

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO FARMÁCIA

Ana Luiza Schmitz Vendichetis

**Isolamento e identificação de bactérias resistentes à antimicrobianos nos  
bebedouros dos Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Ciências  
Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus  
Florianópolis**

Florianópolis

2023

Ana Luiza Schmitz Vendichetis

Isolamento e identificação de bactérias resistentes à antimicrobianos nos  
bebedouros dos Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Ciências  
Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus  
Florianópolis

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em farmácia.

Orientador: Prof. Ricardo Ruiz Mazzon

Coorientadora: Prof.(a) Fabienne Ferreira

Florianópolis  
2023

Schmitz Vendichetis, Ana Luiza

Isolamento e identificação de bactérias resistentes à antimicrobianos nos bebedouros dos Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus Florianópolis Ana Luiza Schmitz Vendichetis ; orientador, Ricardo Ruiz Mazzon, coorientadora, Fabienne Antunes Ferreira, 2023.

59 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. microbiologia clínica. I. Ruiz Mazzon, Ricardo. II. Antunes Ferreira, Fabienne. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. IV. Título.

Ana Luiza Schmitz Vendichetis

**Isolamento e identificação de bactérias resistentes à antimicrobianos nos  
bebedouros dos Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Ciências  
Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus  
Florianópolis**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de  
graduação e aprovado em sua forma final pelo Curso de farmácia.

Florianópolis, 30 de junho de 2023.

-----  
Coordenação do Curso

**Banca examinadora**

-----  
Prof.(a) Ricardo Ruiz Mazzon, Dr.(a)  
Orientador(a)

-----  
Prof.(a) Fabianne Antunes Ferreira, Dr.(a)  
Co-Orientador(a)

-----  
Prof.(a) Thaís Cristine Masques Sincero, Dr.(a)  
Instituição UFSC

-----  
Prof.(a) Iraci Tosin, Dr.(a)  
Instituição UFSC

Florianópolis, 2023.

Dedico esse trabalho ao meu falecido vô, que sempre esteve presente comigo na minha trajetória e agora presente em memória.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a minha família, em especial minha mãe, meu pai, meu padrasto, meus avós, minha tia Lilian e meu falecido vô, que me permitiram e me ajudaram de diversas formas a concluir minha graduação.

Ao meu namorado e meus amigos do curso, Tainah, Isadora, Arthur, Ricardo, Paula e Nicolas que me acompanharam nessa trajetória e tornaram os anos de graduação mais agradáveis e divertidos.

As minhas amigas, Natalia, Eliza, Billa, Isinha, que mesmo de fora me deram carinho e suporte necessário para permanecer forte nessa conquista.

E aos meus irmãos, Rafaela, Estevam, Augusto e minha prima Yasmim, que tornaram minha caminhada mais leve e cheia de afetos e me lembraram toda vez do motivo de eu estar aqui e onde eu queria chegar.

## RESUMO

As bactérias são seres unicelulares podendo ser responsáveis por várias doenças como pneumonias, tuberculose e diarreias, dentre outras diversas infecções. Com a descoberta dos antibióticos, surgiram anos mais tarde, as resistências bacterianas. A resistência a antimicrobianos pode ser intrínseca ou adquirida. Os mecanismos de resistência podem envolver a alteração da permeabilidade da membrana, ação enzimática, bomba de efluxo, alteração do sítio de ação, alterações no metabolismo, vias metabólicas alternativas, modificação da estrutura da proteína-alvo, entre outros mecanismos que podem ser utilizados em combinação para garantir a sobrevivência destes microrganismos frente aos antimicrobianos. A resistência antimicrobiana, aumenta a dificuldade de tratamento e a chance de óbito devido a diminuição da eficácia dos antibióticos, além de aumentar os custos do tratamento e o tempo da internação, gerando consequências clínicas, sociais e econômicas e influenciando diretamente nas taxas de mortalidade. Apesar de comum em ambientes hospitalares, a presença de bactérias resistentes não se limita apenas a ambientes hospitalares, estando presente também em parques, meios de transporte e outras superfícies com alta frequência de contato. O presente trabalho levantou a hipótese de: *“Os bebedouros das áreas de grande circulação de profissionais e alunos da área da saúde e pesquisa biológica apresentam contaminação por bactérias multirresistentes”*. De acordo com esta hipótese, o estudo teve como objetivo de detectar a presença de bactérias resistentes (cocos Gram-positivos resistentes à Oxacilina e Gram-negativas produtoras de ESBL, fermentadoras de lactose ou não) em bebedouros da UFSC. Para identificação foram coletadas amostras em dois intervalos de tempo ( $t_0$  e  $t_1$ ) nos bebedouros do CCS e CCB da UFSC. As amostras foram coletadas e recuperadas em meio de enriquecimento e em seguida semeadas em meios seletivos e diferenciais, que selecionam bactérias Gram-positivas halofílicas e diferenciam entre fermentadoras e não fermentadoras de manitol ou selecionam Gram-negativas diferenciando entre fermentadoras e não-fermentadoras de lactose. As colônias crescidas foram organizadas em placas de microtitulação com 96 poços, gerando uma biblioteca de isolados. Os isolados Gram-positivos foram testados para resistência a Oxacilina e os Gram-negativos para presença de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL). Dessa forma, o estudo permitiu a identificação de  $n=301$

isolados Gram-positivos resistentes a oxacilina e isolados Gram-negativos produtores de ESBL como *Klebsiella pneumoniae* (identificada presuntivamente pelo crescimento azul esverdeado no ágar ESBL cromogênico), *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* (identificadas presuntivamente pelo crescimento incolor no ágar ESBL cromogênico) e *Escherichia coli* (identificada presuntivamente pelo crescimento rosa a roxo no ágar ESBL cromogênico). Tem-se como perspectiva para a confirmação dos isolados resistentes aos antimicrobianos, a utilização da metodologia de espectrometria de massas por MALDI-TOF e caracterização por meio da realização de um antibiograma. Este projeto visou com a análise dos bebedouros do CCS e CCB da UFSC, realizar um estudo exploratório evidenciando um dos mais importantes problemas de saúde atuais, se propondo a avaliar os possíveis riscos de disseminação comunitária de cepas resistentes aos usuários destes bebedouros e demonstrando que a resistência bacteriana, além de associada ao ambiente de atendimento à saúde, também se encontra em áreas de convivência, estando relacionada no contato pele a pele e pele com ambientes contaminados.

**Palavras-chave:** Meticilina; Oxacilina; ESBL; bactérias resistentes; infecção comunitária.

### ABSTRACT

Bacteria are single-celled organisms that can be responsible for various diseases such as pneumonia, tuberculosis, and diarrhea, among many other infections. With the discovery of antibiotics, bacterial resistance emerged later on. Antimicrobial resistance can be intrinsic or acquired. Resistance mechanisms can involve alterations in membrane permeability, enzymatic action, efflux pumps, alteration of the target site, changes in metabolism, alternative metabolic pathways, modification of the target protein's structure, among other mechanisms that can be used in combination to ensure the survival of these microorganisms against antimicrobials. Antimicrobial resistance increases the difficulty of treatment and the risk of mortality due to the decreased effectiveness of antibiotics, in addition to increasing treatment costs and hospitalization time, leading to clinical, social, and economic consequences and directly influencing mortality rates. Although common in hospital environments, the presence of resistant bacteria is not limited to hospitals alone; they can also be found

in parks, transportation, and other surfaces with high contact frequency. This study hypothesized: "Water coolers in areas with high circulation of healthcare professionals and biological research students are contaminated with multidrug-resistant bacteria." Based on this hypothesis, the study aimed to detect the presence of resistant bacteria (methicillin-resistant Gram-positive cocci and ESBL-producing Gram-negative bacteria, lactose fermenters or non-fermenters) in water coolers at UFSC (Federal University of Santa Catarina). Samples were collected at two time intervals (t0 and t1) from water coolers at CCS (Health Sciences Center) and CCB (Biological Sciences Center) of UFSC. The samples were collected and enriched in culture media, followed by inoculation onto selective and differential media that select for halophilic Gram-positive bacteria and differentiate between mannitol fermenters and non-fermenters or select for Gram-negative bacteria and differentiate between lactose fermenters and non-fermenters. The grown colonies were organized in 96-well microtiter plates, generating an isolate library. Gram-positive isolates were tested for oxacillin resistance, and Gram-negative isolates were tested for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production. Thus, the study allowed the identification of n=301 oxacillin-resistant Gram-positive isolates and ESBL-producing Gram-negative isolates such as *Klebsiella pneumoniae* (presumptively identified by greenish-blue growth on ESBL chromogenic agar), *Proteus*, *Morganella*, and *Providencia* (presumptively identified by colorless growth on ESBL chromogenic agar), and *Escherichia coli* (presumptively identified by pink to purple growth on ESBL chromogenic agar). For the confirmation of antimicrobial-resistant isolates, mass spectrometry by MALDI-TOF and antibiotic susceptibility testing are perspectives. This project aimed to conduct an exploratory study by analyzing water coolers at CCS and CCB of UFSC, highlighting one of the most important current health problems. It aimed to evaluate the potential risks of community dissemination of resistant strains to users of these water coolers and demonstrate that bacterial resistance, in addition to being associated with healthcare environments, is also present in communal areas and is related to skin-to-skin and skin-to-contaminated-environment contact.

**Keywords:** Meticilin 1; Oxacilin 2; ESBL 3; Resistant bacteria 4; Community infection 5.



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1 INIBIDORES DA SÍNTESE DA PAREDE CELULAR.....	19
1.1.1 BETA LACTÂMICOS.....	19
1.1.1.1 PENICILINAS.....	21
1.1.1.2 CEFALOSPORINAS.....	22
1.1.1.3 CARBAPENEMAS.....	24
1.1.1.4 MONOBACTÂMICO.....	26
1.1.2 GLICOPEPTIDEOS.....	26
1.1.2.1 VANCOMICINA.....	27
1.1.2.2 TEICOPLANINA.....	27
1.1.2.3 RAMOPLANINA.....	27
<b>2. DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>28</b>
2.1 RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	28
2.1 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA.....	29
2.1.1.1 ALTERAÇÕES NA PERMEABILIDADE DA MEMBRANA.....	30
2.1.1.2 BOMBAS DE EFLUXO.....	30
2.1.1.3 ALTERAÇÃO NO SÍTIO DE LIGAÇÃO DO ANTIBIÓTICO.....	31
2.1.1.4 PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM OU MODIFICAM ANTIBIÓTICOS .....	32
2.1.1.4.1 ENZIMAS QUE DEGRAM ANTIBIÓTICOS .....	32
2.1.1.4.2 ENZIMAS QUE MODIFICAM ANTIBIÓTICOS .....	34
2.1.1.5 VIAS METABÓLICAS ALTERNATIVAS.....	34
2.2 RESISTÊNCIAS COMBINADAS.....	34
2.3 MICROORGANISMOS COMUMENTE ASSOCIADOS A RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA.....	35
2.2 PROBLEMÁTICA .....	36
2.3 DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA .....	37
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>39</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	39
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>40</b>
4.1 COLETA E ENRIQUECIMENTO DA AMOSTRA.....	40

4.2 ISOLAMENTO DE GRAM-NEGATIVOS (LAC+, ESBL+) .....	41
4.3 ISOLAMENTO DE GRAM-POSITIVAS (MANITOL+, OXA+) ...	42
4.4 IDENTIFICAÇÃO DAS CEPAS GRAM-NEGATIVAS LAC+/ESBL E GRAM-POSITIVAS RESISTENTES À OXACILINA.....	42
<b>5.RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>7. CONCLUSÃO E PERSPECTIVA.....</b>	<b>50</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>

## INTRODUÇÃO

Bactérias são seres unicelulares e, majoritariamente procariontes e invisíveis a olho nu, variando o tamanho de espécie para espécie. Os exemplares de importância médica podem apresentar morfologia em cocos, bacilos, cocobacilos, espiroquetas, vibriões e espirilos, podendo haver alterações dessas formas resultando em um pleomorfismo (SUTERA *et al.*, 2021). Podem ser divididas em Gram-negativas, quando sua face parede celular é composta por uma membrana externa cuja face externa é composta por lipossacarídeos e peptidoglicano delgado, ou em Gram-positivas, que são bactérias com parede celular composta por uma espessa camada de peptidoglicano, a qual determina a forma da bactéria e a protege de lise osmótica (DUAN *et al.*, 2022).

A parede celular bacteriana é uma estrutura rígida e não homogênea. O peptidoglicano confere rigidez às bactérias, sendo formado por dois açúcares aminados, ácido N-acetil glicosamina e o ácido N-acetil murâmico, e por um tetrapeptídeo, sempre ligado ao resíduo de ácido N-acetil murâmico. Em bactérias Gram-negativas os tetrapeptídeos laterais se ligam diretamente uns aos outros na estruturação da parede, enquanto em Gram-positivas, esses tetrapeptídeos são ligados por meio de um pentapeptídeo. O peptidoglicano em Gram-negativas situa-se no espaço periplásmico, localizado entre a membrana citoplasmática (interna) e a membrana externa, onde também são encontradas proteínas diversas (fosfatases, nucleases, proteases, chaperonas e outras) que podem participar da nutrição bacteriana, bem como enzimas que inativam certos antibióticos. Nestas bactérias a camada de peptidoglicano é fina e contribui apenas 5 a 10% do peso seco da parede celular. (MOREIRA *et al.*, 2021)

Além disso, as bactérias podem apresentar estruturas que aumentam sua chance de ter sucesso no processo infeccioso, como os flagelos, estruturas locomotoras, as fimbrias, que auxiliam na adesão, além de outros fatores de virulência como exotoxinas (toxinas secretadas), enterotoxinas (toxinas que agem principalmente no trato gastrointestinal), endotoxinas (LPS), entre outros fatores (CARVALHO, 2010).

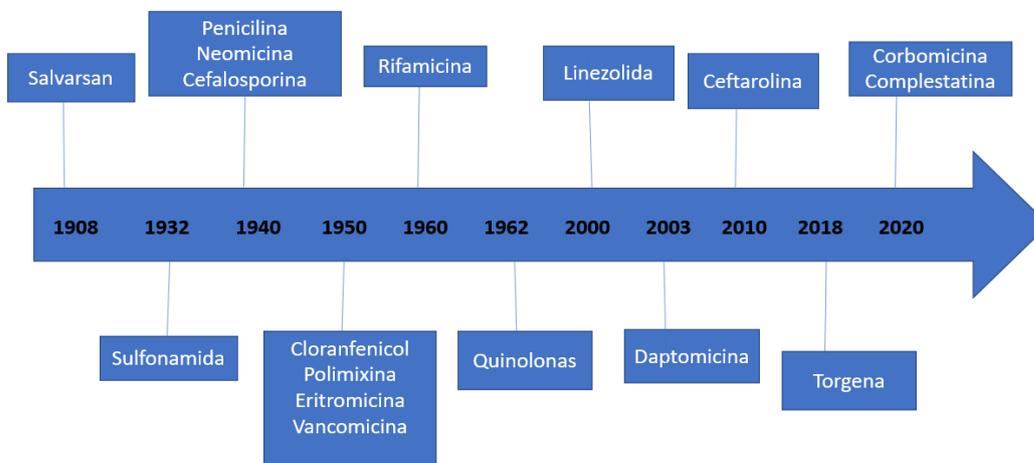
As bactérias foram identificadas pela primeira vez em 1670. Porém, reconhecidas como patogênicas apenas a partir da segunda metade do século 19, quando foram evidenciados pela primeira vez os micro-organismos responsáveis pelas doenças da tuberculose, febre tifoide e cólera (WALSH, 2003). De acordo com o texto Nossa Capa do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (2009) em 1909, Paul Ehrlich, pai da quimioterapia, foi o responsável pelo desenvolvimento do primeiro quimioterápico (antibiótico sintético) – Salvarsan – cujo princípio ativo era a Arsfenamina (composto cujo a molécula apresenta dois átomos de arsênio), sendo o primeiro fármaco eficaz contra a sífilis e combatendo uma doença que matou europeus durante séculos (AVELLEIRA; BOTTINO, 2006). Porém, o marco no tratamento de infecções bacterianas se deu com a descoberta da penicilina no início do século XX por Alexander Fleming, o que permitiu o tratamento de infecções em feridas de guerra durante a Segunda Guerra Mundial. Sua descoberta ocorreu ao acaso, quando ao esquecer um de seus recipientes com cultura de *Staphylococcus aureus* aberto, percebeu a formação de mofo após alguns dias, e que esse mofo, especificamente do fungo *Penicillium notatum*, era capaz de agir como bactericida (CAPA, 2010). Desta forma, foram realizados uma série de testes para entender o efeito antimicrobiano que o fungo tinha sobre a bactéria, e pôde se evidenciar que o *Penicillium* produzia uma substância que afetava a parede celular bacteriana, sendo o primeiro agente antimicrobiano de amplo espectro capaz de combater estreptococos e estafilococos (CAPA, 2010). Inicialmente Alexander não sabia como isolar e produzir comercialmente a substância com efeito antimicrobiano. Foram necessários 11 anos para que os pesquisadores Howard Florey e Ernst Chain, farmacêutico e bioquímico, respectivamente, que trabalhavam em Oxford (Reino Unido), descobrissem como isolá-la e produzi-la em larga escala. A partir disso, a penicilina começou a ser administrada imediatamente em casos de pneumonia, difteria, sífilis, gonorreia, escarlatina e em muitas outras infecções bacterianas (Aminov, 2010; Davies e Davies, 2010). Com o processo de industrialização da penicilina, logo se observou um crescimento rápido na descoberta de novos fármacos.

