentes à penicilina puderam ser observados com a introdução da penicilina G em meio clínico em 1941 registando-se em 1944 e 1945 nos EUA índices de resistência de 12 a 22%. Em 1950 (cerca de cinco anos após a disponibilidade deste antibiótico para o tratamento de infecções em populações civis), a resistência já atingia cerca de 30% das amostras hospitalares norte americanas (Tavares, 2000). No final da década de 50 cerca de 80% dos *Staphylococcus aureus* isolados em hospitais americanos demonstravam-se resistentes à penicilina devido à produção de penicilinasas inactivadoras destes antibióticos codificadas geneticamente por plasmídios (Tavares, 2000). Actualmente em todo o Mundo os *Staphylococcus* comunitários sejam coagulase-positivos ou coagulase-negativos oferecem elevada resistência (acima de 70%) à

benzilpenicilina (penicilina G), bem como à penicilina V, ampicilina, amoxicilina e carbenicilina (Tavares, 2000).

Para combater estes *Staphylococcus* foram descobertas as penicilinas anti-estafilocócicas, tais como a meticilina e a oxacilina e seus derivados, e as cefalosporinas da primeira e segunda geração. Contudo, logo após a introdução das primeiras penicilinas anti-estafilocócicas, surgiram bactérias deste género resistentes, inicialmente na Europa, em 1961, e depois noutras partes do Mundo. *Staphylococcus* tem demonstrado um aumento da resistência também a estes beta-lactâmicos penicilinase-resistentes registando-se índices de resistência de 30% a 66%, principalmente em hospitais centrais (Souza, 2005).

A resistência intrínseca dos *Staphylococcus* à meticilina/oxacilina resulta de suas PBPs (Penicillin Binding Proteins), presentes na parede celular, as quais são expressas por um gene cromossómico adquirido, *mecA*, que codifica as PBP2' ou 2a, cuja afinidade com os antibióticos beta-lactâmicos é muito baixa. Esta resistência dos *Staphylococcus* aos antibióticos beta-lactâmicos pode depender de alguns factores ambientais como pH, temperatura e osmolaridade (Souza, 2005).

Alguns genes, designados genes auxiliares ou factores essenciais como o gene *fem* contribuem para que revele um alto nível de resistência aos beta-lactâmicos. Foram identificados esses genes *fem*, denominados *femA*, *femB*, *femC*, *femD*, *femE* e *femF*.

O gene *femA* é fundamental para a manifestação da resistência dos MRSA (*Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*) e parece ser uma característica inerente ao *S.aureus*, não encontrado noutras espécies de *Staphylococcus*. Os genes *femA* e *mecA* têm sido detectados em estirpes de *S.aureus* resistentes à meticilina/oxacilina por meio de técnicas moleculares como a PCR (Reacção em cadeia da polimerase). Esta técnica oferece elevada eficácia e segurança, além de ser um método rápido e sensível (Senna et al. 1996) oferecendo maior eficácia e segurança quando comparado aos métodos tradicionais de identificação bacteriana empregados na rotina laboratorial. Além disso, com a PCR é possível identificar MRSA em 18 horas aproximadamente (Louie, 2002)

A resistência aos antibióticos no *S. aureus* pode ser codificada cromossomicamente ou mediada por plasmídios. *Staphylococcus aureus* possui três mecanismos diferentes de resistência à meticilina. Os três mecanismos podem estar presentes numa amostra correlacionando-se:

- hiperprodução de beta-lactamases,
- presença de uma proteína ligadora de penicilina (PBP-protein binding penicilin),
- alterações na capacidade de ligação das PBPs (Souza, 2005).

S. aureus possui cinco PBPs. As PBPs são enzimas que catalisam a última fase de síntese da parede bacteriana e localizam-se na membrana celular da bactéria. As PBP 1, 2 e 3 são essenciais e têm afinidade com os antibióticos beta-lactâmicos, unindo-se a estes. A resistência à meticilina no *Staphylococcus* é devida à produção de uma PBP adicional, anormal, denominada PBP 2a, que apresenta reduzida afinidade com os antibióticos beta-lactâmicos. Esta proteína alterada é codificada por um gene cromossômico denominado *mecA*, que é responsável pela resistência intrínseca dos *Staphylococcus* à meticilina e a todos os antibióticos beta-lactâmicos (Witte, 1997).

Desde a década de 1970, *Staphylococcus* meticilina resistentes (MRSA) tornaram-se a principal causa de infecções hospitalares no mundo. À exceção da descrição esporádica de estirpes de *S. aureus* resistentes à teicoplanina, mas com sensibilidade à vancomicina, *S.aureus* conservaram até recentemente a sensibilidade aos glicopeptídeos. Porém na década de 90 surgiram estirpes de *S.aureus* com reduzida sensibilidade à vancomicina (CIM> 8-16 ug/ml), inicialmente no Japão, depois nos Estados Unidos da América e actualmente na Europa. A vancomicina era o antibiótico de eleição utilizado no combate à infecção por MRSA mas em 1997 foram relatados *Staphylococcus aureus* com resistência à vancomicina e à teicoplanina e adquiriram a sigla VISA (*Staphylococcus aureus* com resistência intermédia à vancomicina) e actualmente são denominados VRSA (vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*). O mecanismo de resistência está associado a uma activação da síntese da parede celular devido à elevada produção de componentes da parede celular que reduz a quantidade de antibiótico que chega ao seu local de acção (alvo na membrana citoplasmática). Ocorre hiperprodução de enzimas que catalisam a última

fase de síntese da parede bacteriana ligadoras de penicilinas (PBP2 e PBP2') e consequente espessamento da parede celular (Souza, 2005)

