

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THIELY RODRIGUES OTT

ORG.



Pantanal Editora

2021

THIELY RODRIGUES OTT

Organizador(es)

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Pantanal Editora

2021

Copyright[©] Pantanal Editora
Copyright do Texto[©] 2021 Os Autores
Copyright da Edição[©] 2021 Pantanal Editora
Editor Chefe: Prof. Dr. Alan Mario Zuffo
Editores Executivos: Prof. Dr. Jorge González Aguilera
Prof. Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diagramação: A editora

Edição de Arte: A editora. Imagens de capa e contra-capa: Canva.com

Revisão: O(s) autor(es), organizador(es) e a editora

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – OAB/PB
- Profa. Msc. Adriana Flávia Neu – Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
- Profa. Dra. Albys Ferrer Dubois – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – IF SUDESTE MG
- Profa. Msc. Aris Verdecia Peña – Facultad de Medicina (Cuba)
- Profa. Arisleidis Chapman Verdecia – ISCM (Cuba)
- Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo - UEA
- Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu – UNEMAT
- Prof. Dr. Carlos Nick – UFV
- Prof. Dr. Claudio Silveira Maia – AJES
- Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – UFGD
- Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva – UEMS
- Profa. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos – IFPA
- Prof. Msc. David Chacon Alvarez – UNICENTRO
- Prof. Dr. Denis Silva Nogueira – IFMT
- Profa. Dra. Denise Silva Nogueira – UFMG
- Profa. Dra. Dennyura Oliveira Galvão – URCA
- Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves – ISEPAM-FAETEC
- Prof. Me. Ernane Rosa Martins – IFG
- Prof. Dr. Fábio Steiner – UEMS
- Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez (Colômbia)
- Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles – UNAM (Peru)
- Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira – IFRR
- Prof. Msc. Javier Revilla Armesto – UCG (México)
- Prof. Msc. João Camilo Sevilla – Mun. Rio de Janeiro
- Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales – UNMSM (Peru)
- Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski – UFMT
- Prof. Msc. Lucas R. Oliveira – Mun. de Chap. do Sul
- Prof. Dr. Leandris Argente-Martínez – Tec-NM (México)
- Profa. Msc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan – Consultório em Santa Maria
- Prof. Msc. Marcos Pisarski Júnior – UEG
- Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla – UNAM (Peru)
- Profa. Msc. Mary Jose Almeida Pereira – SEDUC/PA
- Profa. Msc. Nila Luciana Vilhena Madureira – IFPA
- Profa. Dra. Patrícia Maurer
- Profa. Msc. Queila Pahim da Silva – IFB
- Prof. Dr. Rafael Chapman Auty – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke – UFMS
- Prof. Dr. Raphael Reis da Silva – UFPI

- Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo – UEMA
- Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca – UFPI
- Prof. Msc. Wesclen Vilar Nogueira – FURG
- Profa. Dra. Yilan Fung Boix – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – UFT

Conselho Técnico Científico

- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Esp. Tayronne de Almeida Rodrigues
- Esp. Camila Alves Pereira
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	Ciências biológicas [livro eletrônico] / Organizadora Thiely Rodrigues Ott. – Nova Xavantina, MT: Pantanal Editora, 2021. 99p.
	Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-88319-46-8 DOI https://doi.org/10.46420/9786588319468
	1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Ott, Thiely Rodrigues. CDD 570
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo dos e-books e capítulos, seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva do(s) autor (es) e não representam necessariamente a opinião da Pantanal Editora. Os e-books e/ou capítulos foram previamente submetidos à avaliação pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação. O download e o compartilhamento das obras são permitidos desde que sejam citadas devidamente, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais, exceto se houver autorização por escrito dos autores de cada capítulo ou e-book com a anuência dos editores da Pantanal Editora.



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000. Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
 Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

APRESENTAÇÃO

Nesta obra, visamos por demonstrar alguns temas que são importantes dentro da área da saúde, em alguns capítulos discutimos pesquisas que tratam de fungos, bactérias, vírus e doenças raras com o intuito de colaborar com a disseminação de informação na área das ciências médicas, utilizando artigos atuais e de grande relevância acadêmica.

Os temas retratam questões sobre a resistência bacteriana, um perigo que assombra a comunidade acadêmica e hospitalar de um modo geral, ainda tratamos sobre a presença de fungos patogênicos aos seres humanos, que podem servir de “calo de tróia” para outros microrganismos e contemplamos através de uma revisão da literatura a importância da biossegurança em biotérios.

No Brasil, temos problemas de saúde pública relacionado as mais diversas patologias, enfrentamos doenças infecto contagiosas, doenças crônicas e também não podemos esquecer das doenças raras de causa genética, por este motivo neste exemplar você irá encontrar um rico capítulo sobre doenças metabólicas oriundas de problemas genéticos.

Em síntese, esperamos que este ebook possa promover a disseminação de conhecimentos, estimular aos discentes e pesquisadores a lerem a obra e que ele possa contribuir com a sociedade num geral.

Cordialmente,

A organizadora.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	4
CAPÍTULO I	7
BIOSSEGURANÇA EM BIOTÉRIOS.....	7
INTRODUÇÃO	7
METODOLOGIA.....	8
RESULTADOS.....	9
DISCUSSÃO	13
CONCLUSÃO E CONTRIBUIÇÕES.....	17
REFERÊNCIAS	18
CAPÍTULO II	20
DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL DE ACANTHAMOEBA CASTELLANII	20
INTRODUÇÃO	20
METODOLOGIA.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO	34
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO III	39
EIM - ACIDEMIAS ORGÂNICAS: ACIDEMIA METILMALÔNICA (AMM)	39
INTRODUÇÃO	39
METODOLOGIA.....	40
RESULTADOS.....	40
DISCUSSÃO	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO IV	57
INFECÇÕES HOSPITALARES CORRELACIONADAS AS PRINCIPAIS BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
INTRODUÇÃO	57
REVISÃO DA LITERATURA.....	58
METODOLOGIA DE TRABALHO	78

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
CONCLUSÃO.....	88
REFERÊNCIAS	89
ÍNDICE REMISSIVO	97
SOBRE OS AUTORES.....	98

CAPÍTULO I

BIOSSEGURANÇA EM BIOTÉRIOS

Camila Corrêa Fernandes

INTRODUÇÃO

A biossegurança pode ser definida como um conjunto de normas, procedimentos e especificações que devem ser cumpridas a fim de limitar, prevenir ou até eliminar possíveis riscos existentes nos locais de trabalho, com o objetivo de não prejudicar a saúde dos profissionais, dos animais e do meio ambiente, e os resultados de estudos científicos (Souza, 2015).

Os biotérios são laboratórios onde alguns animais são mantidos para serem usados em estudos e pesquisas científicas, esses ambientes são divididos em macro e micro ambientes, onde, macro ambiente significa a área externa das gaiolas e micro ambiente significa o ambiente interno destas (Barbosa, 2017). A biossegurança dentro dos biotérios deve ser seguida plenamente como disposto na norma regulamentadora-NR32, onde há a especificação de medidas de segurança e saúde dos profissionais e de programas a serem feitos para controle e minimização de riscos, como o programa de prevenção de riscos ambientais- PPRA, e a resolução normativa número- RN15, que especifica a organização e estrutura de biotérios (BRASIL, 2005; CONCEA, 2013).