Em 1943 se deu o início da era de ouro dos antibióticos, surgindo o primeiro agente específico capaz de tratar a tuberculose, e um dos primeiros aminoglicosídeos a ser descoberto, a estreptomina, descoberto pela equipe liderada pelo bioquímico norte-americano Selman Abraham Waksman, a partir da actinobactéria *Streptomyces*

*griseus*. Em 1948, na ilha italiana de Sardenha, Giuseppe Brotzu reparou que culturas isoladas de *Cephalosporium acremonium* inibiam o crescimento da bactéria causadora da febre tifoide (*Salmonella enterica* sorotipo Typhi), o que deu origem a classe das cefalosporinas, lançadas no mercado em 1960 pelo farmacêutico Eli Lilly (CLIMENNI et al., 2012). Dez anos depois, surge um dos antibióticos mais duradouros, a vancomicina (1956), a partir de um isolado da fermentação de bactérias da família Actinomicetes. Organismos resistentes a ela só surgiram 30 anos mais tarde com o primeiro relato de *Enterococcus* resistente a vancomicina. Em 1963 foi sintetizada a gentamicina, um aminoglicosídeo extraído de colônias de *Streptomyces orientalis* e *Micromonospora purpura* (Cavallo et al., 2004). Atualmente, alguns antibióticos do mesmo grupo apresentam mais de uma classificação, que se refere a diferença de atividade antimicrobiana, características farmacocinéticas e farmacodinâmicas de um mesmo antimicrobiano ou ainda o modo de administração, como exemplo a classificação das cefalosporinas em 5 gerações (ALMEIDA et al., 2020).

A aquisição de resistência a antibióticos fez com que se fosse necessária a pesquisa de novos antimicrobianos, levando ao aparecimento das cefalosporinas de terceira geração, quarta e quinta geração, os carbapenemas e os monobactâmicos, relativamente eficazes até hoje, sendo o último recursos para muitas infecções. Ao mesmo tempo, produzem-se novas penicilinas, como as meticilinas (antimicrobiano bacteriano de pequeno espectro) e as oxacilinas (penicilina semi-sintética e penicilase-resistente). Além disso, em 1984 passaram a ser usadas combinações de fármacos com o objetivo de aumentar seu efeito farmacológico, como é o exemplo das associações de amoxicilina com ácido clavulânico e ampicilina com o sulbactam (Cavallo et al., 2004).

Figura 1. Linha do tempo da descoberta dos antibióticos



Fonte: Ana Luiza Schmitz Vendichetis

A descoberta e produção dos primeiros antibióticos revolucionou a medicina, contribuindo diretamente com a saúde e melhorando a expectativa de vida. Sua descoberta permitiu que doenças antes de difícil cura, agora tivessem uma alternativa de tratamento, além de reduzir as enfermidades infecciosas e permitir que procedimentos cirúrgicos, antes complexos, pudessem ser realizados com menor risco de infecção (LORENZETTI et al, 2012). Nos dias de hoje, os antibióticos continuam a ser usados na luta contra infecções bacterianas, podendo ser bactericidas, quando matam a bactéria, ou bacteriostáticos, quando param sua replicação. Os antimicrobianos exercem seus mecanismos de ação de várias formas, podendo interferir na síntese da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática, promovendo alterações na síntese proteica, inibindo a síntese de ácidos nucleicos e interferindo na replicação do cromossomo (NASCIMENTO, 2021). Desse modo, a parede celular bacteriana acaba sendo um alvo importante para muitas formulações antimicrobianas. O presente texto tem como objetivo dar ênfase nos antimicrobianos inibidores da síntese da parede celular visto que este trabalho tem como objetivo a procura de bactérias produtoras de  $\beta$  - lactamases, enzimas que degradam e inativam beta-lactâmicos, e *Staphylococcus* spp. resistentes à oxacilina, que geralmente possuem resistência associada a

meticilina e mediada devido a produção de uma proteína chamada PBP2a (*protein binding penicilins*).

## 1. INIBIDORES DA SÍNTESE DA PAREDE CELULAR

Os inibidores da síntese da parede celular constituem antimicrobianos que interferem na síntese de peptidoglicano presente na parede celular bacteriana e de importante papel na proteção da membrana plasmática, resguardando a célula das adversidades provenientes do meio externo (NOGUEIRA, 2016).

Os  $\beta$ -lactâmicos constituem a principal classe de fármacos que agem inibindo a síntese da parede celular, sendo estes os antimicrobianos mais utilizados na prática clínica (NOGUEIRA, 2016).

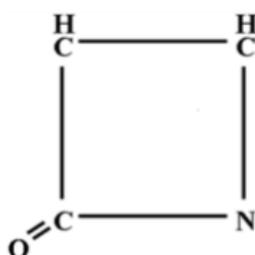
### 1.1 $\beta$ -LACTÂMICOS

Os antibióticos desse grupo são caracterizados por possuírem um anel  $\beta$ -lactâmico reativo de quatro membros, essencial para sua atividade bactericida. Este anel  $\beta$ -lactâmico é geralmente fundido com outro heterocíclico, e este núcleo bicíclico é funcionalizado em várias posições-chave, dando origem a várias subclasses distintas, incluindo as penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos e monobactâmicos. A atividade biológica dos  $\beta$ -lactâmicos é caracterizada por suas estruturas gerais e definida por seus andaimes centrais e substituintes, que influenciam suas interações com proteínas-alvo e mecanismos de resistência (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

Essa classe de antibióticos atua interferindo a síntese de peptidoglicano, componente central da parede celular bacteriana. PBPs, são enzimas que catalisam a formação de ligações cruzadas peptídicas durante a síntese de peptidoglicano, atividade a qual é inibida covalentemente pelos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos com a acilação de um resíduo de serina essencial com o núcleo  $\beta$ -lactâmico reativo, o que gera o enfraquecimento da parede celular e aumenta a susceptibilidade para o estresse osmótico, levando à autólise (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

Embora as PBPs sejam os principais alvos dessa classe de antibióticos, os  $\beta$ -lactâmicos também podem ter como alvo covalente outras enzimas, como é o caso de subclasses que inibem as L,D-transpeptidases (Ldts), uma família de enzimas que formam ligações cruzadas peptídicas alternativas no peptidoglicano bacteriano (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

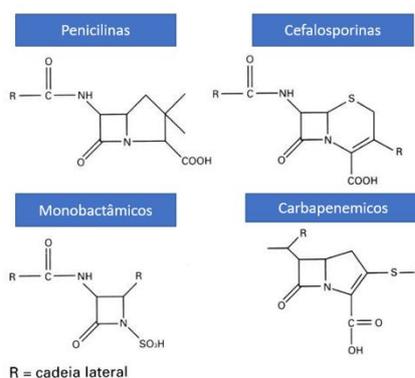
Figura 2. - Representação do anel  $\beta$ -lactâmico presente em todo o grupo



(Disponível em <http://www.cram.com/flashcards/antibacs-i-anaerobes-oppoinfections-3059782>)

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos são amplamente utilizados pela sua eficácia e baixa toxicidade. São divididos em várias subclasses distintas de acordo com sua estrutura, sendo as subclasses penicilina, cefalosporina, carbapenênicos e monobactâmicos comumente usadas para o tratamento de uma ampla gama de infecções bacterianas (MORO-OCHOMOGO *et al.*, 2021)

Figura 3. Estrutura dos antibióticos beta-lactâmicos.



Fonte: Ana Luiza Schmitz Vendichetis

### 1.1.1 PENICILINAS

As penicilinas constituem um dos mais importantes subgrupos de antibióticos, tendo sua estrutura constituída por um sistema de anel bicíclico central que consiste em anéis  $\beta$ -lactâmicos e tiazolidínicos fundidos com um estereoquímica *cis* nos carbonos 5 e 6 da cadeia como mostra a figura 4 abaixo (MORA-OCHOGOMO *et al.*, 2021)

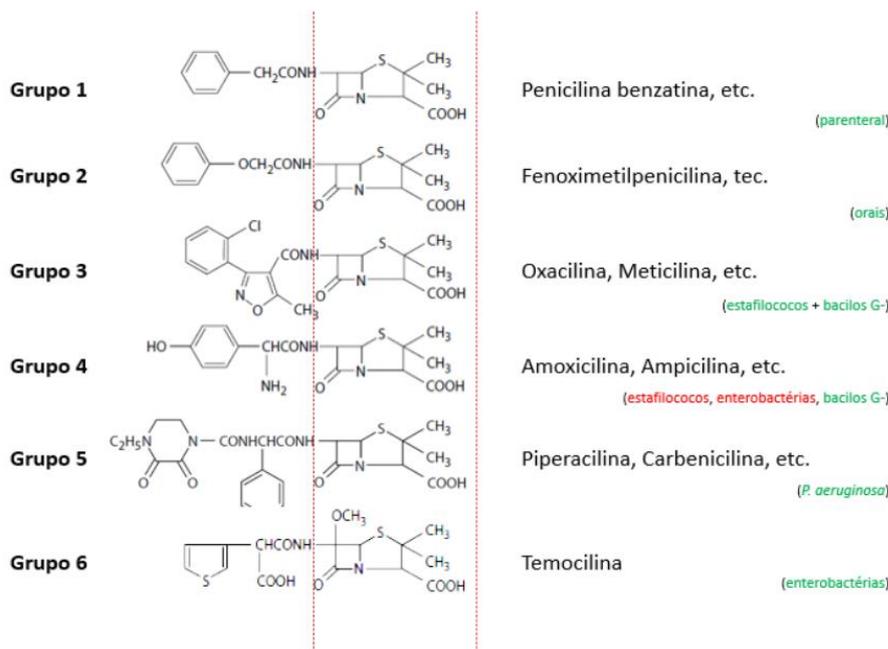
Figura 4 - Estrutura geral das penicilinas



Fonte:  $\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates

As penicilinas variam de acordo com o substituinte no carbono 6. Por exemplo a Penicilina G, também conhecida como Benzilpenicilina, possui um substituinte fenilacetamido nesta posição. Além disso o substituinte C6 tem sido foco de extensas modificações químicas, com o objetivo de aumentar a faixa-alvo do antibiótico e reduzir a susceptibilidade à degradação por  $\beta$ -lactamases. Esses esforços permitiram a produção de penicilinas com atividade de amplo espectro para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (ampicilina, amoxicilina) e com relativa resistência à catalise por  $\beta$ -lactamases (oxacilina, meticilina). O carboxilato de penicilina do carbono 3 também pode ser esterificado, como observado em pró-fármacos como o pivmecillinam (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021)

Figura 5. Substituintes do carbono 6



Fonte: Ricardo Ruiz Mazzon, 2023

As principais indicações da penicilina são: Infecções cutâneas, articulares, ósseas, vias urinárias, sendo também frequentemente utilizadas em casos de faringite, laringite, meningite, bronquite, sífilis, gonorreia, endocardite (OLIVEIRA, 2011).

### 1.1.2 CEFALOSPORINAS

As cefalosporinas, muitas vezes utilizadas como segunda escolhas para muitas infecções, apresentam maior eficácia contra bactérias Gram-negativas comparadas a penicilina. Possuem um núcleo bicíclico composto por um anel  $\beta$ -lactâmico fundido a um anel diidrotiazínico de seis membros com uma ligação dupla entre o carbono 3 e 4 (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

Figura 6 - Estrutura química da cefalosporina



Fonte:  $\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates

As cefalosporinas possuem estereoquímica *cis* nos carbonos 7 e 8, anel dihidrotiazina com um grupo carboxilato no carbono 4 e um grupo metil ou metileno no carbono 3, com variações nos substituintes do carbono 3. Em muitas cefalosporinas, esses substituintes agem como grupo de saída que é eliminado após a abertura do anel  $\beta$ -lactâmico e a migração da dupla ligação do carbono 3 e 4 (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

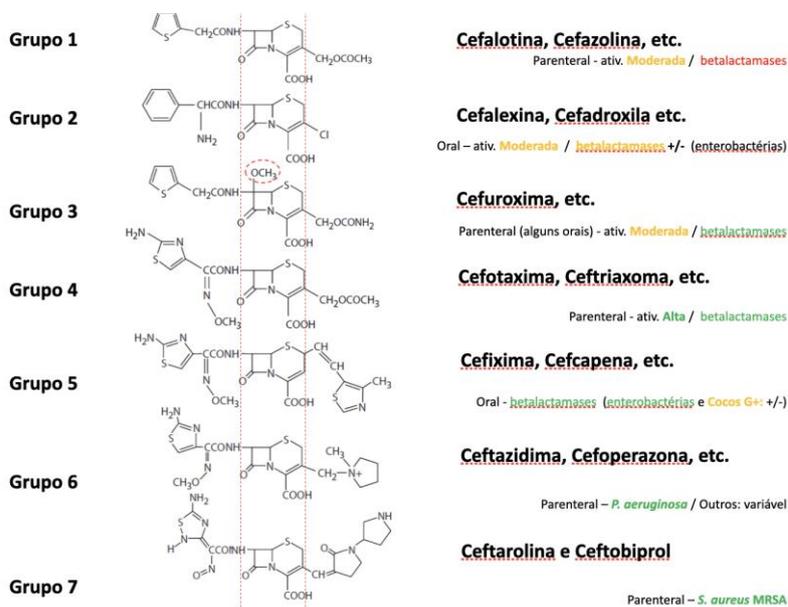
A substituição do grupo acilamido no carbono 7 permite a adição de diferentes grupos funcionais que dão origem a diferentes cefalosporinas, como por exemplo a ceftazidima e cefotaxima que tendem a ter cadeiras laterais de acilamido volumosas contendo um grupo oxi-imino planar, que interfere estéricamente com a catálise das  $\beta$ -lactamases (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

As cefalosporinas podem ser divididas em 5 gerações de acordo com o espectro de ação, ou em 7 grupos classificadas de acordo com o espectro de ação e modo de administração.