Foram encontrados *Staphylococcus* com resistência aos glicopeptídeos inicialmente presenciada em *Staphylococcus* que também demonstravam resistência à meticilina e oxacilina e em doentes submetidos anteriormente a terapêutica endovenosa com vancomicina, o que indica a pressão para a seleção de estirpes resistentes. Os *Staphylococcus* resistentes aos glicopeptídeos têm como alternativas terapêuticas as estreptograminas (quinupristina/dalfopristina) e as oxazolidinonas (linezolid) disponíveis para uso clínico e a combinação da vancomicina com um antibiótico beta-lactâmico. As estratégias para o controle dos *Staphylococcus* com resistência à vancomicina incluem as medidas universais de controle de infecção (EPI), a vigilância epidemiológica, o isolamento de doentes e o uso criterioso dos glicopeptídeos e tratamento sintomático dos doentes infectados (Tavares, 2000).

Nos *Staphylococcus* denominados MRSA ou ORSA (*Staphylococcus aureus* meticilina ou oxacilina resistentes) a resistência é resultado de genes cromossômicos que codificam modificações no receptor de ação dos beta-lactâmicos, as proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs), havendo a produção de novas PBPs (PBP2' ou PBP 2a) com pequena afinidade pelos beta-lactâmicos. Estes genes de resistência resultaram de mutação e transposição entre os *Staphylococcus*. Excepcionalmente *Staphylococcus* podem apresentar uma menor resistência à oxacilina e à meticilina devido à produção de uma PBP estruturalmente modificada ou pela superprodução de beta-lactamases que inativam estes antibióticos. (Souza, 2005)

O MRSA são também resistentes às cefalosporinas e ao imipenemo e outros carbapenemos e frequentemente resistentes a macrólidos, aminoglicosídeos, tetraciclínas, mupirocina e cotrimoxazol (por mecanismos bioquímicos específicos, codificados geneticamente no cromossoma ou em plasmídios) e às fluoroquinolonas (Tavares, 2000).

4.2.6 Resistência aos antissépticos e desinfetantes

A utilização correcta dos antissépticos e desinfetantes nas instituições hospitalares é considerada uma técnica de defesa contra os surtos de infecção hospitalar por microrganismos multi-resistentes e permite dessa forma a redução do recurso aos antibacterianos (Ioannou, 2007). Os profissionais de saúde devem ser elucidados da eficácia dos antissépticos e desinfetantes para que possam ser sensibilizados para a sua correcta utilização. A formação nessa área pode permitir a formulação correcta de protocolos de actuação perante situações concretas de infecção hospitalar e para estabelecer uma política de desinfecção e antissépsia corrente. Tal conduzirá a uma optimização de antissépticos e desinfetantes. Os parâmetros numéricos da eficácia de antissépticos e desinfetantes no *S.aureus* no estudo de Ioannou (2007) determinam a sua utilização preventiva de surtos hospitalares de *S.aureus* e *MRSA*.

4.2.7 Tratamento

A contaminação por *MRSA* faz-se por contacto directo de indivíduo para indivíduo ou por contacto indirecto pelo ambiente contaminado. Uma das estratégias de combate para prevenção e controle de *MRSA* em indivíduos infectados ou colonizados são o isolamento em quartos privados ou em enfermarias cujo agente infeccioso é comum. O EPI é utilizado de acordo com a localização do isolado encontrado (Bioquell, 2005). O doente é tratado com terapêutica antibiótica endovenosa.

A gentamicina é um aminoglicosídeo que apresenta amplo espectro de acção contra *Staphylococcus*. No entanto outros antibióticos são utilizados de maneira mais eficaz para o tratamento de infecções por *Staphylococcus* pelo que não é utilizado como preferencial nestas infecções. Este antibiótico apresenta acção sinérgica com a oxacilina e a vancomicina, sendo ainda utilizado no tratamento de sépsis e endocardites por *Staphylococcus* (Tavares, 2000).

A amoxicilina é uma penicilina semi-sintética, introduzida em 1970, cujo mecanismo de acção é semelhante ao da penicilina G. Entretanto é comum ocorrer resistência à

amoxicilina causada pela produção de beta-lactamases pelos *Staphylococcus*. Com a finalidade de minimizar a acção das beta-lactamases, a amoxicilina é disponível em associação com o ácido clavulânico, que é um inibidor das beta-lactamases. A associação da amoxicilina com o ácido-clavulânico é utilizada para o tratamento de infecções urinárias, respiratórias e da pele provocadas por *Staphylococcus* produtores de beta-lactamases.

Pesquisas laboratoriais foram desenvolvidas para obter cefalosporinas resistentes à inactivação por beta-lactamases que apresentassem acção contra bactérias Gram-negativas e eficácia contra os Gram-positivos, especialmente contra o *Staphylococcus*. Surgiram as cefalosporinas de quarta geração. A cefpiroma é o primeiro representante desse grupo (Tavares, 2000).

A cefpiroma é eficaz contra os cocos Gram-positivos, incluindo *S. aureus* e *S. epidermidis* sensíveis e resistentes à penicilina, mas pouco eficaz contra MRSA. A cefpiroma é indicada para tratamento de infecções urinárias, respiratórias e da pele (Norrby, 1993). Possui ampla acção antimicrobiana e tem a vantagem de não induzir resistência, o que ocorre com cefalosporinas da segunda e da terceira gerações. No entanto, as cefalosporinas da quarta geração não têm acção contra *Staphylococcus* resistentes à oxacilina, nem têm acção contra anaeróbios Gram-negativos e podem ser inactivadas por beta-lactamases de amplo espectro (Tavares, 2000).