Dentro dos biotérios podem existir diversos riscos ocupacionais (riscos nos quais os trabalhadores estão expostos regularmente), já que riscos podem surgir de acordo com a saúde dos animais, ou acidentes podem ocorrer quando houver manuseio destes (Souza, 2015). Os riscos são as circunstâncias que podem gerar ou aumentar a possibilidade de ocorrências prejudiciais (BRASIL, 2001).

Como previsto na norma regulamentadora-NR9, os riscos ocupacionais são divididos em cinco grupos: Grupo 1) riscos físicos, Grupo 2) riscos químicos, Grupo 3) riscos biológicos, Grupo 4) riscos ergonômicos e grupo 5) riscos de acidentes (BRASIL, 1994). Para análise destes riscos, consideram-se os procedimentos a serem realizados, a espécie animal e o tempo em que o profissional será exposto aos possíveis riscos provenientes das atividades exercidas. As boas práticas de laboratório (BPL) também devem ser desenvolvidas, elas determinam ações e orientações para o ambiente laboratorial ser mantido seguro e organizado (BRASIL, 2010; Silva, 2018).

Essas especificações direcionam como o ambiente deve estar preparado para manter os animais de forma segura e que não comprometa a saúde dos mesmos, a saúde dos funcionários e os resultados de estudos e procedimentos (BRASIL, 2013; Souza, 2015).

A biossegurança é importante para assegurar a saúde e o bem-estar dos profissionais, do meio ambiente, dos animais que estão envolvidos em estudos científicos e em testes e procedimentos realizados dentro do laboratório de pesquisa.

Nos locais onde se trabalha com animais, os profissionais estão expostos a mais riscos provenientes desse contato, por isso, fazem-se necessárias medidas para proteção destes animais e de todos que estão próximos a eles (Silva, 2018).

Os fatores externos, o ambiente, a forma na qual os animais são mantidos e a má estrutura do biotério pode influenciar de forma significativa nos experimentos, comprometendo os resultados e podendo gerar riscos de transmissão de possíveis doenças ao homem, ou, do homem ao animal (Souza, 2015). Por conseguinte, justifica-se a importância de revisões e atualizações na área para que todos os profissionais possam agir seguindo as condutas pertinentes ao trabalho em biotérios.

O objetivo deste trabalho consiste em apresentar a importância da biossegurança e como realizá-la dentro de biotérios, reunindo medidas e padrões de biossegurança utilizados pelos principais centros de pesquisa do país, de modo que auxilie profissionais de saúde que trabalhem neste ambiente.

METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no período de Abril a Julho de 2020, para busca das referências bibliográficas utilizou-se as seguintes combinações de descritores em português e inglês: biossegurança (biosafety), biotério (biotarium), riscos (risks), saúde (health) e laboratórios (laboratories and laboratory).

Após a elaboração da estratégia de pesquisa com os descritores, foram estipulados para busca os seguintes bancos de dados, Google Acadêmico, Scielo e *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), além de artigos científicos foram pesquisados capítulos de livros que contivessem os descritores e assuntos pertinentes a pesquisa.

Para condução do estudo foram utilizados guias elaborados pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP (2013).

Ainda foram consultadas as normas regulamentadoras NR-07 que trata do programa de controle médico de saúde ocupacional (PCMSO), NR-09 que dispõem sobre a avaliação e controle das exposições ocupacionais a agentes físicos, químicos e biológicos e NR-32 que discorre sobre a segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde, estando disponíveis através do site: <https://enit.trabalho.gov.br/>.

RESULTADOS

Experimentação Animal e Pesquisa Humana

A utilização de animais em pesquisas científicas é de grande importância para a medicina, visto que graças a testes em animais, é possível a produção de medicamentos e vacinas. Isso ocorre porque existem algumas semelhanças genéticas entre os seres humanos e os animais de laboratório, principalmente entre os ratos e camundongos, onde, respectivamente, 80% e 90% possuem genes homólogos aos humanos.

O uso de animais na experimentação científica é algo que ocorre desde a antiguidade. Os animais eram usados para experimentação de medicamentos e para realização de ensaios de procedimentos médicos. Para os cientistas da época, os animais eram incapazes de sentir dor. Conforme o campo da ciência foi evoluindo, entendeu-se que os animais também são sensíveis a dor, assim como os seres humanos, tornando-se exigência o uso de medidas que diminuam qualquer dor ou desconforto ao animal. Existem diversas discussões acerca da vivisseção de animais (que é a utilização de um animal vivo para estudos científicos) devido às situações nas quais eles são obrigados a serem submetidos: a dor, o sofrimento e a morte.

Por isso cada vez mais tem se buscado métodos alternativos à experimentação animal, o uso de testes *in vitro* é um método bastante empregado, por exemplo, ele consiste na produção de células ou tecidos em meios de cultura, isso diminui o uso de animais e gera resultados mais satisfatórios.

A realidade de grande parte das universidades e centros de pesquisa demonstra que mudar a experimentação animal para métodos alternativos é difícil devido à estrutura e insumos. Porém, a ciência está em constante evolução, com o tempo todos conseguirão se adaptar a novas práticas, podendo diminuir a realização de vivisseção de animais ou até mesmo extinguir essa prática (Neves et al., 2013; Souza, 2015; Chaplinski, 2016; Disner, 2019).

Regularização do uso de animais no Brasil

No Brasil, a primeira lei voltada para uso de animais em centros de pesquisa, foi publicada em 1979. A lei 6.638 determinou normas para dissecação de animais vivos, os biotérios e os outros centros de experiência deveriam ser cadastrados, porém, infelizmente essa regulamentação não ocorreu.

A CRFFB (Constituição Federal da República Federativa do Brasil) de 1988, diz que é fundamental a dignidade humana, tendo direito a um meio ambiente ecologicamente equilibrado e pra isso, o governo deve respaldar a fauna e a flora, proibindo qualquer situação que possa submeter os animais a crueldade ou que possa extinguir qualquer espécie.

Dez anos após essa lei, foi publicada uma lei de crime ambiental, a lei 9.605/98 onde é considerado crime, levando a pena, se um animal for capturado ou morto de forma cruel, mesmo sendo para fins educativos, quando existirem subsídios alternativos. A lei que regulamenta o uso de animais para fins científicos e de estudo foi sancionada em 2008, a lei Arouca 11.794/2008. A partir disso, foram criadas entidades que prescrevem como deve ser realizado o uso de animais de forma correta, sem que aja abuso dos homens sobre os animais, sendo elas: Comissões de Éticas em Uso Animal (CEUAS), Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e a Sistema de Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais (CIUCA) (Neves et al., 2013).

Além de trabalhar de forma ética e respeitosa com os animais, é necessária uma organização física adequada para o local, então, os biotérios devem se organizar de acordo com as normas vigentes (Moroni; Loebel, 2017; Mota, 2018).

O biotério pode ser definido como uma instalação física, onde são mantidos e reproduzidos alguns animais para uso na experimentação científica. Historicamente, essas instalações obtiveram um início de forma irregular, sem normas de biossegurança e cuidados éticos para com os animais, o que gerava risco a saúde dos funcionários e sofrimento aos animais estudados. Aos poucos, houve mudanças e as estruturas foram organizadas de maneira que todos presentes no local, inclusive o meio ambiente, fossem preservados (Gonçalves et al., 2016; Andrade, 2002).