Tabela 1. Classificação das cefalosporinas por gerações

Geração	Características	Espectro de ação	Exemplos
1ª geração	Acilo do cloreto de ácido + 7-ACA	Efetiva contra algumas espécies de <i>Staphylococcus</i> e <i>Streptococcus</i> . Também eficazes contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Proteus mirabilis</i> Mais ativas sobre bactérias Gram positivas do que as de 2ª geração.	Cefalexim Cefalotina Cafezolina
2ª geração	Grupo metoximino na posição 7	Eficazes contra Gram-negativas produtoras de beta-lactamases	Cefoxitina Cefuroxima
3ª geração		Ampla espectro de ação	Ceftazidima Cefixima ceftriaxona
4ª geração	Grupos ácidos nas cadeias introduzidas na posição 7	Mais eficazes contra Gram-positivas do que os de 3ª geração e mais resistentes a ação de beta-lactamases	Cefepime Cefpiroma
5ª geração	Mecanismo de ação ligeiramente diferente do restante dos beta-lactâmicos	Eficazes contra MRSA, VISA, VRSA	Ceftobiprol e Ceftaroline

Figura 7. Classificação das cefalosporinas em 7 grupos

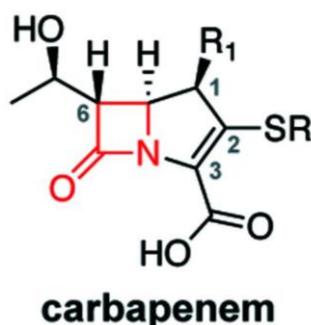


Fonte: Ricardo Ruiz Mazzon, 2023

### 1.1.3 CARBAPENEMAS

Os carbapenemas possuem um núcleo que consiste em um anel  $\beta$ -lactâmico fundido a um anel de pirrolina de cinco membros com um carbono na posição 1 e uma ligação dupla entre os carbonos 3 e 4 (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

Figura 8. Carbapenem

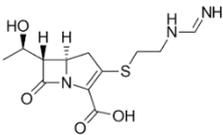
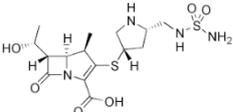
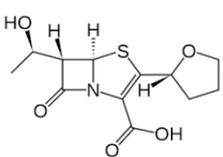
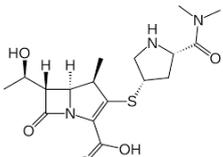
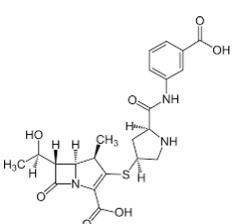
Fonte:  $\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates

O anel de pirrolina possui no carbono 3 um grupo carboxilato e um substituinte tioéter no carbono 2, e muitos carbapenêmicos possuem um grupo  $1\beta$ -metil com o objetivo de melhorar a estabilidade frente as enzimas humanas. Apresentam uma cadeia lateral hidroxietil no carbono 6 com a configuração invertida, possuindo a

estereoquímica *trans*, em contraste às penicilinas e cefalosporinas. Após a abertura do anel  $\beta$ -lactâmico, o anel de pirrolina pode sofrer tautomerização enamina-imina, onde a forma imina inibe a atividade de algumas  $\beta$ -lactamases (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021).

São uma das últimas escolhas no combate a infecções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos, tendo um grande espectro de ação contra bactérias Gram-negativas e positivas, incluindo os isolados produtores de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (PENIDO, 2018)

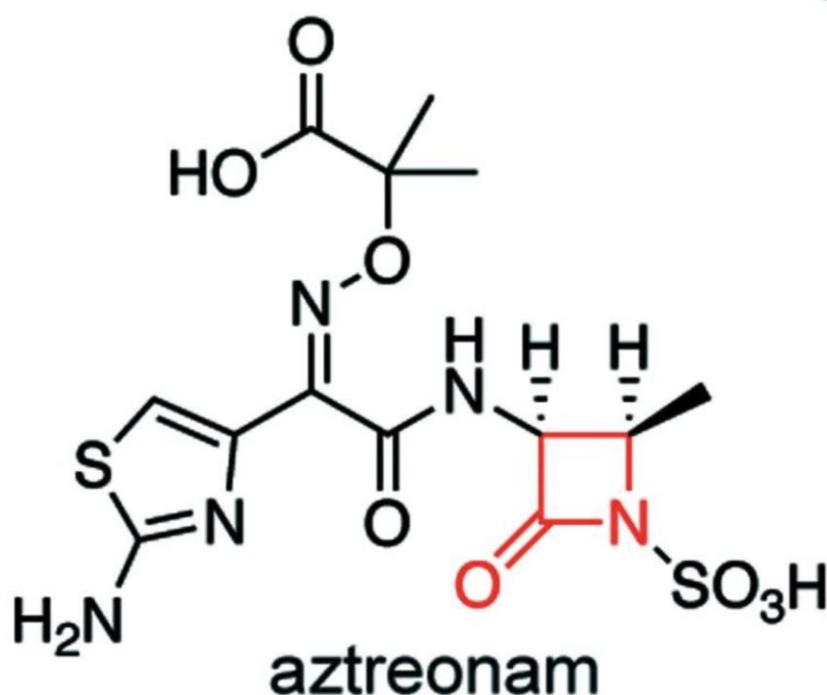
Tabela 2. Carbapenêmicos e uso

Carbapenemas	Características	Estrutura química	Uso
Imipenem	Tempo de meia vida curto Amplio espectro de ação		Indicado para o tratamento de infecções mistas causadas por cepas suscetíveis de bactérias aeróbicas e anaeróbicas
Doripenem	Exerce a sua atividade bactericida inibindo a biossíntese da parede celular bacteriana. Amplio espectro de ação.		Indicado para bactérias com múltiplas resistências como <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Acinetobacter</i> .
Faropenem	Amplio espectro.		Usado para tratar infecções graves de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Pode ser usado no tratamento contra MRSA.
Meropenem	Amplio espectro. Resistente a degradação por beta-lactamases.		Usados em infecções graves no ambiente hospitalar Mais ativo em <i>Pseudomonas aeruginosa</i> que imipenem
Ertapenem	Espectro de ação amplo. Baixa CIM contra enterobactérias		Eficaz contra Gram-positivas e Gram-negativas anaeróbicas e aeróbicas, sendo resistente a quase todas as $\beta$ -lactamases, incluindo $\beta$ -lactamases de espectro estendido e AmpCs.

### 1.1.4 MONOBACTÂMICO

A subclasse de monobactâmicos consiste em um anel  $\beta$ -lactâmico central que não está fundido a nenhum outro anel. Atualmente o Aztreonam é o principal representante deste grupo, porém já existem novos fármacos dentro dessa classe como por exemplo o LYS228. O anel  $\beta$ -lactâmico do Aztreonam possui um substituinte acilamido contendo um grupo oxi-imino, análogo as cadeias laterais de muitas cefalosporinas. O nitrogênio do anel  $\beta$ -lactâmico deste grupo é sulfonilado, mimetizando o carboxilado do carbono 3 e 4 de outros antibiótico  $\beta$ -lactâmicos. Devido em parte a incapacidade das metalo-  $\beta$ -lactamases de degradar o aztreonam em níveis significativos, terapias combinadas de Aztreonam com outros  $\beta$ -lactâmicos são de grande interesse atual (MORA-OCHOMOGO *et al.*, 2021)

Figura 9. Monobactâmico



Fonte:  $\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates

### 1.2. GLICOPEPTÍDEOS

Os glicopeptídeos agem impedindo o crescimento bacteriano pela interferência na síntese da parede celular. Seu mecanismo de ação se deve a complexação com o resíduo dipeptídico terminal D-Ala-D-Ala das cadeias peptídicas que constituem a parede celular, a partir da formação de complexos estáveis devido a presença de cinco pontes de hidrogênio. Esta complexação impede que o substrato esteja disponível para a ação da transpeptidase inibindo, portanto, a reação de transpeptidação (BRESSAN, 2021). Os principais representantes dessa classe são as vancomicinas, teicoplanina e ramoplanina (ANVISA, 2007).

### **1.2.1 VANCOMICINA**

Foi introduzida para uso clínico em 1958, mas sua utilização em maior escala se deu na década de 80, com o surgimento de infecções de estafilococos resistentes à oxacilina. Utilizada como alternativa aos beta-lactâmicos em pacientes alérgicos (ANVISA, 2007).

### **1.2.2 TEICOPLANINA**

Quimicamente similar a vancomicina, entretanto a teicoplanina possui maior lipossolubilidade que resulta em excelente penetração tecidual e meia-vida prolongada. Utilizada amplamente para o tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas, não tendo atividade contra bactérias Gram-negativas. Pode ser utilizada em pacientes que apresentarem reações alérgicas a vancomicina (ANVISA, 2007).

### **1.2.3 RAMOPLANINA**

A ramoplanina é um glicopeptídeo isolado do fungo *Actinoplanes* spp. para o combate de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina e para o tratamento de pacientes em estado de colonização estomacal por *Enterococcus* resistentes a vancomicina (SILVEIRA *et al.*, 2006).

## **RESISTÊNCIA BACTERIANA**

Com frequência bactérias utilizam mais de uma estratégia para evitar a ação dos fármacos. Essa ação conjunta produz um acentuado aumento na resistência aos antimicrobianos. A resistência a certo antimicrobiano pode ser uma propriedade intrínseca da bactéria, ou uma capacidade adquirida. Para que seja adquirida deve ocorrer alteração no DNA da bactéria, que pode ocorrer por indução de mutação do DNA nativo, ou, introdução de DNA estranho, que são genes de resistência que podem ser transferidos entre gêneros e espécies de bactérias por transdução, transformação e conjugação. Naturalmente as bactérias possuem mecanismos para se tornarem resistentes a determinados tratamentos, porém, o uso indiscriminado de antibióticos acelera o tempo que esses organismos levam para se tornarem resistentes, além de afetar as bactérias benígnas da flora intestinal, causar o surgimento de 'superbactérias' e realizar o processo de 'seleção' onde bactérias sensíveis ao antibiótico são eliminadas e as bactérias resistentes permanecem e se multiplicam. "O que pode parecer uma profecia alarmista é, na verdade, uma realidade nos sistemas de saúde de todo o mundo. A resistência aos antimicrobianos, é um tema que preocupa tanto os países desenvolvidos como os países em desenvolvimento", alerta a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) em texto publicado em seu site oficial.

Segundo dados retirados do documento da ANVISA, 'Manual sobre prevenção de infecções por microrganismos multirresistentes em serviços de saúde.' de 2021, nos Estados Unidos, cerca de 2 milhões de pessoas por ano são acometidas por infecções resistentes, onde pelo menos 23 mil pessoas vêm a óbito (ANVISA, 2021). Em 2018, dados divulgados pela organização mundial de saúde (OMS) revelaram altos índices de resistência em países de alto e baixo desenvolvimento. De acordo com o relatório de 2016/2017 da Global Antimicrobial Surveillance System (GLASS) realizado pela OMS, há uma ocorrência generalizada de resistência aos antibióticos, onde há a identificação de 500 mil pessoas com suspeita de infecção bacteriana em 22 países. As bactérias mundialmente mais relatadas segundo este relatório, foram *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*, seguidas da *Salmonella* spp.

A Organização das Nações Unidas (ONU) junto com agências internacionais e especialistas divulgaram em 2019 um relatório exigindo ações imediatas para evitar um potencial crise causada por resistência a medicamentos. Segundo dados retirados

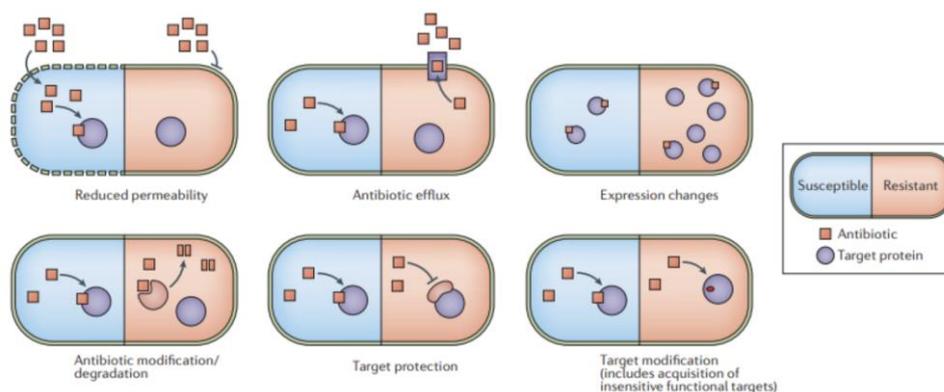
do relatório “*No time to wait: Securing the future from drug-resistant infections*” do ‘*Interagency Coordination Group on Antimicrobial Resistance*’, cerca de 700 mil pessoas morrem de infecções resistentes por ano no mundo, sendo que 230 mil pessoas perdem a vida por tuberculose multirresistente (Tuberculose a qual o agente infeccioso é resistente a pelo menos dois medicamentos que fazem parte do seu tratamento – Isoniazida e a Rifampicina).

O Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 28 de 2021 realizado no Brasil pela ANVISA, revelou que das 36.848 notificações de identificações de microrganismos causadores de IPCS em UTI’s no Brasil, as mais frequentes foram *Klebsiella Pneumoniae* (15,5% n=5.714), seguido por *Acinetobacter baumannii* (13,8% n=5092) e *Pseudomonas aureginosa* (7,7% n=2837) para bactérias Gram-negativas e *Staphylococcus coagulase negativo* (SCoN) (27,5% n=10.125), *Staphylococcus aureus* (15,03% n=5541) e *Enterococcus faecalis* (6,45% n=2376) para isolados Gram-positivos (ANVISA, 2021). Analisando os perfis de resistência, foi observado que para bactérias Gram-positivas, 99,2% das amostras de SCoN e 51,2% das amostras de *S. aureus* possuíam resistência à oxacilina, enquanto 16,5% das amostras de *Enterococcus faecalis* eram resistentes à vancomicina. Já para microrganismos Gram-negativos, observou-se resistência aos carbapenêmicos em 86,7% das amostras de *Acinetobacter baumannii*. e 30,9% das amostras de *Pseudomonas aeruginosa*. Em enterobactérias as taxas de resistência aos carbapenêmicos e às cefalosporinas de amplo espectro foi de 16,5% e 47,5% para amostras *Escherichia coli* e 67,3% e 71,1% para amostras *Klebsiella Pneumoniae* respectivamente (ANVISA, 2021).

## 1. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Os mecanismos de resistência são diversos, podendo envolver alterações na permeabilidade da membrana, alteração no local de atuação do antibiótico, bomba de efluxo, vias metabólicas alternativas e produções de enzimas que modificam ou degradam os antibióticos.

Figura 10. Principais mecanismos de resistência bacteriana



Fonte: Mecanismos de expressão de resistência aos antibióticos e saúde pública.

## 1.1 ALTERAÇÕES NA PERMEABILIDADE DA MEMBRANA

As bactérias Gram-negativas possuem permeabilidade limitada, em parte devido ao fato de sua membrana celular externa ser constituída de lipossacarídeo (LPS), o que faz com que sejam intrinsecamente menos permeáveis a determinados antibióticos. Além disso, a permeabilidade dessa membrana geralmente se deve a presença de porinas, que estabelecem canais de transporte inespecíficos pelos quais as substâncias passam para o meio periplasmático, a partir do qual as substâncias entram em contato com os transportadores específicos de membrana responsáveis pela internalização de componentes (TORTORA, 2016). Para que atinjam o alvo intracelular os antibióticos precisam atravessar a membrana externa. Os antibióticos hidrofílicos atravessam por difusão passiva através dessas porinas da membrana externa (Omp's) (ANDRADE; DARINI, 2021). A redução da permeabilidade pode ocorrer por alterações na estrutura dessas porinas, nos seus genes codificantes ou por sua perda, o que resulta em uma permeabilidade mais seletiva ou impermeabilidade aos antimicrobianos (DALMOLIN *et al.*, 2022). Este mecanismo afeta principalmente a entrada de beta-lactâmicos e fluorquinolonas, sendo responsável pela resistência intrínseca de bacilos Gram-negativos a antimicrobianos como penicilina, vancomicina, clindamicina. No entanto, costuma afetar pouco a sensibilidade a carbapenêmicos (ANDRADE; DARINI, 2021).