Os glicopeptídeos, cujos principais antibióticos são a vancomicina e a teicoplanina, têm representado a alternativa terapêutica para as infecções causadas por *Staphylococcus* produtores de penicilinase e resistentes à oxacilina (Schwalbe et al. 1987 citado por Tavares, 2000). Embora seja um antibiótico activo sobre microrganismos Gram-positivos, a vancomicina é especificamente indicada para o tratamento de infecções estafilocócicas sistémicas em doentes alérgicos às penicilinas ou para as infecções por MRSA como uma alternativa às penicilinas e às cefalosporinas (Albanese, 2000). A teicoplanina tem as mesmas indicações com a excepção das infecções meningéas contra as quais não é indicada por não atravessar a barreira hemato-encefálica (Woode, 1996 citado por Tavares, 2000).

As estreptograminas constituem um grupo de antibióticos formados por uma mistura de duas classes de componentes quimicamente distintos, designados estreptograminas A e B. Quinupristina-dalfopristina é uma estreptogramina semi-sintética injectável, resultante da mistura de quinupristina e dalfopristina (na proporção 30:70%) que, por sua vez, são derivados semi-sintéticos de pristinamicina IA (PIA: estreptogramina B) e pristinamicina IIA (PIIA: estreptogramina A), segundo Tavares (2000). A ligação desses componentes à subunidade 50S do ribossoma bacteriano causa inibição da síntese de proteínas. Isoladamente, cada componente apresenta moderada actividade bacteriostática, mas a combinação demonstra efeito sinérgico bactericida, que tem sido atribuído à ligação sinérgica desses componentes com o local alvo localizado no ribossoma.

Quinupristina-dalfopristina é activa contra uma ampla variedade de microrganismos Gram-positivos, incluindo MRSA. Uma vez que as estreptograminas A e B são quimicamente diferentes e têm diferentes locais alvo, os mecanismos de resistência são diferentes. O tipo mais comum de resistência a estreptogramina B está relacionado com a produção de metilases ribossomais codificadas pelo gene *erm*. A resistência resulta na diminuição da ligação da estreptogramina B com o ribossoma bacteriano. A resistência à estreptogramina A está associada à inactivação da estreptogramina B por liases codificadas pelos genes *vgb*, o que produz um alto nível de resistência à mistura de estreptograminas (Mukhtar et al 2001 citado por Tavares 2000). Esta resistência em *Staphylococcus aureus* tem sido raramente relatada e deu-se em virtude da aquisição do gene *vat* (Kehoe et al. 2003, citado por Tavares, 2000).

Outro grupo de antibióticos utilizados para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas é o das oxazolidinonas. As oxazolidinonas são substâncias antibacterianas sintéticas e não apresentam relação com outras classes de antimicrobianos. A sua estrutura química caracteriza-se pela presença de um anel oxazolidinona e o principal antibiótico deste grupo é o linezolid (Velásquez, 2002). O mecanismo de acção do linezolid consiste em inibir a síntese proteica ao ligar-se à subunidade 50S do ribossoma deformando o RNA transportador e inibindo a sua ligação ao ribossoma. Dessa forma, impede o início da formação do complexo peptídico. O linezolid não apresenta resistência cruzada com outros agentes antibióticos existentes e é eficaz contra microrganismos Gram-positivos inclusive MRSA (Tavares, 2005).

5. CONTROLE DA INFECÇÃO HOSPITALAR E DA DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA

O controle da infecção hospitalar, o conhecimento da resistência aos antibióticos e as formas de combate da disseminação da resistência compõem um conjunto de ações desenvolvidas deliberada e sistematicamente que têm como objectivo a redução das infecções nosocomiais.

Destacam-se o uso racional de antibióticos, antissépticos e desinfectantes e técnicas hospitalares de diagnóstico e tratamento. Em conjunto, a farmácia hospitalar, o laboratório de análises, a comissão de infecção hospitalar e o médico deve ser definida uma política de utilização de antimicrobianos.

As consequências lamentáveis da ausência de um programa efectivo para o controle das infecções hospitalares, não se restringem a um desperdício de recursos ou de vidas. Num processo jurídico o prestador de serviço julgado e considerado culpado, pode ser obrigado a indemnizar familiares e/ou cumprir pena de prisão. A instituição, além dos prejuízos na sua imagem pública, pode perder a Acreditação e potenciais financiamentos. Os profissionais de saúde também estão sujeitos a sanções pela infracção aos códigos de ética e punições por parte das respectivas Ordens.

Este importante problema de saúde pública prejudica doentes, profissionais e instituições podendo acarretar consequências futuras. É necessário prudência e formação podendo até ser inevitável criar recompensas em forma de subsídios para todos os profissionais envolvidos na assistência aos doentes, para administradores e avaliadores dos serviços de saúde e até aos formuladores de políticas de saúde.

O presente trabalho permitiu reunir informação de forma a sugerir princípios básicos do controle da infecção hospitalar e da disseminação da resistência bacteriana.

Algumas sugestões requerem a colaboração de administradores hospitalares pelos custos envolvidos inerentes às mudanças mas outros são de simples aplicação na realidade institucional.

Os princípios a ter em conta na implementação de medidas preventivas e/ou correctivas estão relacionados com: o doente, o profissional directamente envolvido e as instalações e equipamentos.