Estrutura física de Biotérios

A estrutura dos ambientes onde os animais são mantidos deve ser organizada de maneira que não haja estresse para os mesmos, fatores externos, como por exemplo, a temperatura do ambiente e a luminosidade, podem influenciar diretamente na saúde e no bem-estar desses animais. Essa influência pode alterar os resultados de pesquisas que usem esses animais e até mesmo, causar riscos a saúde do profissional que está em contato diariamente com eles. Os animais destinados a estudos precisam ser considerados potencialmente contaminados com patógenos, pois alguns podem não ter sintomas de doenças, gerando risco de infecção e acidentes para os profissionais.

Tabela 1. Principais animais utilizados em laboratório; retirado de Neves et al (2013).

PRINCIPAIS ANIMAIS UTILIZADOS BIOTÉRIOS	
CAMUNDONGOS	<i>Mus musculus</i>
RATOS	<i>Rattus norvegicus</i>
COBAIAS	<i>Cavia porcellus</i>
HAMSTERS	<i>Mesocricetus auratus</i>
LAGOMORFOS (COELHOS)	<i>Oryctolagus cuniculus</i>

Os biotérios são os espaços físicos onde os animais são mantidos para experimentação científica e foram criados para facilitar o acesso e a reprodução desses animais de forma ética e segura. Sendo assim, é onde há suporte para o estudo científico em universidades e centros de pesquisa. A localização do biotério também é importante e deve considerar uma região onde há baixo fluxo de veículos e pessoas. Dentro dos biotérios, deve haver separação de todos os ambientes existentes e um ambiente separado e definido para cada função. Todas as normas estão descritas detalhadamente na Resolução Normativa N15, de dezembro de 2013 (Silva et al., 2012; Gonçalves et al., 2016; Andrade et al., 2018).

Dentro dos biotérios há a divisão entre micro e macro ambientes. No microambiente, os animais são mantidos dentro das gaiolas. Esse ambiente deve ser conservado de modo que a temperatura, a umidade, a alimentação e a água e a cama (material usado no fundo das gaiolas com objetivo de aquecer os animais, conter urina e servir de ninho para as fêmeas) sejam adequados para espécie residente ali.

Os animais de laboratório necessitam do odor para reconhecimento do local e dos outros animais, porém, deve ser removido de forma que não afete o bem-estar deles. Esse odor é retirado através de exaustores e ventilação e da higienização dos equipamentos.

O macro ambiente refere-se à área externa as gaiolas, onde toda iluminação, umidade ou temperatura e qualquer agente externo influencia diretamente no metabolismo dos animais, por isso a temperatura deve ser em torno de 22 graus, que é o aconselhável para maior parte dos roedores e tratando-se da umidade, deve haver um sistema que retire todo o excesso de água produzido nesse local de acordo com o necessário para cada espécie, assim como a luminosidade deve ser de acordo com as espécies presentes. Já no caso de roedores, que possuem hábitos noturnos, é necessário que haja um período específico de tempo de luz para os mesmos, sendo indicada a luz fria, pois essa é menos irritante para eles.

A ventilação do ar deve permitir trocas de ar frequentes, isso faz com que a temperatura e a umidade sejam controladas e os componentes químicos sejam diluídos e eliminados. Os ruídos ou outros sons ambientes também devem ser controlados, pois causam estresse aos animais. Toda manutenção desses ambientes irá interferir diretamente na vida dos animais, podendo deixá-los saudáveis ou causando algum dano a eles (Barbosa, 2017).



Figura 1. Imagem ilustrativa da estrutura do Biotério.

Biossegurança em Biotérios

Dentro dos biotérios, os profissionais estão expostos a diversos riscos, em sua maioria são riscos biológicos, mas também há a presença de riscos físicos, químicos, organizacionais, ergonômicos e de acidentes, oriundos do manuseio de animais e para minimizar esses riscos e evitar acidentes, todos os funcionários devem estar familiarizados com as normas e legislações, receberem treinamentos, fazerem uso de equipamentos de proteção individual e possuírem conhecimento científico referente às funções que realizarão, além de haver uma boa administração de biossegurança, para um funcionamento seguro e saudável do biotério.

Outros fatores importantes na biossegurança são os equipamentos de proteção individual e coletiva. Os equipamentos de proteção individual (EPI's) são reutilizáveis ou não, e devem ser disponibilizados para todos os funcionários, conforme o tipo de atividade a ser realizada. Em sua maioria, para trabalhos em laboratório, são utilizadas luvas, jaleco ou avental, óculos de proteção e máscaras. Os equipamentos de proteção coletiva (EPC's) protegem os profissionais como um todo. Alguns dos grandes exemplos disso são a existência de extintores de incêndio dentro das localidades, a caixa de perforucortantes e as cabines de segurança biológica. Os profissionais devem possuir treinamento e conhecimento quanto ao uso dos EPI's e EPC's e necessitam ter noções de primeiros socorros.

De acordo com o CONCEA (2013), a biossegurança nos biotérios deve ser definida conforme os exatos procedimentos que serão realizados nesse local em específico levando em conta a estrutura do espaço, a quantidade de animais que serão mantidos ali e todas as salas devem ser delimitadas para cada função específica (Souza et al., 2017; Lima et al., 2017; Mota, 2018; Carpenter, 2018).

Níveis de biossegurança em Biotérios

O nível de biossegurança de determinadas instalações é baseada no tipo de experimento, classificação de risco e o procedimento que será realizado ali naquele local, a partir disso serão definidos os procedimentos de biossegurança a serem realizados, bem como o tipo de proteção específica para aquela instalação. Nos biotérios voltados para a experimentação, é aconselhável que sua localização seja próxima aos laboratórios de pesquisa e é importante que haja barreiras de contenção, visando proteger a saúde do profissional e do meio ambiente. Já nos biotérios voltados para a criação, é indicado que estejam localizados de forma afastada dos centros urbanos, mantendo os animais isolados para não serem contaminados por nenhum patógeno.

As barreiras de contenção são muito importantes nos biotérios para preservar a saúde e o bem estar, as barreiras primárias são voltadas para a proteção pessoal e incluem os equipamentos de proteção individual, as barreiras de contenção secundárias são estabelecidas na própria instalação do prédio, ou seja,

na sua produção. Também se relacionam com os equipamentos usados para manutenção do ar e limpeza dos objetos, assim, envolvendo os equipamentos de proteção coletiva.

Os biotérios devem funcionar somente com o controle de autoridades: O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis- IBAMA, recomenda o uso de boas práticas laboratoriais e o Conselho Nacional de Controle de experimentação Animal- CONCEA, regulamenta o uso correto de animais para experimentação. Deve haver manuais denominados de procedimentos operacionais padrão (POP) que estejam em dia com testes e que tenham aprovação de responsáveis técnicos. Para definir como deverá ser a biossegurança em biotérios, é importante levantar diversas questões durante a projeção do biotério, para que após a construção o mesmo esteja preparado para todo e qualquer trabalho a ser realizado no local.

Deve se considerar todos os riscos a saúde do profissional e do ambiente, o espaço para manter os animais e quais espécies animais serão utilizadas, é preciso definir a classe de risco, então, a partir daí será definido o nível de biossegurança e os EPI's e EPC's que serão necessários para um bom funcionamento do biotério (Chaplinski, 2016; Carpenter, 2018; Silva, 2018; Andrade et al, 2018).

Tabela 2. Níveis de biossegurança (NBA); retirado de Andrade et al (2018).