## 1.2. BOMBAS DE EFLUXO

Os sistemas de efluxo são codificados por genes no cromossomo, sendo um mecanismo natural da bactéria que consiste em excretar substâncias tóxicas que se

encontram no meio intracelular para o meio extracelular. Entretanto, quando esse efluxo de substâncias é hiper expresso, ou associado a outros mecanismos, surge um problema clínico visto que o antimicrobiano passa a ser excretado pela bactéria antes que dê tempo de realizar sua atividade bacteriostática ou bactericida (ANDRADE; DARINI, 2021). Em bactérias Gram-positivas, o sistema de efluxo é a própria bomba efluxo, já em bactérias Gram-negativas, devido a membrana externa, o sistema efluxo é composto por proteína transmembrana interna, uma proteína transmembrana externa e uma terceira proteína que faz a ligação das proteínas transmembrana (ANDRADE; DARINI, 2021). Existem 5 famílias de sistemas de efluxo amplamente difundidos e envolvidos em resistência a antimicrobianos, sendo eles i) Família RND (*Resistance-Nodulation-Division*); ii) Família de facilitadores de transporte (*MFS*); iii) Superfamília de transportadores ABC (*adenosine binding cassette*); iv) Família de pequenos transportadores de resistência a múltiplas drogas (*SMR*) e v) Família de extrusão de múltiplas drogas e compostos tóxicos (*MATE*) (SUN et al, 2014). As bombas de efluxo podem ter atividades inespecíficas, que excretam diferentes classes de antimicrobianos, ou podem ser específicas para uma determinada droga. Um exemplo de resistência por bomba de efluxo é a resistência às tetraciclinas em cepas de *E.coli* (ANDRADE; DARINI, 2021).

### 1.3. ALTERAÇÃO NO SITIO DE LIGAÇÃO DO ANTIBIÓTICO

A alteração do local-alvo onde atua determinado antimicrobiano, de modo a impedir a ocorrência de qualquer efeito inibitório ou bactericida, constitui um dos mais importantes mecanismos de resistência. Essas alterações geralmente têm origem de mutações em genes das próprias bactérias e impedem a ligação dos antimicrobianos, mas sem interferir a função do alvo (ANDRADE; DARINI, 2021). Temos como exemplo *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) e estafilococos coagulase-negativos que adquiriram um elemento genético móvel chamado cassete cromossômico estafilocócico (*SCCmec*) o qual carrega o gene *mecA* que codifica uma nova proteína de ligação da penicilina (PBP2a) fazendo com que ela passe a ter baixa afinidade com beta-lactâmicos. Outro exemplo são as mutações cromossômicas em uma região específica nos genes *gyrA* (que codifica a subunidade A da DNA girase) e/ou *parC* (que codifica a subunidade C da topoisomerase IV) denominada QRDR

(Região determinante de resistência à quinolonas). Mutações na QRDR implicam em alterações no sítio de ligação do antimicrobiano com a DNA gyrase/topoisomerase IV dificultando a ligação da droga (ANDRADE; DARINI, 2021). Outra alteração possível ocorre no terminal D-ala-D-ala, geralmente em *Enterococcus*, com a incorporação de um elemento genético Transposon TN1546, que carrega os genes vanA, vanB, vanC que codificam um terminal D-Ala-D-lactato, causando a resistência a vancomicina (DALMOLIN *et al.*, 2022)

## **1.4. PRODUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM OU MODIFICAM ANTIBIÓTICOS**

### **1.4.1 ENZIMAS QUE DEGRADAM ANTIBIÓTICOS**

Para inativar os antibióticos, as enzimas realizam catálise hidrolítica da molécula. O principal grupo de enzimas é denominado beta-lactamases, podendo ser dividida em 4 classes: Classe A, B, C e D. A classe A, possui sua estrutura baseada em serina (possuem serina no seu sítio catalítico), assim como a classe C e D. As enzimas dessa classe podem ser de espectro estreito (quando tem a capacidade de hidrolisar principalmente penicilinas e algumas cefalosporinas de gerações inferiores – penicilases), de espectro estendido (espectro de inibição maior que as penicilases, sendo capaz de hidrolisar todas as penicilinas, quase todas cefalosporinas e Aztreonam – ESBL) e as carbapenemases serina (capazes de inativar todos beta-lactâmicos incluindo carbapenemas). A classe B, diferente das demais classes tem sua estrutura baseada em metal, sendo dependente de metal para realizar sua atividade catalítica (metalo-beta-lactamases – MBL). As enzimas pertencentes a essa classe são resistentes a todas as penicilinas, todas cefalosporinas e todos carbapenemas e geralmente expressam em conjunto outros mecanismos de resistência como beta-lactamases de espectro estendido (ESBL – extended-spectrum beta-lactamase). Existem também outras MBL de importância clínica, que são tradicionalmente expressas por cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, como a VIM (*Verona integron-encoded MBL*), e IMP (*imipinem-resistant*), um tipo de imipenase que hidrolisa imipinem. A classe C, tem sua principal beta-lactamase a cefalosporinase Amp C, que hidrolisa as penicilinas e as cefalosporinas até de terceira geração. O grupo com as bactérias que tradicionalmente possuem esse gene é

também conhecido pelo mnemônico MYSPACE: *Morganella*, *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia*, *Aeromonas*, *Citrobacter* e *Enterobacter*, além de outras enterobactérias como *Salmonella* ou *Shigella*. As beta-lactamases de classe D são tradicionalmente conhecidas como oxacilinas (OXA), enzimas com capacidade de hidrolisar oxacilina. A família das enzimas de classe D é bem extensa e o espectro de inibição pode ser extremamente variável, existindo as que inibem a oxacilina e outras enzimas capazes de conferir resistência a todas as Penicilinas e quase todas as Cefalosporinas, chamadas ESBL tipo OXA (OXA-type ESBLs) e até a Carbapenêmicos, as Carbapenemases tipo OXA (OXA-type Carbapenemases)(ANDRADE; DARINI, 2021).

Tabela 3. Exemplos das quatro classes, resistência e possíveis opções terapêuticas

Enzima	Exemplo	Resistência	Possíveis opções terapêuticas
<b>CLASSE A</b>			
β-lactamases de espectro estreito (Penicilinas)	<i>Staphylococcus</i>	Penicilinas naturais e aminopenilinas	Oxacilina e Amoxicilina-clavulanato
β-lactamases de amplo espectro	Enterobactérias	Penicilinas, Cefalosporinas e Aztreonam	Carbapenêmico
Carbapenemases	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	Todos os β-lactâmicos	Ceftazidima-Avibactam
<b>CLASSE B</b>			
Metallo-β-lactamases	Enterobactérias <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Todos os β-lactâmicos (exceção Aztreonam) e inibidores da β-lactamase	Aztreonam
<b>CLASSE C</b>			
Cefalosporinas	Enterobactérias	Penicilinas, Cefalosporinas até terceira geração	Carbapenêmico
<b>CLASSE D</b>			
Oxacilinas	Enterobactérias <i>Acinetobacter baumannii</i>	Penicilinas e Carbapenêmicos	Ceftazidima-Avibactam

Fonte: Mecanismos de expressão de resistência aos antibióticos e saúde pública.

As penicilinas são produzidas por uma variedade de bactérias, desde cocos Gram-positivos como bacilos Gram-negativos no geral, tendo capacidade de degradação geralmente restringida a penicilinas lábeis como penicilina e amoxicilina (ANDRADE; DARINI, 2021). Cefalosporinas, cefamicinas, ESBLs e carbapenemases são produzidas por bactérias não-fermentadoras e bacilos Gram-negativos. As ESBLs possuem potencial para degradar todas cefalosporinas, penicilinas e monobactâmico, porém costumam continuar sensíveis a carbapenêmicos e cefamicina. As carbapenemases são as enzimas com maior espectro de ação, podendo ser codificadas por genes cromossômicos ou plasmídeos (ANDRADE; DARINI, 2021). Quando adquiridas por plasmídeos podem se dividir em

dois grandes grupos, metalo-carbapenemases, que degradam todos os antibióticos menos o monobactâmico, e as serina carbapenemases que tem potencial para degradar todos os antibióticos tendo como um exemplo as KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) (ANDRADE; DARINI, 2021).

#### **1.4.2 ENZIMAS QUE MODIFICAM ANTIBIÓTICOS**

Algumas enzimas bacterianas têm capacidade de modificar antibióticos por inserção de grupos químicos como acil, ribitoil e fosfato que levam a inativação da droga (ANDRADE; DARINI, 2021). As principais enzimas que degradam antibióticos são as enzimas modificadores de aminoglicosídeos (AME) que ao alterar a estrutura química do antimicrobiano impede sua ligação com a subunidade ribossômica fazendo com que o antibiótico não consiga se ligar ao alvo molecular da bactéria. Existem também enzimas que inativam macrolídeos, fenicóis e fluorquinolonas.

#### **1.5 VIAS METABÓLICAS ALTERNATIVAS**

As bactérias podem utilizar rotas metabólicas alternativas para sintetizar os compostos necessários para o seu crescimento e sobrevivência, podendo adquirir essa resistência a partir de mutações, plasmídeos ou por outros elementos genéticos transmissíveis (VIGLIAROLO *et al.*, 2018). Um exemplo acontece com a resistência as sulfonamidas. As sulfonamidas são antibióticos que inibem competitivamente a enzima diidropteroato sintetase (DHPS), que desempenha um papel fundamental na síntese de ácido fólico, necessário para a produção de purinas e pirimidinas utilizadas na síntese de DNA e RNA bacteriano, no entanto, algumas bactérias utilizam de vias alternativas para obter ácido fólico ou seus precursores a partir de fontes exógenas (SILVA, 2022).

## **2. RESISTÊNCIAS COMBINADAS**

A resistência bacteriana combinada, ocorre quando a bactéria se torna capaz de resistir ao uso de 2 ou mais antimicrobianos pertencentes a diferentes classes de antimicrobianos, permitindo que a bactéria sobreviva mesmo na presença de

fármacos antes eficazes contra ela. Isso porque a bactéria pode adquirir diferentes mecanismos de resistência como a produção de enzimas de inativação, alteração nas proteínas-alvo, aumento de bombas de efluxo, entre outros (ANVISA, 2017)

A bactéria pode se tornar multirresistente a partir da transferência horizontal de genes, podendo estes serem transferidos em um único evento ou ao longo do tempo, por meio de múltiplas transferências (MANTILLA, 2020).

Um exemplo comum é a resistência combinada em bactérias Gram-negativas como a *Klebsiella pneumoniae* e a *Escherichia coli*, onde essas bactérias são capazes de desenvolver múltiplas resistências a grupos de antibióticos como cefalosporinas de terceira geração, carbapenêmicos, fluorquinolonas e aminoglicosídeos. Essa combinação de resistência pode ocorrer devido a presença de mecanismos como produção de beta-lactamases de espectro estendido e carbapenemases, bombas de efluxo e alterações na permeabilidade da membrana. Outro exemplo se observa em cepas de *Staphylococcus aureus*, que apresentam resistências a penicilinas, cefalosporinas, macrolídeos e fluorquinolonas, devido a produção de enzimas beta-lactamases, alterações nas PBPs e aquisição do gene *mecA* (EBSERH, 2020).

### **3. MICROORGANISMOS COMUMENTE ASSOCIADOS A RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA**

Comumente associados à resistência bacteriana, os *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA), possuem resistência codificadas pelo gene *mecA*, as PBPs, especificamente a PBP2a. Além destas bactérias, *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (VER) também se destacam podendo causar infecções como as do trato urinário e endocardites. *Streptococcus pneumoniae* podem ser resistentes a penicilina, principais causadores de pneumonia e meningite em adultos, devido à alteração das PBPs responsáveis pelo alongamento dos fragmentos de peptidoglicano (RICE, 2006). Já para os patógenos Gram-negativos, as resistências se dão principalmente aos aminoglicosídeos (Patrick, 2005), às quinolonas (HOOPER; JACOBY, 2015), e aos beta-lactâmicos (WORTHINGTON; MELANDER, 2013), sendo os principais microrganismos a apresentar tais resistências: *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenemase (KPC) podendo causar pneumonia, infecções sanguíneas e outros, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e

*Enterobacter* spp, responsável frequentemente por infecções relacionadas a atendimento em saúde (IRAS), que, juntamente com os Gram-positivos *Enterococcus faecium* e *Staphylococcus aureus* compõe o grupo denominado ESKAPE, de grande virulência e importância global em saúde da atualidade (MULANI et al., 2019).

## PROBLEMÁTICA

Atualmente, um dos problemas relacionados ao enfrentamento da resistência antimicrobiana é a ausência de inovação. Enquanto os microrganismos continuam a se adaptar e adquirir resistência aos antimicrobianos já existentes, o desenvolvimento de tecnologias para combate a esses organismos não acompanha a velocidade em que isso ocorre, devido à baixa lucratividade e redução dos investimentos em pesquisa de novos tratamentos (ESTRELA, 2021). Além disso, a resistência aos antibióticos gera impactos também na economia e rendimento de produtividade. Segundo o economista britânico Jim O'Neill, até 2050, dez milhões de óbitos anuais serão atribuídos à resistência antimicrobiana, gerando um impacto econômico de aproximadamente 100 trilhões de dólares e levando a pobreza cerca de 24 milhões de pessoas (O'NEILL, 2016). Para a saúde, as infecções causadas por esses microrganismos resistentes terão impacto na mortalidade e morbidade, fazendo com que doenças antes facilmente tratadas sejam cada vez mais difíceis de cuidar, e com que doenças pouco frequentes reemergam e se tornem cada vez mais comuns. Ademais, o prolongamento de internação hospitalar, a baixa efetividade das terapias profiláticas e a elevação dos custos dos tratamentos geram impacto financeiro considerável aos sistemas de saúde e aos indivíduos (CASTRO, 2002).

Deve-se considerar também que o ambiente hospitalar constitui vasto e excelente habitat para a aquisição de resistência, devido ao fato de o paciente, em algumas ocasiões imunodeprimido, estar sujeito a várias terapias medicamentosas, tornando-o suscetível para adquirir infecções hospitalares (SANTOS, 2011). Para mais o uso de procedimentos invasivos, que provocam o rompimento de barreiras naturais ou penetram em cavidades, como cateter, punções, sondagem e ventilação mecânica, são portas de entrada para bactérias (SANTOS, 2011). Os erros de prescrição causados pela incerteza diagnóstica e desconhecimento farmacológico, geram problemas de indicação, seleção e prescrição de antimicrobianos. Há ainda o uso de

antimicrobianos como medicamento sintomático, levando ao uso desnecessário de antimicrobianos e ajudando a disseminação de resistência (WANNMACHER, 2021). Nos estados Unidos cerca de 50% do uso de antimicrobianos é inadequado. Em torno de 50% a 66% de todas as prescrições de antimicrobianos direcionam-se a tratamento de doenças respiratórias que em sua maioria são de etiologia viral. Além disso, estima-se que de 10% a 50% de prescrições ambulatoriais com antibióticos sejam desnecessárias (WANNMACHER, 2021).

Entretanto o uso indiscriminado de antimicrobianos não se limita apenas a seres humanos, dentro do setor agropecuário os antibióticos são utilizados como promotor de crescimento em animais destinados à alimentação como bovinos, suínos e frangos, aumentando o risco de seleção de organismos resistentes. O sul do Brasil, assim como leste da Turquia e arredores do México são vistos como *hotspots* de resistência microbiana em animais (ALVIM, 2019). Os antibióticos constituem 12% de todas as prescrições ambulatoriais, gerando um gasto de 15% dos 100 bilhões gastos em medicamentos anualmente. Nos Estados Unidos existem 160 milhões de prescrições escritas com antibióticos, o que corresponde a 25 mil toneladas de antimicrobianos, dos quais 50% se destinam a pacientes e o restante a agricultura, animais e aquicultura (WANNMACHER, 2021). A falta de sistemas de saneamento eficazes, ajuda a criar um ambiente de resistência favorável. O lançamento de esgoto de hospitais e domicílios sem o tratamento adequado ajuda a disseminar esses organismos no meio, principalmente, da população mais vulnerável e com acesso limitado a sistemas de saúde. Águas poluídas ou alimentos contaminados colocam o indivíduo em contato com essas bactérias, o fazendo retornar ao hospital, criando um ciclo de contaminação e resistência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Estes problemas estruturais deveriam ser abordados em planos de ações, globais, federais, estaduais e municipais, visto que se enquadram na abordagem de Saúde Única (One Health Approach), que estabelece a necessidade de envolvimento multissetorial com o objetivo de assegurar o tratamento da questão sob as perspectivas conjugadas de saúde humana, animal e ambiental e políticas públicas relacionadas (ESTRELA, 2021).