Relacionados com o doente:

- Limitar o horário e o número de visitas ao doente (fornecendo informação sobre a infecção hospitalar);
- Distribuir folhetos informativos sobre casos reais de infecção hospitalar (formas de contaminação, colonização e infecção);

Relacionados com o profissional envolvido no tratamento do doente:

- Isolar de imediato o doente aquando da entrada no serviço se houver suspeita de infecção (sintomas ou proveniência) e tratamento precoce da infecção até confirmação laboratorial (com uso de altas concentrações e associação de antibióticos para superar os mecanismos de inactivação de antibióticos), com o compromisso de reformular o tratamento imediatamente após resultados laboratoriais (é fundamental o trabalho de colaboração e comunicação entre os vários profissionais de saúde envolvidos);
- Permitir o acesso a testes de diagnóstico rápidos para identificar microrganismos e as respectivas propriedades de resistência (é fundamental o investimento na formação e actualização dos conhecimentos nessa área);
- Normalizar o tempo mínimo de internamento face a cada diagnóstico de entrada e justificar a necessidade de prolongar o internamento;
- Evitar e/ou suspender a terapêutica endovenosa (evicção da utilização de catéteres periféricos e centrais);
- Organizar e planear a monitorização das fossas nasais e oro-faringe da equipe de saúde periodicamente para detecção de portadores de microrganismos resistentes e implementar tratamento;
- Manter um estudo de acompanhamento da resistência aos antibióticos na instituição de saúde com intervalos regulares de tempo, para detecção de possíveis mudanças nos padrões de resistência aos antibióticos;

- Incentivar à investigação de soluções para combate aos microrganismos resistentes aos antibióticos (microrganismos associados à sua proliferação nas superfícies inanimadas, solutos eficazes, medidas inovadoras etc).

Relacionados com as instalações e equipamentos:

- Colocar portas automáticas activadas por sensor automático de proximidade (sem puxadores);
- Colocar solutos de lavagem de mãos, higiene corporal do doente, antissépticos e desinfectantes em distribuidores activados por sensor automático de proximidade (sem alavancas).
- Fornecer tesouras nos locais de trabalho, suficientes para utilização única e imediata colocação em recipiente de desinfecção;
- Informatizar os registos (evicção do uso de canetas);
- Supervisar diariamente as medidas de limpeza e desinfecção das instalações hospitalares e do equipamento com formação, sensibilização e atribuição de incentivos ao pessoal envolvido (incluindo teclados de computador e restante equipamento informático, televisores, colunas de aparelhos de som, grelhas de ventilação, puxadores das portas, camas, mesas, parapeitos de janelas, cortinas, cadeiras, sofãs, colchões, almofadas, condutas e bips);
- Cumprir os padrões e normas para manutenção da qualidade do ar em ambientes hospitalares (salas do bloco operatório com isolamento protector e pressão positiva, renovação de ar com mais que 12 trocas de ar externo/hora, uso de filtros do tipo Hepa, localização da fonte de captação de ar longe de fontes poluentes, fezes de pombos, vegetação abundante e construções, limpeza mensal dos componentes do sistema de climatização, quinzenal para os componentes hídricos e semestral para a o sistema de ductos de ar e forros falsos (Afonso, 2004);

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A resistência aos microrganismos tem evoluído ao longo dos anos de várias formas como se pode verificar neste estudo, o que tem contribuído para o aumento da infecção hospitalar ou nosocomial.

Para o controle da infecção hospitalar e a diminuição da resistência aos antibacterianos é necessário uma estreita colaboração entre a comissão de controle da infecção hospitalar (CCIH), bacteriologistas, farmacêuticos, médicos, enfermeiros, auxiliares de acção medica e pessoal da limpeza da estrutura física hospitalar.

As principais medidas são o isolamento do doente infectado ou colonizado com o agente bacteriano, a utilização de material descartável e/ou de uso exclusivo ao doente isolado, a utilização adaptada da antibioterapia, a investigação da fonte de contaminação (exterior à instituição, inerente às instalações físicas hospitalares e/ou aos profissionais da instituição) e a monitorização das medidas de higiene e desinfecção das instalações hospitalares e do equipamento.

O laboratório de bacteriologia tem um papel primordial através da CCIH no alerta dos serviços clínicos aquando do aumento da incidência e na detecção do doente contaminado e/ou infectado e controla através do despiste laboratorial, a eficácia das medidas de limpeza e desinfecção participando na identificação de fontes de contaminação.

É importante conhecer os perfis de resistência locais, para que não sejam utilizados antibacterianos tomando em consideração padrões de resistência descritos na literatura. Desse modo, é possível que se desenvolvam políticas de controle de infecção específicas para cada hospital optimizando os novos antibacterianos disponíveis no mercado. Por serem antibacterianos novos, o perfil de efeitos secundários e de resistência bacteriana são desconhecidos e só serão estabelecidos através de políticas de farmacovigilância durante a sua utilização na realidade hospitalar.

O desafio que é o desenvolvimento de novos antibióticos para o tratamento de infecções por bactérias multi-resistentes deriva do facto destes agentes permanecerem meses em superfícies inanimadas tornando o ambiente hospitalar um recipiente propício à contaminação e à infecção oportunista.

A pressão selectiva favorece a resistência e muitas das estratégias dos microrganismos para sobreviverem ao stress ambiental são utilizadas para o aumento da resistência.

A informação sobre genética bacteriana e a crescente capacidade em manipular compostos químicos favorece a criação de novos antibióticos mas até lá o uso indiscriminado de antibióticos contribui para a resistência.