NÍVEIS DE BIOSSEGURANÇA (NB)	
Nível de Biossegurança 1	Laboratórios de ensino básico que não exigem cuidados especiais e estão em contato somente com agentes biológicos de classe de risco 1.
Nível de Biossegurança 2	Laboratórios onde há a manipulação de animais contaminados com microrganismos de classe 2, deve haver estruturação física para realização das atividades.
Nível de Biossegurança 3	Laboratórios que devem ter uma estrutura física com barreiras, e os funcionários devem estar mais bem preparados para realização de qualquer atividade.
Nível de Biossegurança 4	Laboratórios de experimentação com controle máximo, para realização de atividades, deve haver liberação de profissionais autorizados.

DISCUSSÃO

Com base nas informações adquiridas através da revisão de bibliografia, a biossegurança em biotérios apresenta normas e procedimentos que unidos preservam a saúde dos profissionais envolvidos. Cada medida direciona o caminho a se seguir para prevenção de riscos e acidentes, gerando bons resultados para as pesquisas científicas, uma manutenção ética dos animais e segurança nas práticas laboratoriais.

Nascimento e Neves (2009), Souza (2015) e Mota (2018) mencionam sobre o histórico do uso de animais em laboratório, afirmando que há séculos atrás já realizavam procedimentos de testes em animais, para se conhecer a fisiologia e produzirem as primeiras vacinas, mas, infelizmente, não se havia cuidado com eles, os animais eram considerados seres sem alma e por isso os cientistas da época, utilizavam esse animais sem se preocuparem quanto ao seu sofrimento e como a utilização desenfreada deles poderia afetar o meio ambiente, o que foi mudado com o passar dos anos e avanço da ciência.

Em concordância com Neves et al (2013), a “ciência em animais de laboratório” como passou a ser chamada, trouxe mudanças em padrões usados anteriormente, visando o bem estar animal, onde é obrigatória a ética em relação aos procedimentos realizados com animais e é exigida a minimização ou extinção de qualquer sofrimento do animal. Após essas mudança e evoluções os biotérios passaram a serem os locais onde existem altos padrões de qualidade e cumprem exigências acerca do conforto animal. Com isso, busca-se cada vez mais, alternativas para a experimentação animal, através de desenvolvimento de novos recursos.

Magalhães (2019) cita alguns exemplos de alternativas a vivisseção animal, sendo eles a utilização de meios baseados em organismos *in vitro* (onde se utiliza células animais, vegetais, micro-organismos e tecidos solados). Dependendo do estudo, também há a opção de utilizar espécies vegetais, estudos não invasivos em voluntários entre outros.

Uma matéria publicada no site do Wyss Institute de Harvard fala sobre chips de órgãos que imitam as células e tecidos humanos, sendo possível usar esses chips para tratamento de doenças e para produção de medicamentos, descartando assim, os testes em animais. Cientistas de Harvard, mais precisamente do instituto Wyss, utilizaram microchips de computador e os adaptaram, criando dispositivos de cultura microfluídica, o nome dado a esses dispositivos foi: Organs-on-Chips. Esses microchips podem imitar pulmões, rins, medula óssea e etc.

Segundo Souza (2015), o emprego de alternativas a experimentação animal é uma realidade existente em muitos países inclusive no Brasil, entretanto, a transição completa de animais para métodos alternativos de estudo é algo que emana cautela e preparação, pois deve haver reconhecimento e confirmação de sua eficácia, algo que leva um tempo.

De acordo com Mota (2018) a legislação acerca da regularização do uso de animais no Brasil, demorou um pouco para chegar, com sua lei surgindo apenas em 1979. Segundo Souza (2015) a lei nº 6.638 de 1979 determinava as primeiras normas a serem seguidas para a prática do uso e animais em ensino e pesquisa. Mota (2018) e Souza (2015) apontam que essa lei exigia que os biotérios e centros de pesquisa estivessem regulamentados, o que não ocorreu, fazendo com que a lei acabasse não sendo regulamentada, então não gerava penalização caso os procedimentos de ética com os animais não fossem respeitadas.

Andrade et al (2018) relatam que em 1991, foram criados os princípios éticos na Experimentação Animal, através da atual Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA) e filiada ao *International Council for Laboratory Animal Science* (ICLAS), hoje composta por 12 artigos, que auxiliam nas práticas de experimentação animal de forma segura e confortável e em 1998 foi criada a lei de crimes ambientais (Lei nº 9.605), ela adotou a prática dos 3R's.

Neves et al (2013) mencionam o quanto a regulamentação para experimentação animal é recente no Brasil, a lei AROUCA N° 11.794 que regulamenta a criação e o uso de animais para ensino e pesquisa no nosso país.

A partir dessa lei passou-se a ser exigido que todos os centros de pesquisa e universidades possuam pelo menos uma Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e toda pesquisa e estudo que envolver experimentação animal, deve ser avaliada por ela, de acordo com os princípios éticos elaborados pelo CONCEA (Conselho Nacional de Experimentação Animal). Moroni e Loebel (2017) dizem ainda que a lei 11.794 foi regulamentada pelo decreto 8.699 de novembro de 2010 do artigo 255 da Constituição Federal Brasileira.

E, por fim, Silva (2018) cita as resoluções normativas indicadas para experimentação animal. Essas resoluções definem como devem ser realizados os procedimentos que envolvam uso de animais para experimentação, os conselhos de ética, as estruturas que os locais de experimentação animal devem possuir e etc.

Com relação à estrutura física dos biotérios, Mota (2018) comenta que a legislação de cada município irá definir a permissão, ou não, de um biotério. Para abertura de um biotério, deve haver uma observação acerca do zoneamento urbano, ou seja, o município deve autorizar de acordo com normas de preservação ambiental. Tem que ser considerado onde será o espaço e como ele refletirá no aspecto sanitário daquela localidade. O CONCEA ainda define que esses locais devem ser preparados de acordo com a espécie animal que será criada e/ou mantida naquele ambiente. Os autores Moroni e Loebel (2017), definem os biotérios como instalações onde animais usados para experimentação científica são mantidos e reproduzidos. Esses autores mencionam também que para a gestão correta de um biotério, devem-se considerar todos os princípios éticos vigentes em relação a animais de laboratório, e a partir disso, a estrutura física será organizada.

De acordo com Silva (2018) e Andrade et al (2018), os ambientes onde são mantidos os animais para experimentação científica, são chamados de instalações animais. Esses locais devem ser organizados de maneira que atenda a todas as espécies a serem estudadas, mantendo-as bem e com atendimento veterinário, que evite todo e qualquer estresse ou desconforto para o animal, de forma que os princípios éticos de experimentação animal sejam seguidos. Silva (2018) afirma ainda que as instalações animais devem ser organizadas em concordância com as atividades a serem realizadas e ainda devem possuir um

tratamento adequado para os resíduos. Andrade et al (2018) argumenta que o tipo de estruturação de um biotério, varia de acordo com a sua finalidade, e, para elaboração deste, deve ser levado em consideração para a escolha do local uma área pouco movimentada, com poucos carros e que seja de fácil acesso para a transição de insumos, equipamentos e até mesmo transporte dos animais. Toda a instalação deve ser organizada de acordo com as especificações do CONCEA.

De acordo com Barbosa (2017) e Silva et al (2012), os Macroambientes e Microambientes estão ligados diretamente aos resultados de pesquisa, pois, a manutenção desses espaços irá conferir o bem-estar dos animais, influenciando diretamente nos resultados de estudos científicos.