## **DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA**

A disseminação de infecções causadas por microrganismos resistentes na maioria dos casos advém de contaminações cruzadas, tendo como via de contaminação mais comum de transferência de patógenos o contato entre as mãos de profissionais da saúde e pacientes (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2021). Como já se sabe, o ambiente hospitalar contribui para disseminação de patógenos, entretanto a presença de bactérias também é comum na superfície de objetos inanimados (fômites) e equipamentos. Nos Estados Unidos identificou-se frequente contaminação de superfícies por *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE) e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Embora os micro-organismos sobrevivam no ambiente, não está claro o papel das superfícies na disseminação desses (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2021).

Um estudo realizado em 2010 analisou as superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de resistência. O resultado do estudo concluiu que o ambiente hospitalar se destaca como potencial reservatório de MRSA, VRE, *P. aeruginosa*, *Clostridioides difficile* e *A. baumannii*. A maior frequência de contaminação ocorre nas UTI's e condiz com a estrutura física, elevada quantidade de equipamentos e as condições dos pacientes que se encontram em cuidados intensivos, o que aumenta o número de fatores de risco, e conseqüentemente o número das taxas de infecção. Nesse ambiente, o risco de aquisição de MRSA e VRE pode ser reforçado na presença de pacientes colonizados ou se a permanência exceder uma média de 15 dias (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2021). O estudo também evidenciou que superfícies muito tocadas se tornam mais contaminadas, reforçando a ideia de que muitas vezes os profissionais, após tocar um paciente, não se atentam a cumprir os protocolos de higiene da mão antes de voltar as suas atividades, facilitando e aumentando a disseminação desses organismos (OLIVEIRA; DAMASCENO, 2021).

Em 2016, foi realizado pela universidade pontifícia católica de Goiás, um estudo descritivo, analisando os dados de 222 pacientes internados na UTI do hospital Santa Casa de misericórdia, onde destes pacientes foram obtidas 245 amostras biológicas para análise. Dentre as 245 amostras analisadas, foram isolados microrganismos provenientes de urocultura, hemocultura, aspirado traqueal, swabs, ponta de cateter e secreções. Destas 245 amostras, 35,5% eram de *Klebsiella pneumoniae* e 24,1%

de *Escherichia coli*, tendo prevalência de bacilos Gram-negativos (MOTA, et al. 2018). Analisando as amostras foram observadas uma frequência significativa de resistência a antimicrobianos, onde 88,8% das 245 amostras eram resistentes a quinolonas, 57,9% resistentes a cefalosporinas, 56,6% resistentes a penicilinas e 46,1% resistentes a carbapenêmicos (MOTA, et al. 2018). Assim como um estudo realizado em 2016 em Santa Maria, no Rio grande do Sul, e como o estudo citado acima do ano de 2010, pode-se observar que os agentes isolados mais frequentes costumam ser os mesmos, tendo prevalência de amostras de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii* e *P. aeruginosa* (MOTA, et al. 2018).

Em um trabalho recente publicado por Cave e colaboradores (2019), os autores avaliaram superfícies de alta frequência de contato, dentre elas bebedouros, em áreas comunitárias (e.g. parques) e hospitalares de Londres, com foco na recuperação de estafilococos. Os autores identificaram alta prevalência de microrganismos multirresistentes, onde 281 de 600 superfícies (46,83%) detectaram presença de isolados de *Staphylococcus* multirresistentes a antimicrobianos. As principais resistências nesse trabalho foram obtidas contra penicilinas, ácido fusídico e eritromicina. Desta forma, os autores demonstraram que muitos ambientes comunitários podem ser fontes de contaminação por microrganismos multirresistentes, e não apenas os ambientes hospitalares.

Tendo em vista os estudos citados e a possibilidade de colonização de superfícies extra-hospitalares que podem influenciar diretamente na disseminação de microrganismos multirresistentes, em especial aqueles de maior relevância médica atualmente, este trabalho visou fazer uma análise qualitativa da composição microbiana, em termos de resistência a beta-lactâmicos, em bebedouros presentes nos Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sugerindo possíveis riscos de disseminação comunitária de cepas multirresistentes aos usuários destes bebedouros.

## OBJETIVOS

### 1. Objetivo geral

- Detectar a presença de bactérias resistentes (cocos Gram-positivos resistentes a Oxacilina e bacilos Gram-negativos, fermentadoras ou não de lactose, produtores de ESBL) em bebedouros da UFSC.

## 2. **Objetivos específicos**

- Coletar e recuperar em meio de enriquecimento microrganismos colonizadores dos dispositivos de acionamento dos bebedouros;
- Organizar uma biblioteca de cocos Gram-positivos halofílicos fermentadores ou não de manitol (B1/B2);
- Organizar uma biblioteca de bactérias Gram-negativas fermentadoras ou não de lactose (B3/B4);
- Avaliar os isolados pertencentes à B1/B2 quanto a resistência a Oxacilina;
- Avaliar os isolados pertencentes à B3/B4 quanto a presença de ESBL;
- Identificar os isolados B1/B2 resistentes a Oxacilina por MALDI-TOF;
- Identificar os isolados B3/B4 produtores de ESBL por MALDI-TOF;

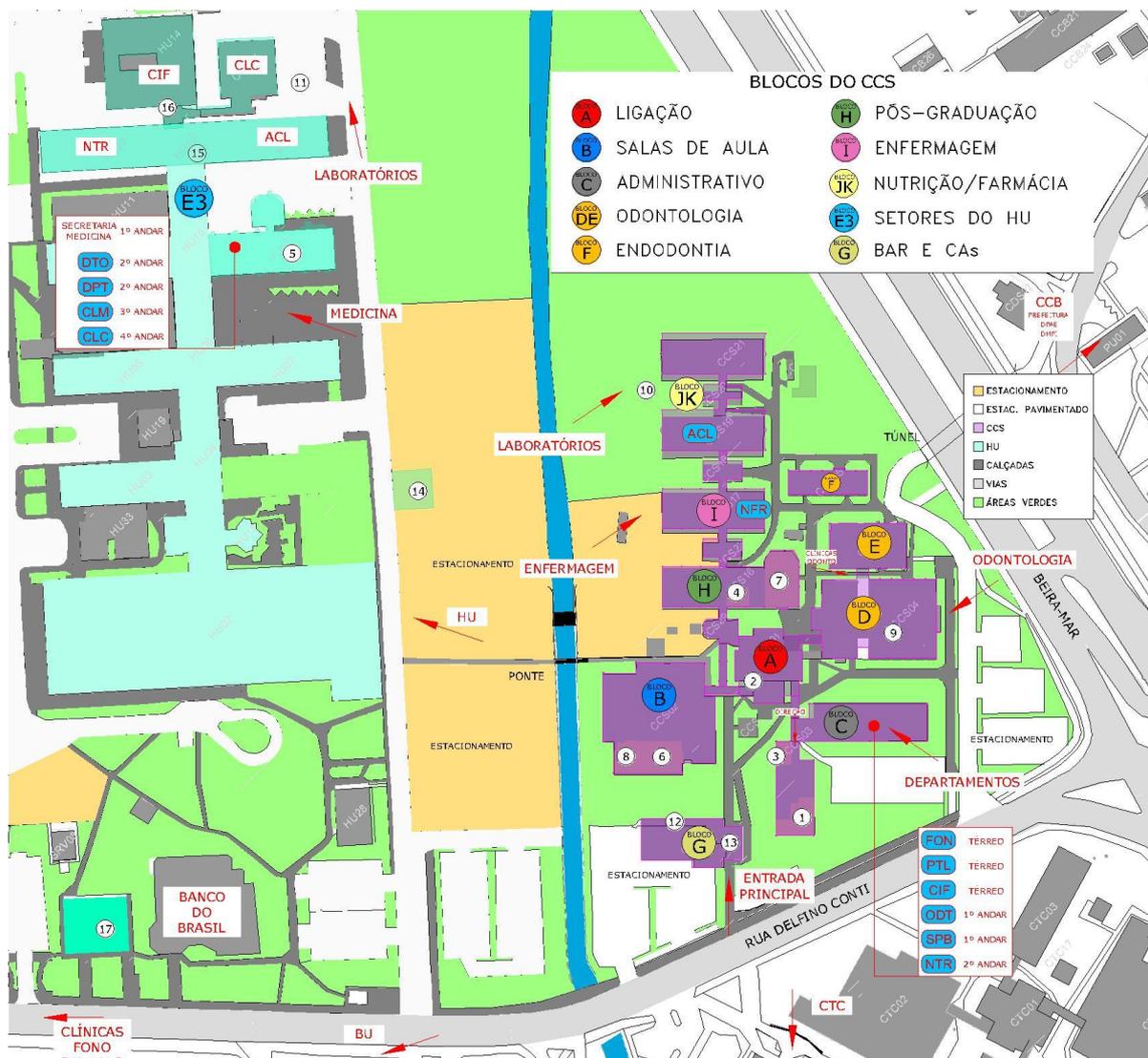
## **METODOLOGIA**

### 1. **Coleta e enriquecimento das amostras**

Foram 11 pontos de coletas divididos entre os bebedouros onde há maior circulação de servidores e alunos nos Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Ciências Biológicas (CCB) da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Reitor João David Ferreira Lima localizado no bairro da Trindade, Florianópolis, Santa Catarina. A universidade conta com 46.225 alunos matriculados e 6.436 servidores docentes e técnico-administrativos, sendo 452 alunos originários do curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas (embora o centro atenda a diversos cursos em suas fases iniciais como Medicina, Enfermagem, Odontologia, Nutrição, Engenharia de Alimentos, Engenharia Sanitária, Agronomia e Farmácia, o que aumenta muito o número de alunos que circulam o Centro) e 2.783 do Centro de Ciências da Saúde, além disso, os centros possuem áreas de pesquisas onde trabalham técnicos, professores e circulam alunos de graduação e pós-graduação. No CCS há também a circulação de estudantes de medicina que estão em contato direto com os leitos do Hospital Universitário (HU) e a presença de clínicas odontológicas por onde circulam pacientes de fora da universidade.

As coletas foram realizadas em dois momentos distintos ( $t_0$  e  $t_1$ ), nos dias 28/03 ( $t_1$ ) e 28/04 ( $t_2$ ). Os locais de coleta foram amostrados em intervalos de tempo próximo a 30 dias corridos, de modo a não separar demasiadamente a primeira coleta da última da série, referente ao tempo de coleta ( $t_n$ ) a que pertencem. Foram 11 pontos de coleta que variaram durante as coletas, devido ativação e inativação de alguns bebedouros durante o decorrer do semestre.

Figura 11. Mapa do Centro de Ciências da Saúde - UFSC

**1 DIREÇÃO GERAL**

Bloco C - Térreo

**2 PORTARIA / HALL PRINCIPAL**

Bloco A - Térreo

**3 SECRETARIA DAS GRADUAÇÕES**

Bloco C - Térreo

**4 SECRETARIA DAS PÓS-GRADUAÇÕES**

Bloco H - Térreo

**5 SECRETARIA DO CURSO DE MEDICINA**

Bloco E3 - 1º Andar

DEPARTAMENTOS NO HU**DPT PEDIATRIA**

HU - 2º Andar

**DTO TOCOGINECOLOGIA**

HU - 2º Andar - E3

**CLM CLÍNICA MÉDICA**

HU - 3º Andar

**CLC CLÍNICA CIRÚRGICA**

HU - 4º Andar

**6 AUDITÓRIO DA GRADUAÇÃO**

Bloco B - Térreo

**7 AUDITÓRIO DA PÓS-GRADUAÇÃO**

Bloco H - Térreo

**8 LABORATÓRIO DE INFORMÁTICA**

Bloco B - Térreo

**9 CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS**

Bloco D - 1º e 2º Andar

**10 LABORATÓRIOS NO BLOCO JK**DEPARTAMENTOS NO CCS**ACL ANÁLISES CLÍNICAS**

Bloco JK - Térreo

**CIF CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Bloco C - Térreo - Sala 018

**FON FONOAUDIOLOGIA**

Bloco C - Térreo - Sala 000

**NFR ENFERMAGEM**

Bloco I - Térreo - Sala 002

**11 LABORATÓRIOS NO HU****12 CENTROS ACADÊMICOS****13 BAR/CANTINA****14 HORTO-DIDÁTICO****15 BIBLIOTECA SETORIAL**

HU - Térreo

**16 PÓS-GRAD. EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

HU - Térreo

**17 FARMÁCIA ESCOLA****NTR NUTRIÇÃO**

Bloco C - 2º Andar - Sala 201

**ODT ODONTOLOGIA**

Bloco C - 1º Andar - Sala 135

**PTL PATOLOGIA**

Bloco C - Térreo - Sala 014

**SPB SAÚDE PÚBLICA**

Bloco C - 1º Andar - Sala 103

Tabela 4. Local de coleta X Siglas

LOCAL DA COLETA	SIGLA REPRESENTANTE
CCS PRIMEIRO ANDAR	C1

CCS PRIMEIRO ANDAR (segundo bebedouro)	C1"
CCS SEGUNDO ANDAR	C2
CCS TERCEIRO ANDAR	C3
ACL PRIMEIRO ANDAR	A1
ACL SEGUNDO ANDAR	A2
ACL TERCEIRO ANDAR	A3
ACL QUARTO ANDAR	A4
HALL SEGUNDO ANDAR	H1
HALL TERCEIRO ANDAR	H2
SECRETÁRIA PRIMEIRO ANDAR	S1
BLOCO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - TERCEIRO ANDAR	CCB3

Legenda: Na coluna da esquerda se encontra o prédio e o andar do qual ocorreu a coleta; na coluna da direita a sigla representante do local que será utilizada durante o decorrer do texto.

As coletas foram realizadas com a utilização de hastes de algodão estéreis (swab), umedecidos em solução salina estéril (solução 0,9% NaCl p/v) ou meio de transporte, quando as hastes vinham de fábrica previamente embebidas no referido meio. As hastes tiveram suas porções de algodão friccionadas contra o acionador da torneira/válvula de metal do bebedouro e, em seguida, inoculadas em tubo de vidro com meio caldo BHI (*Brain Heart Infusion Broth*) (KASVI®). A incubação se deu a 37 °C por 12-18 h (até leve turvação do meio) sob agitação (200rpm), a fim de recuperar células injuriadas e aumentar a probabilidade de coletar microrganismos de relevância clínica. O crescimento obtido da incubação em BHI foi previamente diluído com salina estéril, a fim de obter-se as diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  para posterior semeadura nos seus respectivos meios de crescimento.

## 2. Isolamento de Gram-negativos (lac+, ESBL+)

Posteriormente, parte do inóculo preparado foi semeado separadamente em placas de Petri contendo o meio seletivo e diferencial ágar McConkey (KASVI®), para crescimento de bactérias Gram-negativas (permitindo a diferenciação entre fermentadoras e não-fermentadoras de lactose), pela técnica de esgotamento, a fim de obter-se colônias isoladas. As placas foram, então, incubadas em estufa de incubação a 37°C por 24 h.

Após a incubação, as colônias crescidas no ágar McConkey (KASVI®), que apresentaram perfil positivo e negativo de fermentação de lactose foram transferidas

para uma placa de microtitulação estéril com 96 poços de fundo em U, onde foram individualmente inoculadas cada uma em um poço contendo 100 µl de meio caldo BHI (KASVI®), incubadas a 37 °C para multiplicação permitindo, assim, a organização de uma biblioteca de isolados.