Novos estudos são necessários para:

- Avaliar a relação entre *A.baumannii*, *S.aureus*, MRSA e outros agentes bacterianos com a aquisição da infecção hospitalar em instituições de saúde em que estes agentes são endémicos.
- Demonstrar e fundamentar as condições que propiciam a permanência dos microrganismos resistentes em superfícies inanimadas durante tantos meses.

Desse modo talvez se possa actuar na diminuição de condições ideais para a sua permanência em superfícies. Com as devidas medidas de higiene e desinfecção do ambiente físico, do doente e a descolonização do profissional de saúde, associado à utilização de novos antibióticos, talvez se possa erradicar a infecção hospitalar e combater a resistência aos antibióticos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abelson, M., A. Plumer. 2004. Resistência bacteriana: a ameaça constante. Review of Ophthalmology.

Afonso, M., A. F. V. Tipple, A.C.S. Souza, M. A. Prado, P.S. Anders. 2004. A qualidade do ar em ambientes hospitalares climatizados e sua influência na ocorrência de infecções. Revista Eletrônica de Enfermagem.

Albanese, J. 2000. Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics of vancomycin administered by continuous infusion to mechanically ventilated patients in an intensive care unit. Antimicrob Agents Chemother. 44:1356-1358.

Anvisa.gov.br-legislação. 2006. Anvisa 13:18.

Appleman M., H. Belzberg, D.M. Citron. 2000. In vitro activities of non traditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. Antimicrob Agents Chemother . 44:1035–40.

Ballemans, C., H.E. Blok, J. Swennenhuis, A. Troelstra, E.M. Mascini. 2003. Dry cleaning or wet mopping: comparison of bacterial colony counts in the hospital environment. J. Hosp. Infect. 53:150-152.

Bannerman, T., G.A. Hancock, F.C. Tenover, M. Miller. 1995. Pulsed-field Gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 33:551-555.

Bhalla, A., N.J. Pultz, D.M. Gries, A.J. Ray, E.C. Eckstein, D.C. Aron, C.J. Donskey. 2004. Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 25:164-167.

Bioquell. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), disponível em <http://www.bioquell.com>.

Blythe, D., D. Keenlyside, S.J. Dawson, A. Galloway. 1998. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Hosp.Infect.* 38:67-69.

Boas, P., T. Ruiz. 2004. Occurrence of hospital infection among interned elderly in a university hospital. *Revista de Saúde Publica.* 372-378.

Bouvet, P., M. Joly-Guillou. 2000. *Acinetobacter*. *Précis de bactériologie clinique.* 1239-1258.

Bloomfield, S. 2006. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Clostridium difficile* and ESBL-producing *Escherichia coli* in the home and community: assessing the problem, controlling the spread.

Boyce, J., G. Potter-Bynoe, C. Chenevert, T. King. 1997. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 18:622-627.

Bradford, P. 2001. Extended-spectrum B-lactamases in the 21st Century characterization epidemiology and detection of this important resistance threat. *Journal Clin. Microbiol. Reviews.* 4:937-951.

Bures, S., J.T. Fishbain, C.F. Uyehara, J.M. Parker, B.W. Berg. 2000. Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in the intensive care unit. *Am. J. Infect. Control.* 28:465-471.

Caierão, J., A. G. Antunes, M. Stefens, M. Marco, P. A. Azevedo. 2004. Novos Antimicrobianos: realidade e perspectivas. *NewsLab.* 66:80-90.

Casellas, J. 2006. Resistência Bacteriana na Unidade de Terapia Intensiva – Critical connections -The complete news source for critical care professionals.1:6-8.

CDC. 2002. Guia para a Prevenção de Infecção Relacionada ao Acesso Vascular. Critical Care of Medicine.

CDC. 2004. Antimicrobial resistance – MRSA/Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Disponível em <<http://www.cdc.gov>.

CDC. 2004. Laboratory detection of oxacillin/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Disponível em <<http://www.cdc.gov>.

CDC. 2004. Overview of Drug-resistant *Acinetobacter* Infections in Healthcare Settings. Disponível em <<http://www.cdc.gov>.

Chambers, H. 1993. Detection of methicillin resistant staphylococci. Infectious Diseases Clinical North America. 7:425-433.

Chambers, H. 2001. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerging Infectious Diseases. 7:178-182.

Choi, C. H. 2005. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. Cel. Microbiol. 8:1127-1138.

Cisneros, J., J.Rodríguez-Baño. 2002. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. Clinical Microbiology and Infection. 8: 687–693.

Dancer, S.J. 1999. Mopping up hospital infection. J. Hosp. Infect. 43:85-100.

Dantas, E. H. M. 1998. Ar condicionado, vilão ou aliado? Uma revisão crítica. Revista Brasindoor. 9:4- 9.