Segundo Silva et al (2012) em relação a biossegurança em biotérios, a existência de animais no ambiente fechado pode ampliar prováveis riscos à saúde do trabalhador. Desde as infecções adquiridas através de acidentes no momento do manuseio, como mordidas e/ou arranhões à contaminação com possíveis patógenos presentes em algum dos animais.

A biossegurança, de acordo com Souza (2015), visa proteger e evitar agravos à saúde do profissional, ao meio ambiente e aos animais, para ele, a biossegurança relaciona-se com danos à saúde do trabalhador, advindos de riscos químicos, físicos, ergonômicos e de acidentes.

De acordo com Silva (2018) a biossegurança em um biotério se torna bastante ampla, devido aos profissionais estarem em contato com possíveis agentes patogênicos na maior parte do tempo, então, para minimização de riscos e acidentes, ela se relaciona com as medidas preventivas e de contenção (as barreiras de contenção são formas de se evitar que a contaminação e patógenos se espalhem pelo laboratório). Silva et al (2012) e Chaplinski (2016) apontam grande preocupação com a saúde do profissional de biotério, os autores justificam que o trabalho em contato com animais pode ocasionar lesões, como citado anteriormente, e alergias.

De acordo com Nascimento e Neves (2009) para assegurar a saúde dos profissionais de biotério, em todas as atividades devem ser seguidos procedimentos operacionais padrão (POPs), boas práticas em laboratório (BPL), os animais devem ser padronizados e as normas do CNTbio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) devem ser aplicadas.

De acordo com Andrade et al (2018) a biossegurança é demonstrada através de medidas de contenção de riscos, equipamentos de proteção e planejamento estrutural do biotério. Com base nessa afirmação, Lima et al (2017), exemplifica que os equipamentos de proteção individual e coletivos são indispensáveis para assegurar a saúde dos profissionais.

Os EPI's são usados durante as atividades do profissional, visando protegê-lo de possíveis acidentes e riscos, os EPC's protegem o ambiente, os profissionais ao seu redor e até mesmo as pesquisas realizadas. Silva (2018) especifica que para realização de práticas nos biotérios e definir quais são as classes de riscos, níveis de biossegurança e barreiras sanitárias, primeiramente se deve conhecer a instalação e

todos os processos que serão realizados, a partir disso, a biossegurança poderá ser executada e com ela, os equipamentos de segurança e procedimentos padrões poderão ser definidos.

De acordo com Souza (2015) para a realização de práticas em biotérios, deve haver classificação dos riscos e níveis de biossegurança de acordo com as atividades exercidas. Os níveis de biossegurança são baseados nos riscos ao indivíduo e a comunidade ao redor do laboratório, eles são definidos de acordo com as classificações de risco, essas, são divididas em quatro: na classe de risco um, estão os agentes que apresentam baixo risco, normalmente são aqueles patógenos que não causam doenças; na classe de risco dois, estão os agentes que apresentam risco moderado, os patógenos apresentam risco de infecção; na classe de risco três, estão os agentes que apresentam alto risco, os patógenos podem causar infecções graves; e por fim, a classe de risco quatro apresenta risco alto para todos, nele estão os patógenos de alta periculosidade.

Segundo Silva (2018), antes da determinação dos níveis de biossegurança e de biocontenção deve haver uma avaliação dos riscos, essa avaliação deve considerar a espécie animal, os possíveis riscos dos patógenos e as atividades a serem exercidas, para caracterização da patogenicidade dos agentes biológicos. É necessário ter conhecimento em relação à virulência, forma de contágio, tratamento e forma de eliminação do patógeno.

De acordo com Carpenter (2018) as barreiras de biocontenção são necessárias para conter agentes infecciosos, essa é uma maneira de denominar as medidas de biossegurança contra acidentes e infecções. Dentro dessa prerrogativa, além dos riscos pré-definidos, os animais potencialmente contaminados também se encontram dentro das medidas de biocontenção.

CONCLUSÃO E CONTRIBUIÇÕES

Em suma, podemos observar que para assegurar a saúde do profissional, o bem estar dos animais a serem utilizados nas pesquisas e para manter a preservação do meio ambiente, é imprescindível que as medidas de biossegurança sejam definidas e seguidas de acordo com as atividades de cada biotério, visto que cada estabelecimento possui uma finalidade distinta.

Se faz necessário que os profissionais estejam sempre atualizados em relação as normas de biossegurança, certamente é uma preocupação das instituições que os profissionais estejam seguros para exercerem suas atividades, buscando melhorias como a diminuição do uso de animais, intercalando as atividades com outras alternativas, mantendo o emprego dos funcionários. Portanto, com base nas atividades realizadas, as legislações e normas brasileiras baseadas para esta área, designarão quais serão as medidas de segurança cabíveis para assegurar a saúde do profissional, o respeito aos animais e a qualidade dos resultados de estudos.

REFERÊNCIAS

- Andrade JFA et al (2018). Aspectos Relacionados a Qualidade Ambiental em Biotério: Revisão de Literatura. REBSCAL, 6(1): 9-15.
- BRASIL (2020). Escola Nacional De Inspeção do Trabalho. Secretaria do Trabalho, Ministério da Economia. Normas Regulamentadoras. Acesso em 29 de Set. 2020. Disponível em: <https://enit.trabalho.gov.br/portal/index.php/seguranca-e-saude-no-trabalho/sst-menu/sst-normatizacao/sst-nr-portugues?view=default>.
- Carpenter CB (2018). Safety considerations for working with animal models involving human health hazards. Animal Models And Experimental Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6388071>.
- Chaplinski N (2016). Animal biosafety. Ensuring National Biosecurity. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149525>.
- CONCEA (2015). Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Normativas do Concea Para Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. 2º edição, 7 de Dezembro de 2015.
- Disner GR (2019). Métodos alternativos à experimentação animal: aspectos éticos, históricos e legais no Brasil. Evidência, 19(2): 259-274.
- Gonçalves NMF et al (2016). Considerações gerais sobre a construção e manutenção de Biotério com animais de experimentação. Revista Jurídica Uniandrade, 24(1): 1285.
- Lima RJV et al (2017). Agentes biológicos e equipamentos de proteção individual e coletiva: conhecimento e utilização entre profissionais. Rev Pre Infec e Saúde, 3(1): 23-28.
- Magalhães LMG (2019). Ética, Saúde e Viviseção Animal: É Possível que os Experimentos Científicos com Animais, sejam, de fato, abolidos? 24. p. Unicesumar - Centro Universitário De Maringá, Maringá.
- Moroni FT, Loebel E (2017). Arranjos Organizacionais de Biotérios em Universidades Públicas Brasileiras. Revista Gestão Organizacional (RGO), 10(1): 84-105.
- Mota KAG (2018). Experimentação Animal no Brasil: Uma abordagem normativa acerca da criação, manutenção e pesquisa com animais. 141 f. Instituto de Pesquisa Energéticas e nucleares, São Paulo.
- Nascimento N, Neves SP (2009). Procedimentos de biossegurança. In: Lapchik VBV, Mattaraia VGM, KoGM. Cuidados e manejo de animais de laboratório. p.669-681. São Paulo: Atheneu.
- Neves SMP et al (2013). Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. 216 p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Instituto de Química, Universidade de São Paulo. São Paulo.