Posteriormente, os poços das placas de microtitulação foram repicados com auxílio de um repicador metálico estéril de 96 pinos para placa com meio de cultivo Ágar ESBL cromogênico (SIGMA-ALDRICH®) para a identificação de bactérias resistentes a beta-lactâmicos produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL).

### **3. Isolamento de Gram-positivas (manitol+, OxacilinaR)**

Posteriormente parte do inóculo preparado foi semeado separadamente em placas de Petri contendo o meio seletivo e diferencial ágar Manitol-salgado (HIMEDIA®), para o crescimento de bactérias halofílicas (em especial Gram-positivas fermentadoras de manitol), pela técnica de esgotamento a fim de obter-se colônias isoladas.

Após a incubação, as colônias crescidas no ágar Manitol-Salgado, que apresentaram perfil positivo e negativo de fermentação de manitol, foram transferidos para uma placa de microtitulação estéril com 96 poços fundo U, dívidas em fermentadoras de manitol e não fermentadoras, onde foram individualmente inoculadas cada uma em um poço contendo 100 µl de meio caldo BHI, incubadas a 37 °C para multiplicação permitindo, assim, a organização de uma biblioteca de isolados. Posteriormente, as placas foram repicadas com auxílio de um repicador metálico estéril de 96 pinos para placas com meio de cultivo Müller-Hinton (SIGMA-ALDRICH®) acrescido de cloreto de sódio contendo o antibiótico Oxacilina 4 µg/ml (MHoxa) (SIGMA-ALDRICH®), para determinação de cocos Gram-positivos resistentes a Meticilina/Oxacilina, putativos *Staphylococcus aureus* MRSA (BRCAS, 2017).

### **4. Identificação das cepas de Gram-negativas lac+/ESBL+ e Gram-positivas resistentes à oxacilina.**

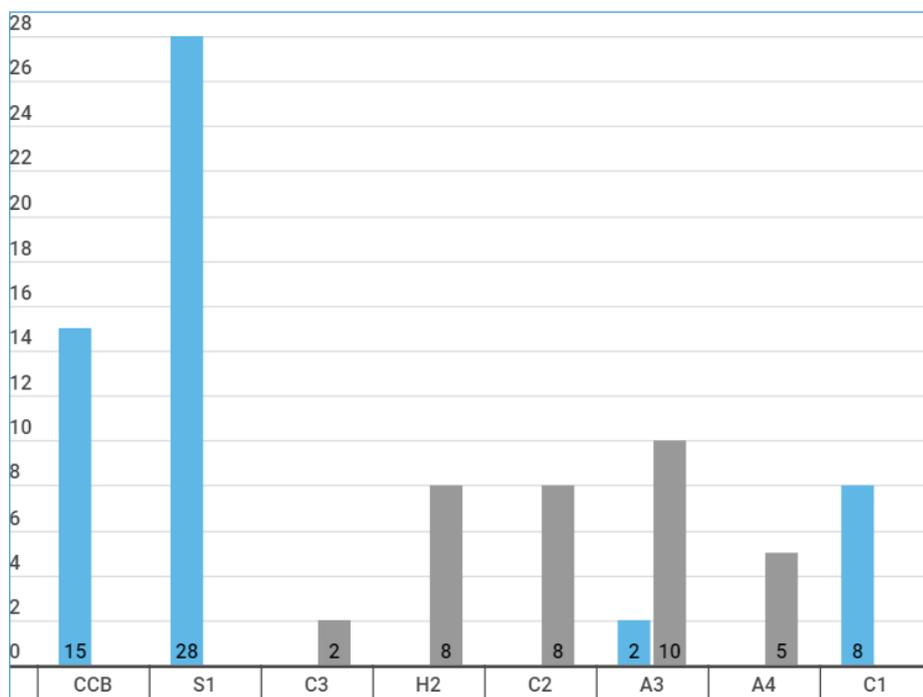
Para a identificação das colônias que apresentaram resistência a beta-lactâmicos vindos das placas McConkey/ESBL cromogênico (MCesbl) e resistência a Oxacilina em ágar Muller-Hinton vindos do meio Manitol-Salgado (MSoxa) será utilizada a metodologia de espectrometria de massas MALDI-TOF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight*), que permite a partir de células bacterianas inteiras isoladas a identificação dos gêneros, espécies e/ou subespécies/cepas/subtipos/sorovares de bactérias patogênicas (SINGHAL et al., 2015).

As amostras serão submetidas ao equipamento Microflex LT (*Bruker Daltonik GmbH*, Bremen, Alemanha) do Instituto de Microbiologia Paulo Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), em colaboração com a Prof.<sup>a</sup> Dra. Raquel Bonelli. As amostras serão preparadas por transferência direta estendida, onde as colônias serão colhidas e depositadas em duplicata nos alvos de aço polido, com a aplicação de 1 µl de ácido fórmico a 70% (v/v), e após a secagem, 1 µl da solução matriz (HCCA; alfa-ciano-4-hidroxicinâmico). Além disso, a cepa DH5α de *Escherichea coli* será utilizada como padrão de calibração e espectro de referência do equipamento. O processamento dos espectros das proteínas entre 2 e 2kDa será obtido através do software *flexControl* versão 3.4 (*Bruker Daltonics*, EUA) e comparado com os espectros presentes no pacote MBT 7854 MSP Library do software MALDI Biotyper versão 3.1 (*Bruker Daltonics*).

## RESULTADOS

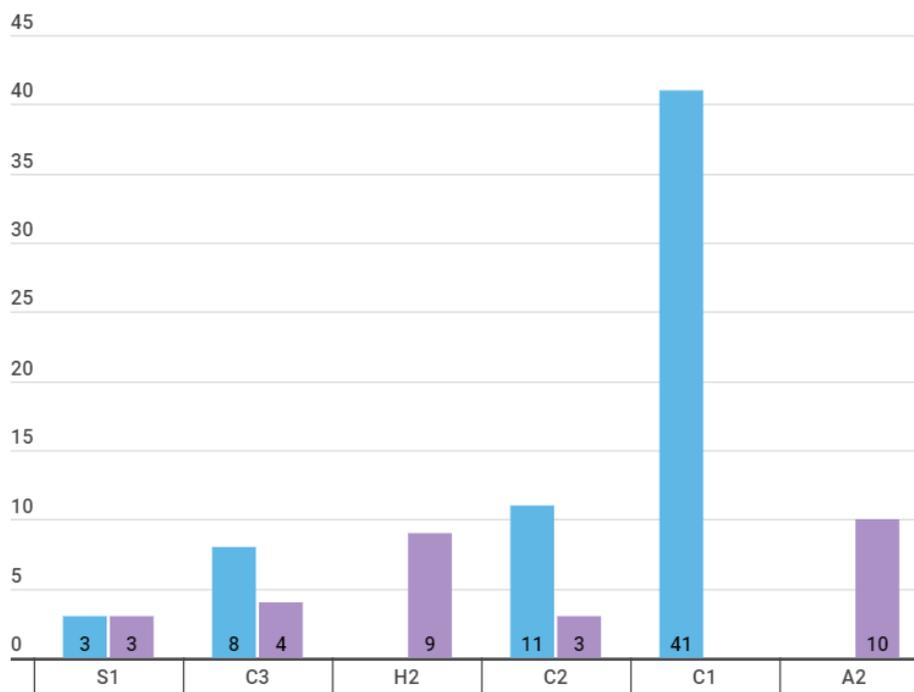
Posteriormente após crescimento, diluição e incubação, as colônias foram separadas em placas de 96 poços fundo U, em lactose positivas e negativas, para patógenos Gram-negativos, e fermentadoras ou não de manitol. Após o crescimento os isolados e incubados por 24h, com um auxílio de um replicador metálico de 96 pinos, foi realizado um repique para placa de ESBL ágar cromogênico (Sigma-Aldrich®) para os isolados Gram-negativo, e ágar Mueller Hinton+Oxa para isolados Gram-positivos. A seguir os gráficos com os isolados crescidos.

Gráfico 1. Isolados resistentes a oxacilina manitol positivo e negativo t0

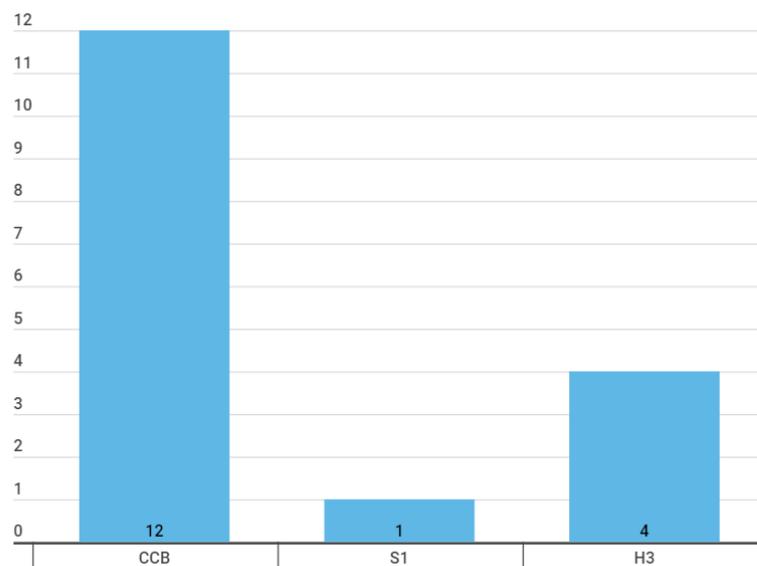


Legenda: Gráfico em colunas; onde o eixo y representa o número de isolados, e o eixo x representa o local da coleta, sendo as colunas sombreadas em azul os isolados fermentadores de manitol e as colunas sombreadas em cinza os isolados não fermentadores de manitol.

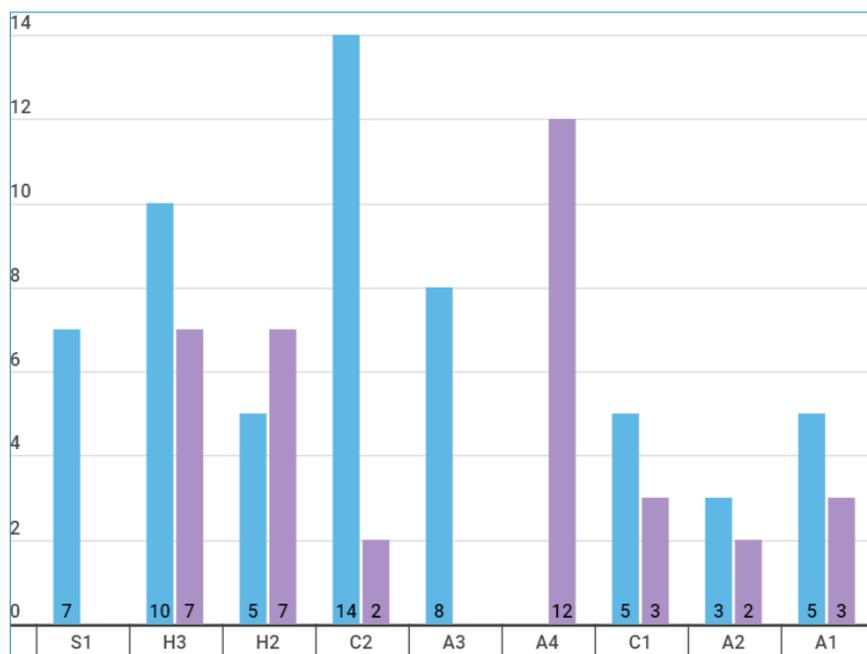
Gráfico 2. Isolados ESBL+ lactose positivo e negativo t0



Legenda: Gráfico em colunas; onde o eixo y representa o número de isolados, e o eixo x representa o local da coleta, sendo as colunas sombreadas em azul os isolados fermentadores de lactose e as colunas sombreadas em roxo os isolados não fermentadores de lactose.

Gráfico 3. Isolados resistentes a oxacilina manitol positivo t<sub>1</sub>

Legenda: Gráfico em colunas; onde o eixo y representa o número de isolados, e o eixo x representa o local da coleta, sendo as colunas sombreadas em azul os isolados fermentadores de manitol.

Gráfico 4. Isolados ESBL+ lactose positivo e negativo t<sub>1</sub>

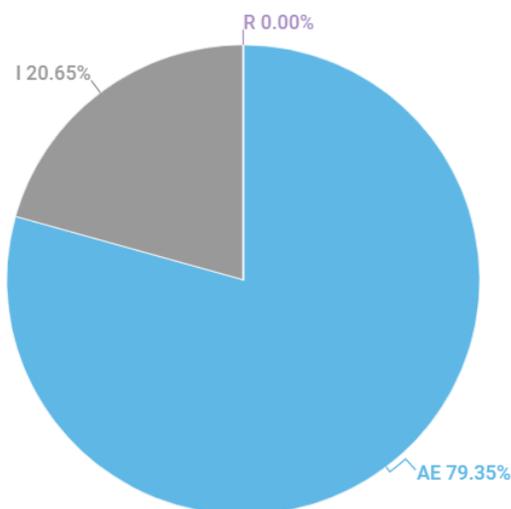
Legenda: Gráfico em colunas; onde o eixo y representa o número de isolados, e o eixo x representa o local da coleta, sendo as colunas sombreadas em azul os isolados fermentadores de lactose e as colunas sombreadas em roxo os isolados não fermentadores de lactose.

Tabela 5. Organismos X Coloração do substrato cromogênico utilizado

Organismo	Substrato cromogênico utilizado
<i>Proteus, Morganella e Providencia</i>	Incolor (I)
<i>Escherichia coli</i>	Rosa a roxo (R)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Azul esverdeado (AE)

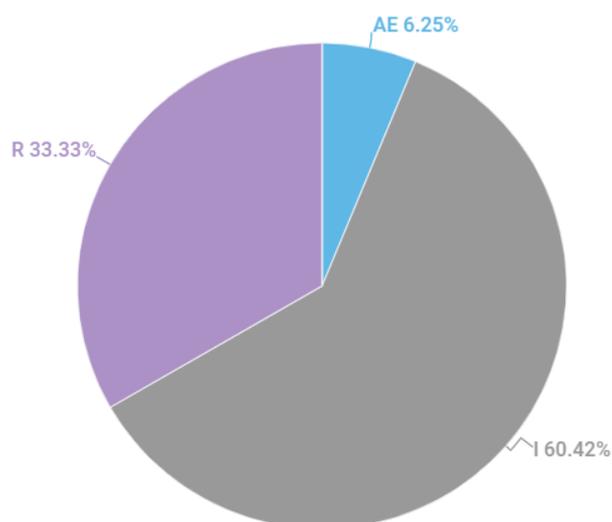
Legenda: As colorações do substrato seguem em acordo com a bula disponibilizada pela Sigma-Aldrich®

Gráfico 5. Isolados ESBL+ x Aparência da colônia t<sub>0</sub>



Legenda: Gráfico em pizza da coloração de substrato produzida pelos isolados em ágar ESBL cromogênico(Sigma-aldrich®) de Gram-negativas produtoras de ESBL em t<sub>0</sub>; AE = azul esverdeado; I = incolor.

Gráfico 6. Isolados ESBL+ x Aparência da colônia t<sub>1</sub>



Legenda: Gráfico em pizza da coloração de substrato produzida pelos isolados em ágar ESBL cromogênico(Sigma-aldrich®) de Gram-negativas produtoras de ESBL em t<sub>1</sub>; AE = azul esverdeado; I = incolor, R = rosa a roxo.

Os isolados Gram-negativos e Gram-positivos que cresceram e se demonstraram resistentes foram isolados e congelados com glicerol 10% para crioproteção dos isolados.

Foram encontradas e isoladas n=301 isolados de bactérias Gram-positivas resistentes à oxacilina e Gram-negativas produtoras de ESBL como *Klebsiella pneumoniae* (identificada presuntivamente pelo crescimento azul esverdeado no ágar ESBL cromogênico) e *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* (identificadas presuntivamente pelo crescimento incolor no ágar ESBL cromogênico).