- Devine, J., R. P. Cooke, E.P. Wright .2001. Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of ward-based computer terminals a surrogate marker for nosocomial MRSA transmission and handwashing compliance? J. Hosp. Infect. 48:72-75.
- Dias, M. 1997. Aerossol bacteriano gerado por respiradores mecânicos: estudo comparativo. Rev. Assoc. Méd. Bras. 43:15- 20.
- Embil, J., George G. Zhanel, Pierre J. Plourde, Daryl Hoban. 2002. Scissors: A Potential Source of Nosocomial Infection. Antimicrob Agents Chemother. 23:148-151.
- Euzéby, J. 2003. *Acinetobacter*. Dictionnaire Bact veter. Société de Bactériologie Systématique et Vétérinaire.
- Fernandes, A. Infecção Hospitalar e as suas Interfaces na Área da Saúde. 2000. 2:1021-1025, 1402-1409, 1485- 1534, 1550-1564.
- Ferreira, B. 2007. Identificação da atividade antibiótica e relação estrutura/atividade de moléculas de origem sintética e animal. 12-25.
- Ferretti, G. 2002. Catheter-related bloodstream infections pathogenesis diagnosis and management. Journal Infections in Oncology. 6:513-515.
- Fluit, C., Maarten R. Visser, Franz-Joseph Schmitz. 2001. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. Clinical Microbiology Reviews. 14: 836–871.
- French, G., D. Rayner, M. Branson, M. Walsh. 1998. Contamination of doctors and nurses pens with nosocomial pathogens. 213-351.
- Gales, A. 2003. Emergence of an IMP-like metallo-enzyme in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain from a Brazilian teaching hospital. Diagnostic Microbiol. and Infect Dis. 7:77–79.

Ge, Y., M.A. Wikler, D.F.Sahm, R.S.Blosser-Middleton, J.A.Karlowsky. 2004. *In vitro* antimicrobial activity of doripenem, a new carbapenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 4:1384-1396.

Gillet, Y., B. Issartel, P. Vanhems, J.C.Fournet, G. Lina, M. Bes, F. Vandenesch, Y. Piemont, N. Brousse, D. Floret, J. Etienne. 2002. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *The Lancet*. 359:753-759.

Goossens, H. 2005. European Status of Resistance. *Nosocomial Infections. Chemotherapy*. 51:177-181.

Grischnek, A. 1997. Biosegurança Na Saúde. 3-5.

Helics. 1999. Development of a Network on Nosocomial Infections involving the EU member states. Disponível em www.Helics.com.

Hoiby, N. 2000. Ecological antibiotic policy. *J. Antimicrob. Chemother.* 46:59–62.

Hooper, D. 2005. Pumps, nosocomial antibiotic resistance: a primer for hospital epidemiology. *Clin Infect Dis.* 40: 1811-17.

Huws, S., A.W. Smith, M.C. Enright, P.J. Wood, M.R.W. Brown. 2006. *Amoeba* promote persistence of epidemic strains of MRSA.

Infarmed. 2007. Ficha do Medicamento Genérico. Formulário Nacional de Medicamentos. Antibacterianos.

Ioannou, C., G. W. Hanlon, S. P. Denyer. 2007. Action of Disinfectant Quaternary Ammonium Compounds against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 296–306.

Ito, T., K. Okuma, X.X. Ma, H. Yuzawa, K. Hiramatsu. 2003. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. Drug Resist. Updat. 6:41-52.

Johnson, A. 2005. Outpatient consumption of antibiotics is linked to antibiotic resistance in Europe: results from the European Surveillance of Antimicrobial Consumption. Disponível em www.eurosurveillance.org.

Johnson, A. 2006. Healthcare-Associated Infections Surveillance, Health protection Agency Centre for Infections of London.

Joly-Guillou, M. 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clinical Microbiol Infect. 868-873.

Jones, R., M. G. Stilwell, P. A. Hogan, D. J. Sheehan. 2007. Activity of Linezolid against 3,251 Strains of Uncommonly Isolated Gram-Positive Organisms. Antimicrob Agents Chemother. 4:1491–1493.

Karas, J, C. Barker, L. Hawtin, M.Hoadley. 2002. Turning a "blind eye" to vertical blinds in hospital wards. J. Hosp.Infect. 51:75.

Kluytmans, J., B.A. Van, H. Verbrugh. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol. Rev. 10: 505-520.

Kramer, A. 2006. How Long do Nosocomial Pathogens Persist on Inanimate Surfaces? BMC Infectious Diseases. 1-8.

Kriengkauykiat , J., E.Porter, O. Lomovskaya, A. Wong-Beringer. 2005. Use of an Efflux Pump Inhibitor To Determine the Prevalence of Efflux Pump-Mediated Fluoroquinolone Resistance and Multidrug Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 49: 565-570.

Kumari, D., T.C. Haji, V. Keer, P.M. Hawkey, V. Duncanson, E. Flower. 1998 Ventilation grilles as a potential source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing an outbreak in an orthopaedic ward at a district general hospital. *J. Hosp. Infect* 39:127-133.

Lansing, M., J.P. Harley, D. Klein. 1996. *Microbiology*. 3: 37-70.

Levin, A. 2002. Multiresistant *Acinetobacter* infections: a role for sulbactam combinations in overcoming an emerging worldwide problem. *Clin. Microbiol. Infect.* 11:144-153.

Levin, B., M. Lipsitch, V. Perrot, S. Schrag, R. Antia, L. Simonsen, N. M. Walker, F. M. Stewart. 1997. The population genetics of antibiotic resistance. *Clin. Infect. Dis.* 24: S9–S16.

Levin, A. 2002. Multiresistant *Acinetobacter* infections: a role for sulbactam combinations in overcoming an emerging worldwide problem. *Clin. Microbiol. Infect.* 8:144-153.

Lim, D., N. Strynadka. 2003. Structural Basis of β -Lactam Resistance in Methicillin-Resistant Strains of a “Superbug” Revealed. The National Synchrotron Light Source (NSLS).

Livermore, D., M.N. Dudley. 2000. Antimicrobials: better use, better drugs, or both? *Curr. Op. Microbiol.* 3:487-488.

Livermore, D. 2003. Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact. *Clin. Infect. Dis.* 36:11-23.

Londoño, J., G.M. Ortiz, A.M. Gaviria. 2006. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina en personal de la unidad de terapia intensiva de la Clínica Universitaria Bolivariana en 2004 . *Infectio*. 3: 160-166.