- Organs-On-Chips Humanos (2020). Wyss Institute, Harvard University. Acesso em 18 Ago 2020. Disponível em < <https://wyss.harvard.edu/technology/human-organs-on-chips/>>.
- Silva BEA et al (2012). Monitoramento dos Pontos Críticos Relativos à Biossegurança, Barreiras Sanitárias e Macroambiente do Biotério de Experimentação do Pavilhão Leônidas Deane -Ioc/Fiocruz. RESBCAL, 1(2): 195-200.
- Silva WMO (2018). Guia de Biossegurança em Instalação Animal (Biotério) para Utilização de Camundongos (*Mus musculus*) em Pesquisas Biomédicas. 165 f. Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos – FIOCRUZ, Rio de Janeiro.
- Souza GF (2015). Fatores de riscos ocupacionais e implicações à saúde do trabalhador em biotérios da Fiocruz – Rio de Janeiro/RJ. 131 f. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro.

CAPÍTULO II

DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL DE ACANTHAMOEBA CASTELLANII

Larissa Maria Batista de Jesus

INTRODUÇÃO

A ameba é um dos principais componentes dos eucariotos, abrangendo táxons de importância biomédica e evolutiva, mas sua diversidade genômica ainda não foi totalmente estudada e datada. A *Acanthamoeba castellanii* é o primeiro representante da espécie a ser isolado e classificado como amebas de vida livre (Clarke et al, 2013). Além da sua diversidade de espécies, as amebas são encontradas em diversos meios e superfícies, sendo elas aquáticas ou terrestres (Neves, 2005).

Nos meados do século XVIII foram descobertos e catalogados os primeiros indivíduos classificados como amebas e desde então elas têm sido o alvo de vários estudos ao redor do mundo, principalmente por suas espécies que causam patologias ao ser humano, o que proporciona uma vasta quantidade de estudos sobre as amebas e as suas subclassificações (Alves, 2001).

Ao passar dos anos, foram reveladas inúmeras espécies de protozoários que foram classificados como parasitas, com definição descrita pelo dicionário como “organismo que vive em outro organismo, dele obtendo alimento e, não raro, causando-lhe dano”, ou seja, aqueles que irão causar doenças na população humana, e os de vida livre, que até então não eram capazes de causar doenças ao ser humano. No entanto, obtiveram-se os primeiros casos de infecção por amebas de vida livre (AVL) em seres humanos no Brasil relatados em 1971 (Forn1da, 1971) e a primeira morte confirmada pela AVL em 1983 (Carvalho et al, 1983).

Quando olhamos para a etimologia da palavra oportunista obtemos o seu significado em imunologia, “capaz de infectar quando a resistência do hospedeiro se encontra diminuída (diz-se de microrganismo); oportunístico”.

Acanthamoebas spp são ameboides de vida livre que podem se tornar parasitas em humanos, decorrente da sua evolução e elas são classificadas como amebas parasitas facultativas (Neves, 2005), ou seja, podem estar presentes no meio externo, como exemplo no ar, na água ou até mesmo no solo e podem ser encontradas em estado de parasitose dentro de um ser vivo, como os seres humanos (Neves, 2005).

No decorrer do tempo, foram desenvolvidas algumas pesquisas sobre as doenças causadas por invertebrados, já que antes não se sabia da possibilidade desses seres causarem patogênias em humanos. E a partir dessas pesquisas, pode-se perceber a evolução das situações que levam os organismos a se modificarem para a sua sobrevivência. Essa evolução se dá pela modificação genética, podendo ser por um fator externo ou interno (Morales et al, 2015).

No Brasil, essas patologias oportunistas ganharam notoriedade pela falta de informações da maioria da população brasileira, despreparo dos agentes de saúde, pela sua forma evolutiva e pela capacidade de sobrevivência desses seres em diversos ambientes (Santos et al, 2018).

Durante muitos anos foi pensado que os seres vivos de vida livre eram capazes de viver em paralelo com os seres humanos, sem ter interferência entre as espécies. Ao longo de vários estudos, foi observado que alguns protozoários ameboides, que antes eram considerados de vida livre, são na verdade amebas parasitárias facultativas, ou seja, amebas oportunistas. Se tratando de amebas patogênicas aos seres humanos, se faz necessário uma revisão atualizada e detalhada sobre os aspectos clínicos e laboratoriais de diagnóstico de *A. castellanii*, para auxiliar os profissionais da área da saúde na identificação e conduta terapêutica da doença.

O diagnóstico precoce da doença por AVL é um dos mais importantes quando falamos de ceratite amebiana por *Acanthamoeba castellanii*, pois quanto maior for a demora no diagnóstico definitivo da doença, maior será o tempo para o tratamento e para o corpo voltar ao seu estado de homeostase. Assim o presente estudo será uma atualização bibliográfica sobre a importância do diagnóstico de *Acanthamoeba castellanii*.

METODOLOGIA

O presente estudo é uma revisão da literatura, onde foram pesquisados aspectos sobre a vida, sintomatologia e diagnóstico laboratorial da patologia proveniente de infecções por *A. castellanii*.

Foram utilizados artigos e livros, selecionados através de bancos de dados como: Scielo e Google Acadêmico, utilizando os idiomas português, inglês e espanhol, e sendo utilizadas como descritores para a busca as palavras: *Acanthamoebas spp*, *Acanthamoeba castellanii*, *ciclos biológicos de Acanthamoeba*, ceratite amebiana por *Acanthamoeba castellanii*, testes de diagnósticos, testes específicos para ceratite amebiana por *A. castellanii* formas de diagnóstico e tratamento para a ceratite.

O seu período de busca e desenvolvimento do estudo foi de junho de 2020 a outubro de 2020. A partir das variáveis selecionadas foram identificados quinze estudos, utilizados para elaboração desta revisão.

RESULTADOS

Acantamoeba spp.

As *Acantamoebas spp.* são amebas de vida livre, seres unicelulares anfitrião, caracterizados pela sua morfologia corporal e metabólica, que permite ao protozoário invadir e parasitar o seu hospedeiro, e podem ser encontradas em diversos habitats, são protozoários que assumem duas formas corporais, forma de cisto ou trofozoíto (Alves, 2001).

Por serem microrganismos de vida livre e sendo encontrados em diversas superfícies podemos considerar esses amebóides como seres vivos oportunistas, ou seja, além de estarem vivendo no ambiente ao nosso redor, ao entrarem em contato com o interior de um indivíduo encontrando um ambiente propício ao se desenvolverem eles acabam por se instalarem e se reproduzirem, causando patologias e em seu estágio mais avançado, provocando o óbito do seu hospedeiro (Siddqui, 2012).

Acanthamoeba castellanii é uma das várias espécies de amebas que fazem parte do grupo de patógenos dos seres humanos, podemos citar outras espécies como as *A. Naegleria*, *A. Balamubia* e *A. Sappina*. As *Acantamoebas* são o gênero causador de encefalite amebiana granulomatosa, lesões na pele e ceratite na região ocular. Acomete principalmente em indivíduos imunocomprometido (Ferreira et al, 2019).

Dentre as espécies de *Acantamoebas spp* que são associadas a infecções humanas temos as: *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. griffini*, *A. hatchetti*, *A. bealyi*, *A. lugdunensis*, *A. polyphaga*, *A. quina* e a *A. rhyssodes* (Santos et al, 2017).

Acanthamoeba castellanii

Sua primeira classificação foi datada no ano de 1930 descrito pelo patologista e bacteriologista Aldo Castellani, durante a observação de uma cultura de bactérias do gênero *Cryptococcus parvulus*, onde foi encontrada a então ameba, e sendo classificada como uma *Acanthamoeba*. Desde então, a classificação desses indivíduos está em constante revisão.