Apesar da prevalência de bactérias Gram-positivas na microbiota da mão, obteve-se um maior crescimento de isolados Gram-negativos, onde foram totalizados n=188 (62,4%) isolados Gram-negativo resistentes, e 113 (37,6%) isolados Gram-positivo resistentes.

No t<sub>0</sub> (n=178), foram isolados n=86 isolados Gram-positivos resistentes à oxacilina, sendo n=33 (38,4%) não fermentadoras de manitol, e n=53 (61,6%) fermentadoras de manitol, já em t<sub>1</sub> (n=123) foram isolados n=17 isolados resistentes à oxacilina, sendo 100% fermentadores de manitol.

Dos isolados Gram-negativos produtores de ESBL, em t<sub>0</sub> das n=92 colônias, onde n=28 (30,4%) eram não fermentadoras de lactose e n=64 (69,6%) fermentadoras de lactose. Em t<sub>1</sub> foram isolados 96 isolados produtores de ESBL, onde n=38 (39,6%) eram fermentadoras de lactose e n=58 (60,4%) não fermentadoras de lactose.

Dos n=188 isolados totais, n=86 (45,7%) produziram coloração do substrato incolor (permitindo a identificação presuntiva de *Proteus*, *Providencia* e *Morganella*), n=70 (37,3%) produziram coloração do substrato azul esverdeado (permitindo a identificação presuntiva de *Klebsiella pneumoniae*) e n=32 (17%) produziram coloração rosa a roxo (permitindo a identificação presuntiva de *Escherichia coli*). Vale ressaltar que em t<sub>0</sub> não houve produção de substrato rosa a roxo sendo n=32 100% de t<sub>1</sub>.

## DISCUSSÃO

Um estudo realizado em 2020 dentro do Hospital Universitário de Florianópolis (HU), isolou bactérias resistentes de amostras dos leitos do HU/UFSC, onde dos 181 isolados totais, 128 eram Gram-negativos, sendo *E. coli* (65,2%), *Klebsiella* spp.

(9,1%), *Serratia* spp. (6,1%), *Enterobacter* spp. (3%) e *Proteus* spp. (3%) e 53 eram de cocos Gram-positivos, sendo eles *Staphylococcus coagulase negativa* (66,4%), *S. aureus* (22,6%) e *Enterococcus* spp. (17%) (MACHADO, 2020).

Assim como no trabalho citado, foram isoladas mais bactérias Gram-negativas (n=188) nos bebedouros da UFSC em comparação a Gram-positivas (n=113), sendo os isolados mais frequentes (presuntivamente) os mesmos, *E.coli* e *Klebsiella*. Para Gram-positivas, não foram realizados testes, como o teste bioquímico de coagulase, que permitissem diferenciar os cocos isolados, porém acredita-se que os microorganismos encontrados se assemelhem com os resultados acima, assim como ocorre com os isolados do boletim nº28 da ANVISA, onde das n=36.848 amostras, 27,5% eram de ScoN, 15,05% de *S. aureus* e 6,45% *Enterococcus faecalis*.

Além disso, os dados encontrados nesse trabalho, também corroboram com os dados epidemiológicos do HU/UFSC, onde as bactérias Gram-negativas representam 62,2% de todas as infecções hospitalares, sendo *E.coli* e *Klebsiella* spp. as mais frequentes (ZAMPARETTE,2019).

Desta forma, a resistência antimicrobiana é uma preocupação global de saúde pública, estando presente em diferentes nichos ecológicos (ANVISA, 2021). Diante os problemas relatados, organizações internacionais, países e setores tecnológicos vêm procurando maneiras de enfrentar e reduzir o número de cepas e infecções resistentes aos antimicrobianos.

Dentro das universidades, evidencia-se a necessidade de capacitar os profissionais para adequada e frequente higienização dos bebedouros, com objetivo de diminuir a disseminação desses isolados resistentes entre alunos, servidores e pacientes que circulam na Universidade, e a adequação dos bebedouros para aqueles em que a válvula de acionamento se encontra ao lado do equipamento, retirando os bebedouros antigos em que a válvula de acionamento se encontra ao lado da torneira de evasão da água, o que facilita a transferência de patógenos do bebedouro para a garrafa de água ou diretamente para as mucosas do indivíduo.

Além disso, deve-se observar o papel importante dos profissionais da saúde para controlar a disseminação de resistência (OLIVEIRA, 2021). Dentro dos hospitais e locais de atendimento em saúde de modo geral, cabe ao profissional da saúde seguir rigorosamente medidas de assepsia, além de refletir sobre o uso indiscriminado de antibióticos afim de controlar a disseminação de resistências. Portanto, vale ressaltar

o papel do farmacêutico na atenção básica como profissional capacitado para fazer a melhor escolha de tratamento, reconhecendo que não havendo infecção bacteriana confirmada, não existe necessidade do uso de antimicrobianos assim diminuindo a pressão seletiva nas bactérias (OLIVEIRA, 2021).

Cabe também ao governo estabelecer iniciativas de combate a resistência em nível local, municipal, estadual e federal, com medidas como incentivo a criação de novas tecnologias de combate a resistência (incentivo financeiro a instituições de pesquisa para que estas mantenham seus programas de pesquisa e desenvolvimento), políticas para monitorar as tendências de resistência (farmacovigilância), suporte aos profissionais de saúde (incentivando o uso adequado de antibióticos e correta assepsia), melhorias na regulamentação e desenvolvimento de medidas que também englobem a saúde ambiental (sistemas de esgoto, coletas de rejeitos, direcionamento da água, saneamento adequado).

Há também necessidade para a criação de novas tecnologias e antimicrobianos, as indústrias farmacêuticas enfrentam desafios constantes para o desenvolvimento de novos medicamentos devido à falta de incentivo financeiro e a árduas exigências regulatórias, o que reforça a necessidade a um maior incentivo financeiro as instituições de pesquisa como universidades e indústrias farmacêuticas para que estas estudem novas estratégias e alternativas de tratamento a cepas resistentes.

O uso indiscriminado de antimicrobianos deve ser refletido também pela população em geral. Em estudo realizado pela revista eletrônica ACTA de biomédica brasileira em 2015 sobre “o uso indiscriminado de antibióticos pela população de São José do Calçado (ES) e o perigo das superbactérias” observou-se a falta de conhecimento da população sobre a forma de utilizar um antibiótico e os riscos que isso pode acarretar e o impacto do seu uso na sociedade. Além disso, notou-se também que grande parte da população comprava a medicação sem nenhum tipo de fiscalização rigorosa (MARTINS *et al.*, 2021). Portanto, é necessária uma conscientização da população por meio de panfletos, propagandas e até mesmo no ambiente escolar, sobre a importância de utilizar os medicamentos de forma correta e no horário correto para que não haja comprometimento da sua eficácia, tendo em vista a educação em saúde como um processo político e pedagógico, para o desenvolvimento do pensar crítico e reflexivo, permitindo que o indivíduo adquira o senso de responsabilidade pela sua própria saúde e pela saúde coletiva. Também deve haver o incentivo a compra de

antibióticos apenas com indicação e prescrição médica, sem contar uma maior fiscalização dentro das farmácias e maior conscientização dos profissionais de saúde para que haja uma redução da venda indiscriminada destes.

Sabe-se também que as bactérias circulam entre nós por meio da alimentação, da água e do meio ambiente, e sua transmissão é influenciada pelo comércio, pelas viagens e pelas migrações humana e animal. Portanto, devem-se adotar ações multissetoriais e não voltadas apenas para o ambiente hospitalar, como a abordagem Saúde Única (*One Health approach*) no plano de ação global, que tem como principal objetivo assegurar a continuidade da resposta no tratamento e prevenção de doenças infecciosas por meio de medicamentos efetivos e seguros de forma acessível, responsável e priorizando a saúde humana integrada com saúde animal, ambiental e políticas públicas (ESTRELA, 2021).

## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este trabalho permitiu o isolamento de microrganismos Gram-positivos resistentes a oxacilina e Gram-negativos produtores de beta-lactamase fora do ambiente hospitalar e evidenciando a importância da discussão do uso indiscriminado de antibióticos e os desafios na inovação de novas formas de tratamento. De forma geral as infecções causadas por microrganismos resistentes elevam os custos do tratamento, prolongam a permanência do paciente nos hospitais e aumenta os índices de mortalidade. Conforme se perde a eficácia de antibióticos comumente usados, as infecções antes facilmente tratadas passam a ser de difícil recuperação. O enfrentamento a essas infecções segue apresentando desafios de tratamento e sustentabilidade, sendo responsável por um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade.

As limitações farmacêuticas para criações de novas tecnologias junto a limitações dos antibióticos já existentes e a diminuição do abastecimento de certos antibióticos como a penicilina, faz com que as infecções bacterianas se tornem cada vez mais frequentes e difíceis de combater, ressaltando a necessidade do investimento em novas tecnologias de tratamento não visando o lucro comercial, e sim reconhecendo o assunto como um problema de saúde pública e universal que deve ser abordado no âmbito de saúde pública. Outrossim, a criação de políticas

públicas que abordem o tema e incentivem a população a ter mudanças de comportamento se mostra extremamente necessária. Lavagem correta das mãos, de alimentos, são algumas medidas que devem ser tomadas para evitar a transmissão de bactérias resistentes, assim como o uso de antibióticos de forma correta e consciente. Dentro do hospital deve se adotar medidas que controlem as infecções e que permitam rápida identificação de bactérias resistentes e sua resistência, acelerando o isolamento do paciente e evitando a contaminação de outros ambientes do hospital. É também fundamental que os profissionais de saúde seguem à risca as normas de biossegurança, se mantendo atentos ao uso de luvas, higienização das mãos e dos espaços hospitalares.

Apenas esforços multissetoriais são capazes de conter a disseminação de bactérias resistentes, visto que essas não se limitam apenas ao ambiente hospitalar, podendo ser encontradas em alimentos, água e bebedouros como trouxe os dados deste presente trabalho. Fazendo com que seja necessário diálogo entre diferentes setores do governo e da sociedade, além do monitoramento e aprimoramento de ações já existentes. A manutenção do compromisso político e a destinação de recursos financeiros para sua implementação serão essenciais para assegurar o eficaz cumprimento dos compromissos domésticos e internacionais do Brasil em matéria de resistência, tendo em vista o conceito de saúde pública e entendendo o combate a resistência como um problema mundial presente tanto no âmbito hospitalar como no âmbito ambiental, alimentar e comunitário.

Tem-se como perspectiva desse projeto, a futura identificação por Maldi-TOF para identificação e caracterização das espécies inoculadas neste trabalho, além da caracterização de outras resistências com a realização de um antibiograma, permitindo analisar se os isolados encontrados são resistentes a mais de um tipo de antimicrobiano.

## REFERÊNCIAS

SUTERA, Gabriele et al. **Bacterial Shape: Two-Dimensional Diversity in Cell Morphology.** 2021. Disponível em: <https://docs.ufpr.br/~microgeral/shapes.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2023.

MACHADO, Francielli Tavares. **Caracterização de bactérias multirresistentes isoladas de pacientes internados no Hospital Universitário/ UFSC.** 2020. 69 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/209574/TCC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 05 jul. 2023.

Zamparette, C.P. **Caracterização molecular de enterobactérias multirresistentes.** 2019. (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ALMEIDA, Raquel da Costa et al. **A IMPORTÂNCIA DO FARMACÊUTICO NA DISPENSAÇÃO E CONTROLE DE MEDICAMENTOS CLASSIFICADOS COMO ANTIMICROBIANOS.** 2020. Disponível em: <http://revistas.famp.edu.br/revistasaudemultidisciplinar/article/view/112>. Acesso em: 15 jun. 2023.

NASCIMENTO, Amanda Maria de Sousa. **MECANISMOS DE AÇÃO ANTIBACTERIANA DE INIBIDORES DE TRIPSINA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E UM ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE DINÂMICA MOLECULAR COM MEMBRANAS DE BACTÉRIAS.** 2021. Disponível em: [https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/45313/1/Mecanismosacaoantibacteriana\\_Nascimento\\_2021.pdf](https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/45313/1/Mecanismosacaoantibacteriana_Nascimento_2021.pdf). Acesso em: 15 maio 2023

NOGUEIRA, Hadison Santos *et al.* **ANTIBACTERIANOS: PRINCIPAIS CLASSES, MECANISMOS DE AÇÃO E RESISTÊNCIA.** 2016. Disponível em: <https://www.periodicos.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/1811/1940>. Acesso em: 15 maio 2023.

MORA-OCHOMOGO, Montserrat; LOHANS, Christopher T..  **$\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates.** 2021. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8528271/>. Acesso em: 13 maio 2023.

BEHREN, Sandra; WESTERLIND, Ulrika. **Glycopeptides and -Mimetics to Detect, Monitor and Inhibit Bacterial and Viral Infections: Recent Advances and Perspectives.** 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30871155/>. Acesso em: 12 maio 2023.

BRESSAN, Eduardo. **FORMAÇÃO DE BIOFILME, EXPRESSÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM AMOSTRAS CLÍNICAS DE Enterococcus spp. NO BRASIL: UMA REVISÃO DA LITERATURA.** 2021. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/22342/TCC%20Eduardo%20Bressan%20versão%20final%20correta.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 maio 2023.

SILVEIRA, Gustavo Pozza; NOME, Faruk. **ESTRATÉGIAS UTILIZADAS NO COMBATE A RESISTÊNCIA BACTERIANA.** 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/8357FZYbtRVJB3R5pKFGP6v/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 15 jun. 2023.

ANVISA. **Prevenção de infecções por microrganismos multirresistentes em serviços de saúde.** 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/manual-prevencao-de-multirresistentes7.pdf>. Acesso em: 1 maio 2023.

DALMOLIN, Jaqueline *et al.* **MECANISMOS DE EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS E SAÚDE PÚBLICA.** 2022. Disponível em: <https://ojs.revistasunipar.com.br/index.php/saude/article/view/8851/4322>. Acesso em: 1 maio 2023.

SILVA, Eliana de Los Santos *et al.* **Resistencia a sulfamida y los integrones de clase 1.** 2022. Disponível em: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/32582/1/uy24-20410.pdf>. Acesso em: 1 maio 2023.

VIGLIAROLO, Laura *et al.* **SENSIBILIDAD A TRIMETOPRIMA-SULFAMETOXAZOL DE STREPTOCOCCUS PYOGENES AISLADOS DE INFECCIONES INVASIVAS.** 2018. Disponível em: <https://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol78-18/n5/311-314-Med6841-Vigliarolo.pdf>. Acesso em: 1 maio 2023.

Ebserh. **CLIENTE COLONIZADO OU INFECTADO POR BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.** 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sudeste/hc-uftm/documentos/planos-e-programas/pl-de-002-plano-de-intervencoes->. Acesso em: 1 jun. 2023.

BRCAS. **Orientações do EUCAST para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica.** 2017. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp->

content/uploads/2022/09/Orientações-do-EUCAST-para-a-deteccão-de-mecanismos-de-resistência-e-resistências-específicas2.pdf. Acesso em: 1 jun. 2023.

Anvisa. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde. Gerência de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos Adversos. Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde, Brasília.** 2017. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano\\_prevencao\\_resistencia\\_anti\\_microbianos.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_prevencao_resistencia_anti_microbianos.pdf). Acesso em: 1 jun. 2023.