Lönnroth, A. 2002. Resistência aos antibióticos. Comissão Europeia Direcção-Geral da Investigação. Research. Disponível em www.ec.europa.eu

Louie, L, J. Goodfellow , P. Mathieu , A. Glatt , M. Louie , A.E. Simon. 2002. Rapid detection of methicillin-resistant staphylococci from blood culture bottles by using a multiplex PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 40: 2786-2790.

Lowy, F. 1998. *Staphylococcus aureus* Infections. *The New England Journal of Medicine.* 339, 520-532.

Lowy, F. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal Clinical Investigation.* 111, 1265-1273. 2003.

Luiz, S. 2006. Caracterização da resistência de Amostras de *Acinetobacter baumannii* Isoladas no Hospital de Clínicas de Curitiba.

Manikal, V., D. Landman, G. Saurina. 2000. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, Inter-institutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin. Infect. Dis.* 31:101–6.

Manzella, J. 2001. Quinupristin-Dalfopristin: A New Antibiotic for Severe Gram-Positive Infections York Hospital, York, Pennsylvania.

Martró, A. Hernandez, J. Ariza, M.A. Dominguez, L.Matas, M.J.Argerich, R. Martin, V. Ausina. 2003. Assessment of *Acinetobacter baumannii* susceptibility to antiseptics and disinfectants. *Jour of Hosp Infect.* 39-46.

Mc Donald, L. 1998. Outbreak of *Acinetobacter spp.* Bloodstream infection in a nusey associated with contaminated aerosols and air conditioners. *Pediatr. Infect. Dis. Journal,* 17:716- 722.

Miller, D., Naomi P. O’Grady. 2003. Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-related Infections: Recommendations Relevant to Interventional Radiology. *J. Vasc Interv Radiol.* 14:355–358

Monteiro, N., S.Quinteira, F.Grosso, H.Ramos, L.Peixe. 2007. Molecular Epidemiology of Imipenem-Resistant *Acinetobacter haemolyticus* and *Acinetobacter baumannii* Isolates Carrying Plasmid-Mediated OXA-40 from a Portuguese Hospital. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* p. 3465–3466.

Muto, C., J.A. Jernigan, B.E Ostrowsky, H.M. Richet, W.R. Jarvis, J.M. Boyce, B.M. Farr. 2003. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 24:362-386.

Nan-Yao, L., L. Hsin-Chun, K. Nai-Ying, C. Chia-Ming, S. Hsin-I, W. Chi-Jung, K. Wen-Chien. 2007. Clinical and Economic Impact of Multidrug Resistance in Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 28:713–719.

Nemec, A., L. Dijkshoorn, P. Jezek. 2000. Recognition of Two Novel Phenons of the Genus *Acinetobacter* among Non-Glucose-Acidifying Isolates from Human Specimens. *J. Clin. Microbiol.* 11:3937-3941.

Nemec, A. 2001. *Acinetobacter ursingii* sp nov. and *Acinetobacter schindleri* sp nov., isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:1891–1899.

Nemec, A. 2003. *Acinetobacter parvus* sp nov., a small-colony forming species isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53:1563-1567.

Norrby, SR. 1993. Cefpirome: efficacy in the treatment of urinary and respiratory tract infections and safety profile. *J Infect Dis.* 91:41-50.

Oie, S., I. Hosokawa, A. Kamiya. 2002 Contamination of room door handles by methicillin-sensitive/methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 51:140-143.

Oliver, A. 2004. Resistencia a carbapenemas y *Acinetobacter baumannii*. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 5:259-61.

Ortega, J. 2006. Análise do ar do ambiente e sua correlação com o processo de colonização/Infecção Hospitalar. In [www. buscatextual.cnpq.br](http://www.buscatextual.cnpq.br).

Pachon-Ibanez, M., M. Jimenez-Mejias, C.Pichardo, A.Llanos, J. Pachon. 2004. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:4479-4481.

Pampolini, F. (2007). *Morfologia e citologia bacteriana*. F.o.p. unicamp Brasil.

Peloso, P. 2005 *Antibiograma - NCCLS, Kirby-Bauer e automação: uma visão crítica*.

Prashanth, K, S. Badrinath. 2000. Simplified phenotypic tests for identification of *Acinetobacter spp* and their antimicrobial susceptibility status. *Med.Microbiol.* 49:773-778.

Quesada, R, F.E. Carraral, C. Ross, L. A. Calisto, L.M.S. Rogeri, J.S Pelayo. 2005. Central venous catheter tip cultures and resistance pattern of antimicrobial of clinical use. 37: 45-48.

Rahal, J., C. Urban. 2000. *Acinetobacter*. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 21:341–8.

Rice, L. 2006. Challenges in Identifying New Antimicrobial Agents Effective for Treating Infections with *Acinetobacter baumannii* and *pseudomonas aeruginosa*. 43.

Richet, M. 2006. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: A Major Threat worldwide. *Infection Control and Hospital Epidemiology*.

Rocanova, L., P. R. Rappa. 2000. Antibiotic rotation. *Science* 287:803

Sader, H. 1996. Use of Macrorestriction Analysis to Demonstrate Interhospital Spread of Multiresistant *Acinetobacter baumannii*. Clin. Infect. Dis.9:631-634.

Sader, H., R. E. Mendes, A. C. Gales, R. N. Jones, M. A. Pfaller, C. Zoccoli, J. Sampaio. 2001. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas do trato respiratório baixo de pacientes com pneumonia internados em hospitais brasileiros-resultados do Programa SENTRY, 1997 e 1998. J. Pneumologia. 27.