Foram encontrados na *A. castellanii* duas formas corporais, apresentadas na figura 1, o cisto que possui um tamanho de 10-25 μm e parede dupla (ectocisto e endocisto), que representa a forma de resistência a ambientes extremos, como a falta de alimento, diferenças de temperaturas e pH, dissecação, uso de desinfetantes, a ação de antibióticos, e pode sobreviver por vários anos em temperaturas abaixo de 20 $^{\circ}\text{C}$. Quando a *A. castellanii* se encontra em um ambiente favorável ela se transforma em trofozoítos e dá continuidade com o seu desenvolvimento e reprodução (Santos et al, 2018).

Os trofozoítos são a forma ativa e infectante da espécie, que mede entre 15-45 μm , apresenta projeções citoplasmáticas (acantopódios) na sua superfície que auxilia na locomoção, são protozoários mononucleados, representa a forma contrária do cisto e tem a função de desenvolvimento e reprodução

da espécie que ocorre por difusão binária. Sua alimentação se baseia na ingestão de partículas orgânicas ambientais e ceratócitos na córnea, pseudopodes de bactérias, algas e leveduras (Santos et al, 2018).

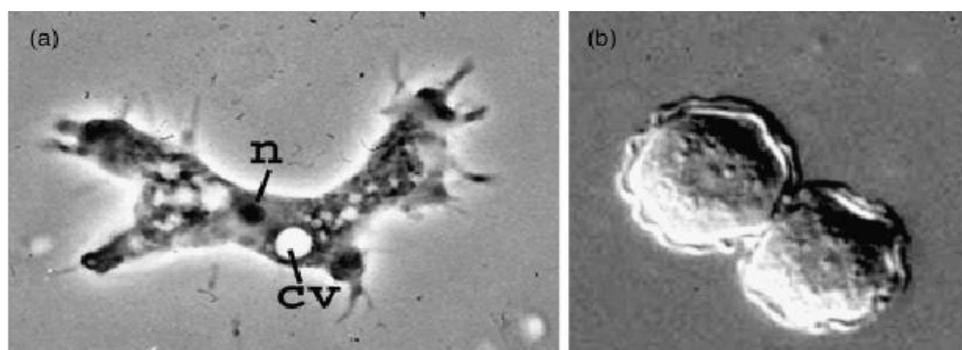


Figura 1. *Acanthamoeba castellanii*. Legenda. Trofozoíto (a) e cistos (b): (n), núcleo; (cv), vacúolo contrátil. Fonte: Visvesvara et al (2007).

Classificação taxonômica

Com relação à classificação taxonômica, percebemos que existem algumas características compartilhadas e algumas que são únicas que passam desde as primeiras espécies do grupo até os indivíduos atuais. Nessa classificação que engloba os protozoários podemos observar algumas características específicas como forma corporal, tipo de locomoção, entre outros (Merino et al, 2019)

Dessa forma, classificamos a taxonomia desse protozoário, principalmente como o resultado de observações corporais de seus indivíduos comparando com seus ancestrais. Logo, a classificação definitiva mostrada na tabela 1, a *A. castellanii* se apresenta:

Tabela 1. Classificação taxonômica da *A. castellanii*. Fonte: Merino et al, 2019.

Tabela taxonômica da <i>Acanthamoeba</i>	
Reino	Protozoa
Subreino	Sarcomastigota
Filo	Amoebozoa
Subfilo	Lobosea (LC): Amoebaea
Ordem	<i>Centramoebidae</i>
Família	<i>Acanthamoebidae</i>
Gênero	<i>Acanthamoeba</i>
Espécie	<i>Acanthamoeba castellanii</i>

Ciclo biológico da *A. castellanii*

O ciclo de vida da ameba possui a forma infectante e a forma de resistência, distribuídas pelos meios. Suas características morfológicas apresentam adaptações para o seu desenvolvimento e sua

multiplicação, que envolve mecanismo de metamorfose quando for propício para a *A. castellanii* (CDC, 2019).

Os trofozoítos, que definimos como forma ativa da AVL, em condições favoráveis de meio como fartura de nutrientes, disponibilidade hídrica, boas condições de osmolaridade, pH e temperatura faz com que essas amebas consigam se alimentar e multiplicar no ambiente onde estejam. No caso dos cistos, para eles é necessário um meio com condições desfavoráveis, ou seja, com a falta ou deficiência dos fatores citados acima faz com que os trofozoítos alterem sua forma corporal para a sua forma de resistência, podendo ser observado na Figura 2 (Kahan, 2003; Finco, 2012).

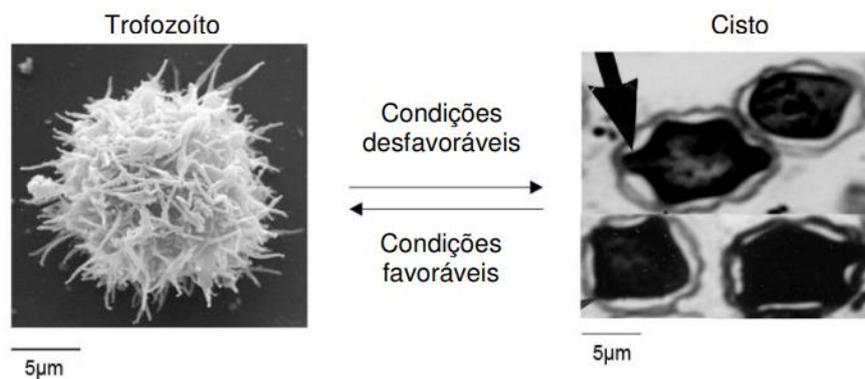


Figura 2. O ciclo de vida de *Acanthamoeba*. Legenda: Cistos e trofozoítos quando em condições adversas como a falta de alimentos, extremos de temperatura, pH e osmolaridade, ou dessecação, se diferenciam em cistos de parede dupla, como indicado pela seta. Barra = 5 micrômetros. Fonte: Kahan, 2003.

Infecções de hospedeiros humanos:

As infecções em seres humanos ocorrem de forma variada, como observamos na figura 3, onde a cada local que se aloja começa o seu desenvolvimento e multiplicação celular, e então, como consequência o hospedeiro desenvolverá uma doença, que foi provocada pela presença da AVL em seu corpo (CDC, 2019).

Segundo MORALES et al (2013 e 2015), a infecção por *Acanthamoeba* em humanos ocorre com sucesso por conta de três fatores principais: a adesão, a secreção de proteases extracelulares e a fagocitose e/ou a apoptose da célula hospedeira.

A adesão ocorre com a aproximação da ameba fazendo a comunicação com a membrana celular do hospedeiro, isso ocorre com a ação da manose na membrana dando a possibilidade de adesão a essas células. Essa comunicação permite que a AVL se aproxime da célula e se ligue a membrana do hospedeiro, fazendo assim, o primeiro passo para a infecção. Com a secreção de proteases, como a manose e a laminina, os trofozoítas conseguem degradar a membrana, camada por camada liberando essas proteases como um sinal químico para invadir a célula-alvo e poder se instalar no local, sendo essa a segunda etapa da infecção

ao hospedeiro. A última etapa seria a fagocitose e apoptose celular, que se dá pela morte celular, podendo gerar necrose na região, causada pela ameba.