- CAVE, R. et al. **Whole genome sequencing revealed new molecular characteristics in multidrug resistant staphylococci recovered from high frequency touched surfaces in London.** Scientific reports, v. 9, n. 1, p. 9637, 2019.
- OLIVEIRA, Edilberto Antonio Souza de. **RESUMO DOS ANTIBIÓTICOS QUE ATUAM COMO ANTIBACTERIANOS.** 2011. 25 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Easo, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1344427365Antibioticos%20Antibacterianos.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- AZEVEDO, Sílvia Marisa Moreira. **Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos.** 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Ciências da Saúde, Ufp, Fernando Pessoa, 2014. Disponível em: [https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4412/1/PPG\\_21378.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4412/1/PPG_21378.pdf). Acesso em: 15 mar. 2021.
- REVISÃO BIBLIOGRAFICA DE ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÂMICOS.** Indaiatuba: Saúde em Foco, 2019. Disponível em: [https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/10/085\\_Revis%C3%A3o-bibliogr%C3%A1fica-de-antibi%C3%B3ticos-beta-lact%C3%A2micos-982-a-995.pdf](https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/10/085_Revis%C3%A3o-bibliogr%C3%A1fica-de-antibi%C3%B3ticos-beta-lact%C3%A2micos-982-a-995.pdf). Acesso em: 15 mar. 2021.
- OMS. **Novos dados revelam níveis elevados de resistência aos antibióticos em todo o mundo.** Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5592:novos-dados-revelam-niveis-elevados-de-resistencia-aos-antibioticos-em-todo-o-mundo&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5592:novos-dados-revelam-niveis-elevados-de-resistencia-aos-antibioticos-em-todo-o-mundo&Itemid=812). Acesso em: 15 mar. 2021.
- SANITÁRIA, Agência Nacional de Vigilância. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde.** Disponível em: <http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=m6vpZEgtbjw%3D>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- ANDRADE, Leonardo Neves de; DARINI, Ana Lúcia da Costa. **Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos.** Disponível em: <file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Downloads/3.%20Mecanismos%20de%20resist%C3%Aancia.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- ESTRELA, Tatiana Silva. **Resistência antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira.** Disponível em: [https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/22/18\\_Tatiana\\_Estrela.pdf](https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/22/18_Tatiana_Estrela.pdf). Acesso em: 15 mar. 2021.

- DINIZ, Cláudio Galuppo. **Drogas antimicrobianas e antibioticoterapia: aspectos microbiológicos, ecológicos e clínicos.** Aspectos microbiológicos, ecológicos e clínicos. Disponível em: <https://www.ufjf.br/microbiologia/files/2013/05/Aula-Antimicrobianos-2019.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- BRASIL, Opas. **Folha informativa - Resistência aos antibióticos.** Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5664:folha-informativa-resistencia-aos-antibioticos&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5664:folha-informativa-resistencia-aos-antibioticos&Itemid=812). Acesso em: 15 mar. 2021.
- NICÉSIO, Raphael Gonçalves. **Mecanismos de ação dos antibióticos.** Disponível em: <https://biomedicinabrasil.com.br/microbiologia/mecanismos-de-acao-dos-antibioticos/#:~:text=Inibidores%20da%20s%C3%ADntese%20de%20%C3%A1cidos%20nucleicos&text=Os%20inibidores%20da%20topoisomerase%20impedem,de%20divis%C3%A3o%20celular%20%C3%A9%20diminu%C3%ADda.>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- MAYER, Gene. **ANTIBIÓTICOS – SÍNTESE DE PROTEÍNAS, SÍNTESE DE ÁCIDOS NUCLÊICOS E METABOLISMO.** Disponível em [http://www.microbiologybook.org/Portuguese/chapter\\_6\\_bp.htm](http://www.microbiologybook.org/Portuguese/chapter_6_bp.htm). Acesso em: 15 mar. 2021.
- ROCHA, Lucas. **Pesquisadora fala sobre a resistência causada pelo uso indiscriminado de antibióticos** Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/pesquisadora-fala-sobre-resistencia-causada-pelo-uso-indiscriminado-de-antibioticos>. Acesso em 15 de mar. 2021.
- CRM-PR. **Estado publica boletim de perfil de resistência aos antibióticos.** Disponível em: <https://www.crmpr.org.br/Estado-publica-boletim-de-perfil-de-resistencia-aos-antibioticos-11-49166.shtml> Acesso em 15 de mar. 2021.
- ANVISA. **ANTIMICROBIANOS – BASES TEÓRICAS E USO CLÍNICO.** Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/control/rede\\_rm/cursos/rm\\_control/pas\\_web/modulo1/oxazolidinonas.htm#:~:text=A%20linezolida%20representa%20o%20%C3%BAnico,atividade%20contra%20bact%C3%A9rias%20gram%2Dnegativas](https://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/control/rede_rm/cursos/rm_control/pas_web/modulo1/oxazolidinonas.htm#:~:text=A%20linezolida%20representa%20o%20%C3%BAnico,atividade%20contra%20bact%C3%A9rias%20gram%2Dnegativas). Acesso em 15 de mar. 2021.
- OVÇAR, E.C.; PETRIS, L.L.; ARAGÃO, M.J.R.; MOMESSO, L. S. **ANTIMICROBIANOS INIBIDORES DA SÍNTESE PROTEICA BACTERIANA** Disponível em: [https://cic.unifio.edu.br/anaisCIC/anais2017/pdf/07\\_04.pdf](https://cic.unifio.edu.br/anaisCIC/anais2017/pdf/07_04.pdf). Acesso em 15 de mar. 2021.
- ROSENTHAL, Victor Daniel et al. **International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 45 countries for 2012-2017: Device-associated module** Disponível em: <file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Documents/TCC/rosenthal2019.pdf>. Acesso em 15 de mar. 2021.
- SAMPAIO, Jorge Luiz Mello; GALES, Ana Cristina. **Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on -lactams and polymyxins.** Disponível em: Acesso em 15 de mar. 2021.
- FORTALEZA, Carlos Magno et al. : **Multistate survey of healthcare-associated infections in acute care hospitals in Brazil.** Disponível em: <https://sci->

- [hub.se/https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(17\)30177-9/fulltext](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(17)30177-9/fulltext). Acesso em 15 de mar. 2021.
- FOX, Alvin. **ANTIBIÓTICOS QUE AFETAM O ENVOLTÓRIO CELULAR**. Disponível em: [https://www.microbiologybook.org/Portuguese/chapter\\_5\\_bp.htm](https://www.microbiologybook.org/Portuguese/chapter_5_bp.htm). Acesso em 15 de mar. 2021.
- DANDOLINI, Bruna Werner et al. **Uso Racional de Antibióticos: uma experiência para educação em saúde com escolares** Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/csc/v17n5/a26v17n5.pdf> .Acesso em 15 de mar. 2021.
- GUEDES, Marcos; NASCIMENTO, Jorge; CALDEIRA, Luiz. **A LUTA CONTRA OS MICRÓBIOS: A HISTÓRIA DOS ANTIBIÓTICOS** Disponível em: [file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Downloads/SALA\\_DE\\_PROFESSOR\\_a\\_hist%C3%B3ria\\_dos\\_antibi%C3%B3ticos%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Downloads/SALA_DE_PROFESSOR_a_hist%C3%B3ria_dos_antibi%C3%B3ticos%20(1).pdf) . Acesso em 15 de mar. 2021.
- JUNIOR, Ary Fernandes. **Mecanismos de Patogenicidade das Bactérias**. Disponível em: <https://www.ibb.unesp.br/Home/ensino/departamentos/microbiologiaeimmunologia/aula-patogenicidade-veterinaria-2019.pdf> . Acesso em 15 de mar. 2021.
- CARVALHO, Irineide Teixeira. **Microbiologia básica**. Disponível em: [http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia\\_Basica.pdf](http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia_Basica.pdf). Acesso em 15 de mar. 2021.
- BURNETT, G.W.; SCHUSTER, G.S. **Microbiologia Oral e Enfermidade infecciosas**. Panamericana., Buenos Aires, 1982, p. 31-70.
- NISENGARD, R.J.; NEWMAN, M.G. **Oral Microbiology and Immunology**. 2<sup>ed.</sup>, Philadelphia, Sauders, 1994, 477 p.
- AMINOV, Rustam I., **A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future**. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2010.00134/full>. Acesso em 15 de mar. 2021.
- AVILA-CAMPOS, Mario Junior. **Beta-lactamases: Sua importância na resistência bacteriana**. Disponível em: [http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com\\_content&view=article&id=47&Itemid=57&lang=br](http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=57&lang=br) Acesso em 15 de mar. 2021.
- KATZUNG, Bertram G.; MASTERS, Susan B.; TREVOR, Anthony J. (Org.). **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Porto Alegre, RS: AMGH Ed., 2014
- MARTINS, Graziella da Silva; MANGIAVACCHI, Bianca Magnelli; BORGES, Franz Viana; LIMA, Nathália Bastos. **USO INDISCRIMINADO DE ANTIBIÓTICOS PELA POPULAÇÃO DE SÃO JOSÉ DO CALÇADO (ES) E O PERIGO DAS SUPERBACTÉRIAS**. Disponível em: <file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Downloads/47-255-1-PB.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- WERTH, Brian J. **Monobactâmicos**. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/bact%C3%A9rias-e-f%C3%A1rmacos-antibacterianos/monobact%C3%A2micos#:~:text=Monobact%C3%A2micos%20s%C3%A3o%20antibi%C3%B3ticos%20bactericidas%20betalact%C3%A2micos%20parenterais.&text=O%20aztreonam%20n%C3%A3o%20%C3%A9%20at>

- [ivo,microrganismos%20Gram-positivos%20s%C3%A3o%20resistentes.](#) Acesso em 15 de mar. 2021.
- CASTRO, M. S. et al. **Tendências na utilização de antimicrobianos.** Rev. Saúde Pública, v. 36, n. 5, p. 553-558, 2002.
- DAVIES, J.; SPIELGAMAN, G.B; YIM, G. **The world of subinhibitory antibiotic concentrations.** Curr. Opin. Microbiol. 9, 445–453.10.1016
- AMINOV, Rustam I., **A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future.** Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109405/>. Acesso em: 15 de mar. 2021.
- WALSH; C.; **Antibiotics: Actions, Origins, Resistance;** ASM Press: Washington, 2003.
- TORTORA, Gerard J. **Microbiologia.** Porto Alegre: Artmed Editora, 2016.
- CAPA, Nossa (ed.). **Nossa capa: Alexander Fleming e a descoberta da penicilina.** 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/jY6NfbwqjkMQTbCdFBRbp4M/?lang=pt>. Acesso em: 05 jun. 2021.
- CAVALLO, J. D., et al. (2004). **Bêtalactamines. EMC - Maladies Infectieuses**, 1, pp. 129- 202.
- BINELLI, , Bruno Santi Orsi, et al. **CEFALOSPORINAS: SUA ORIGEM, USO E FUNÇÃO EM ANIMAIS DE GRANDE E PEQUENO PORTE.** 2012. Disponível em [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/QQkDFkip5QEm0dv\\_2013-6-19-11-37-37.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/QQkDFkip5QEm0dv_2013-6-19-11-37-37.pdf). Aceso em 05 jun. 2021.
- LORENZETTI, Jorge, et al. **Tecnologia, inovação tecnológica e saúde: uma reflexão necessária.** 2012. Disponível em <https://www.scielo.br/j/tce/a/63hZ64xJVrMf5fwsBh7dnnq/?lang=pt>. Aceso em 05 jun. 2021.
- PENIDO, Claudio. **Carbapenêmicos (beta-lactâmicos).** 2018. Disponível em <file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Downloads/Carbapen%C3%AAmicos%20v1.pdf>. Acesso em 05 jun. 2021.
- GUIMARÃES, Denise Oliveira, et al. **Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes.** 2010. Disponível em <https://www.scielo.br/j/qn/a/dhKT3h4ZxxvsQdkzyZ4VnpB/?lang=pt>. Acesso em 05 jun. 2021.
- FELICIANO, Cinara Silva. **Polimixinas.** 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/ana%20luiza.analuiza/Downloads/Polimixinas.pdf>. Acesso em 05 jun. 2021.
- SANTOS, Neusa de Queiroz, **A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar.** 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/tce/a/KrkXBPpt83ZyvMBmxHL8yCf/?lang=pt>. Acesso em 05 jun. 2021.
- WANNMACHER, Lenita. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida?** Disponível em:

- [https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1340027024opas\\_1\\_uso\\_indiscriminado.pdf](https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1340027024opas_1_uso_indiscriminado.pdf). Acesso em: 01 maio 2021.
- OLIVEIRA, Adriana Cristina de; DAMASCENO, Quésia Souza. **Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão.** Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0080-62342010000400038](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342010000400038). Acesso em: 29 abr. 2021
- ALVIM, Mariana. **Porque uso de antibióticos na agropecuária preocupa médicos e cientistas.** Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-50119820>. Acesso em: 29 abr. 2021
- MOTA, Fernanda Soares, et al. **Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva.** 2018. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/perfil-e-prevalencia-de-resistencia-aos-antimicrobianos-de-bacterias-gram-negativas-isoladas-de-pacientes-de-uma-unidade-de-terapia-intensiva/>. Acesso em: 29 abr. 2021
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2006. **Vigilância e controle de qualidade da água para consumo humano.** Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia\\_controle\\_qualidade\\_agua.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf). Acesso em: 29 abr. 2021.
- MOREIRA, José Luciano Bezerra et al. **Visualização bacteriana e colorações.** Disponível em: [http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/16672/1/2015\\_liv\\_jlbmoreira.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/16672/1/2015_liv_jlbmoreira.pdf). Acesso em: 24 ago. 2021.
- SCHERER, Carolina Boesel. **Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana.** Disponível em: <https://medvep.com.br/wp-content/uploads/2020/09/Mecanismos-de-a%C3%A7%C3%A3o-de-antimicrobianos-e-resist%C3%Aancia-bacteriana.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2021.
- IACG (org.). **No time to wait: Securing the future from drug-resistant infections.** Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/documents/no-time-to-wait-securing-the-future-from-drug-resistant-infections-en.pdf?sfvrsn=5b424d7\\_6](https://www.who.int/docs/default-source/documents/no-time-to-wait-securing-the-future-from-drug-resistant-infections-en.pdf?sfvrsn=5b424d7_6). Acesso em: 21 ago. 2021.
- AVELLEIRA, João Carlos Regazzi; BOTTINO, Giuliana. **Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle.** Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/tSqK6nzB8v5zJjSQcfWSkPL/?lang=pt>. Acesso em: 24 ago. 2021.
- SCARBOROUGH, Matthew et al. **Adjunctive rifampicin for Staphylococcus aureus bacteraemia (ARREST): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial.** 2018. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)32456-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32456-X/fulltext). Acesso em: 27 ago. 2021.
- ALBINO, Sonaly Lima et al. **DNA TOPOISOMERASES E SEU PAPEL COMO ALVO FARMACOLÓGICO: UMA REVISÃO.** 2017. Disponível em:

[https://editorarealize.com.br/editora/anais/conbracis/2017/TRABALHO\\_EV071\\_MD1\\_SA3\\_ID108\\_02052017204005.pdf](https://editorarealize.com.br/editora/anais/conbracis/2017/TRABALHO_EV071_MD1_SA3_ID108_02052017204005.pdf). Acesso em: 30 ago. 2021.

Suarez, C. e Gudiol, F. (2009). **Beta-lactam antibiotics. Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica**, 27, pp. 116-129

Organização Mundial da Saúde. **Global antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report**. França, 2016-2017.

Anvisa. **Investigação e controle de bactérias multirresistentes**. Brasil, 2007.

CARVALHO, Irineide Teixeira de. **Microbiologia Básica**. 2010. Disponível em: [http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia\\_Basica.pdf](http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia_Basica.pdf). Acesso em: 30 ago. 2021.

O'NEILL, J. **Antimicrobials in Agriculture and the Environment: Reducing Unnecessary Use and Waste. The Review on Antimicrobial Resistance**. 2015. Disponível em: Acesso em 21 ago. 2021

ANVISA (org.). **Boletim Segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde nº28**. 2021. Disponível em:

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiZDlwZjYyMzUtMmYxZS00MTRjLTk0NWMTZWE2ZDUzOGRjOTVjliwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MG M3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9>. Acesso em: 12 jun. 2023.













16Clique aqui para inserir texto.

17Clique aqui para inserir texto.

18Clique aqui para inserir texto.

19Clique aqui para inserir texto.