Salyers, A., C. F. Amabile-Cuevas. 1997. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination? Antimicrob. Agents Chemother. 41:2321–2325.

Senna, J., T. C. T. Sukiennik, I. R. Gottardo, S. M. M. De Dadid, D. S. Santos. 1996. Identificação dos genes *mecA* e *femA* em amostras de *S. aureus* resistentes à meticilina/oxacilina de pacientes da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Schecler, W. 2002. Healthcare Epidemiology is the Paradigm for Patient Safety. Infections Control Hospital Epidemiology. 47-51.

Senna J., C. A. Pinto, L.P.S. Carvalho, D.S. Santos. 2002. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and PCR analysis of polymorphisms on the *mec* hypervariable region for typing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 40:2254-2256.

Sexton, T., P. Clarke, E. O'Neill, T. Dillane, H. Humphreys. 2006. Environmental reservoirs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms : correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene.

Silveira, G., Faruk Nome, José Carlos Gesser, Marcus Mandolesi Sá, Hernán Terenzi. 2006. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. Quím. Nova.29: 3-7.

Singh, D., H. Kaur, W.G. Gardner, L.B. Treen. 2002. Bacterial contamination of hospital pagers. Infect Control Hosp. Epidemiol. 274-276.

Siqueira, L. 2000. Síndrome do edifício doente, o meio ambiente e a infecção hospitalar. infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. 1307- 1322.

Smith, A., A. Erwin, T. Kline, W. Unrath, K. Nelson, A. Weber, W. Howald. 2007. Chloramphenicol is a Substrate for Novel Nitroreductase Pathway in *Haemophilus influenzae*. *Anti Age Chem*; 9: 601-12.

Smith, S., R.H. Eng, F.T. Padberg. 1996. Survival of nosocomial pathogenic bacteria at ambient temperature. *J. Med.* 27:293-302.

Sousa, J. 2001. Antibióticos anti-bacterianos. 1:10-340.

Souza, M. 2005. Revisão Sobre a Aquisição Gradual e Resistência de *Staphylococcus aureus* aos Antimicrobianos. *Rev. Patol. Tropical.* 27-36.

Stacey, A., P. Burden, C. Croton, E. Jones. 1998. Contamination of television sets by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Hosp. Infect.* 39:243-244.

Swatz, M. 1994. Hospital acquired infections: diseases with increasingly limited therapies. *Proceed of the Nat Acad of Sciences of the United States of America.* 2380-2425.

Tavares, W. 2000. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 3:281-301.

Tavares, W. 2005. Resistência é o maior desafio para antimicrobianos. *Sociedade Brasileira de Infectologia.* 3:11.

Teixeira, L., C. A. Resende, L. R. Ormonde, R. Rosenbaum, A. M. Figueiredo, H. Lencastre, A. Tomasz. 1995. Geographic spread of epidemic multiresistant *S. aureus* clone in Brazil. *J Clin Microbiol* 33: 2400-2404.

Tenover, F., L.M. Weigel, P.C. Appelbaum, L.K. McDougal, J. Chaitram, S. McAllister, N. Clark, G. Killgore, C.M. O'Hara, L. Jevitt, J.B. Patel., B. Bozdogan. 2004. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:275-280.

Thèrre, H. 2001. Políticas Nacionais para a Prevenção da Resistência aos Antibióticos- A Situação Em 17 países Europeus no Final do Ano 2000. *Euro Surveill.*

Tjemberg, I., J. Ursing. 1991. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *J. Clin. Microbiol.* 2:277-282.

Towner, K. 1997. J. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter spp.* *J. Med. Microbiol.* 2:721-746.

Urban, C., S. Segal-Maurer, J.J. Rahal. 2003. Considerations in Control and Treatment of Nosocomial Infections Due to Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Infect. Dis.* 5:1268-1274.

Vaneechoutte, M., L. Dijkshoorn, I. Tjernberg, A. Elaichouni, P. De Vos, G. Claeys, G. Verschraegen. 1995. Identification of *Acinetobacter* Genomic Species by Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis. *J. Clin Microbiology.* 33:11-15.

Velasquez, J. 2002. Vigilância de la Resistência de *Staphylococcus aureus* a la Oxacilina-vancomicina y Patronos de Corresistência. 15.

Vilela, M. 2004. Padrão de resistência antimicrobiana de casos de infecções nosocomiais no Recife, Pernambuco, Brasil, 2002-2003. 6-9.

Wagenvoort, J., E.J. Joosten. 2002. An outbreak *Acinetobacter baumannii* that mimics MRSA in its environmental longevity. *J.Hosp.Infect.*52:226-227.

Witte, W. 1997. Disseminação de uma epidemia de estafilococos aureus resistentes à meticilina nos hospitais alemães. *Euro Surveill.* 25-28.

Wolff, M., M.L. Joly-Guillou, R. Farinotti. 1999. In vivo efficacies of combinations of b-lactams, b-lactamase inhibitors, and rifampin against *Acinetobacter baumannii* in a mouse pneumonia model. *Antimicrob Agents Chemother.* 43:1406-11.

Wright, G. 2007. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microb.* Nature Publishing Group. 175-186.

Yoon, J. 2004. In Vitro Double and Triple Synergistic Activities of Polymyxin B, Imipenem, and Rifampin against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 3:753-757.

Zetola, N., J. S. Francis, E. L. Nuermberger, W.R. Bishai. 2005. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect. Dis.* 5:275-286.