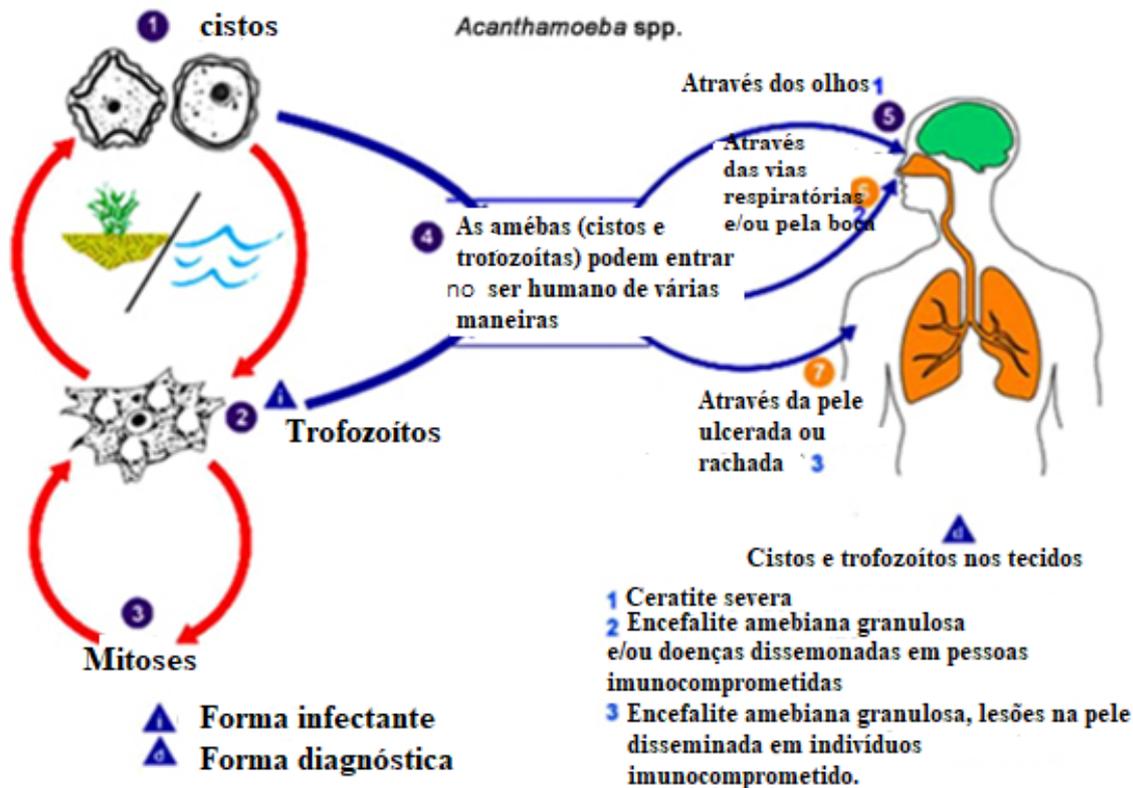


Figura 3. Infecção por *Acanthamoeba* em humanos. Legenda: (1) Cistos, (2) Trofozoítos, (3) Mitose, (4) Ingresso de cistos e trofozoítos nos humanos, (5) Através dos olhos, (6) Vias respiratórias (7) Lesões na pele. Fonte: Adaptado- Centers for disease control and prevention (CDC) - Imagem do ciclo de vida e informações cortesia de DPDx, 2019.

Patologia

Uma das patologias mais comuns relacionadas à *Acanthamoeba* em humanos é a ceratite amebiana, e as principais amebas que estão relacionadas com a doença são as *Acanthamoeba castellanii* e *Acanthamoeba polyphaga*.

A doença de ceratite amebiana por *A.castellanii* foi descrita pela primeira vez na Inglaterra em 1973, sendo seguidos posteriormente por casos pelos Estados Unidos da América (USA) e Brasil, e vem aumentando os números de casos da doença pela expansão do uso de lentes de contatos usados de forma incorreta pelos seus usuários.

A ceratite amebiana ocorre quando a ameba consegue ultrapassar a camada membranosa da córnea, Figura 4, provocando respostas inflamatórias severas e, em seu estágio final, causando a necrose tecidual local. A *A. castellanii* não possui a capacidade de invadir a córnea humana ou causar a patogenicidade se a mesma não estiver com trauma no tecido (Santos et al, 2018).

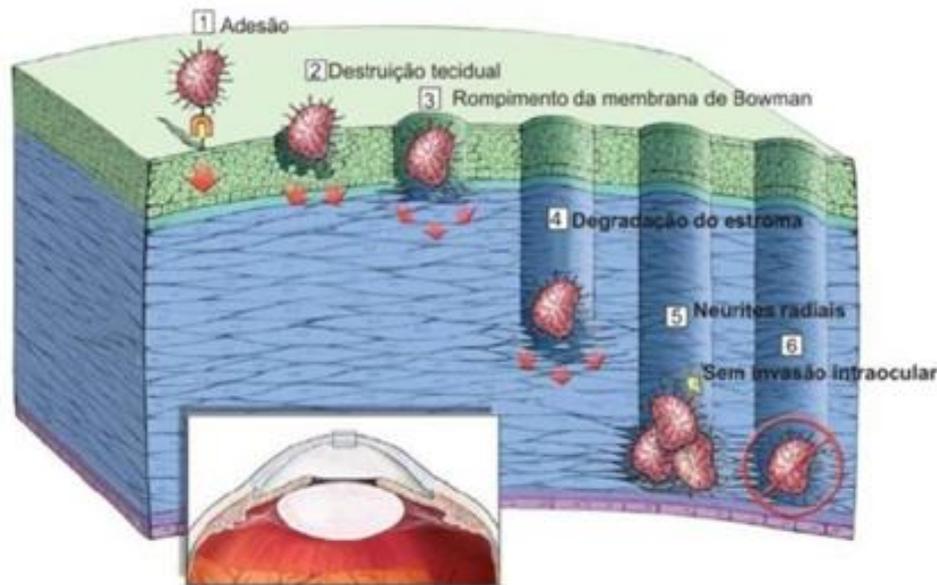


Figura 4. Patofisiologia da ceratite amebiana. Legenda: (1) Adesão celular; (2) Produção de proteinase; (3) Rompimento da membrana e invasão do estroma; (4) Produção de proteases; (5) Ataque aos nervos córneos; (6) Raramente evolui para endoftalmite. Fonte: Adaptado de Clarke e Niederkorn 2006.

Com uma sequência de fatores químicos e físicos a *Acanthamoeba spp* consegue romper a barreira epitelial, através de lesões, invadir o estroma e se fixar no tecido, induzir respostas inflamatórias com grande intensidade, com ações de proteínas como a manose e a laminina, se reproduzir por meio da mitose e, por fim, necrosar o estroma, como mostra a Figura 4.

Um dos fatores predisponentes da doença é o trauma ocular com contaminação por *Acanthamoeba castellanii*, e podendo ocorrer em diversos meios e lugares, como acidentes em ambientes onde existam cistos e/ou trofozoítos do protozoário.

Atualmente podemos dizer que o principal motivo de uma contaminação por ceratite amebiana por *A. castellanii* é o crescente uso de lente de contato (LC), sendo a mais frequente a de origem gelatinosa, mas não de forma exclusiva. O uso generalizado ou o seu manuseio de forma errada e a sua má armazenagem, vem gerando o aumento de casos de ceratite por *Acanthamoeba* nas lentes de uso diário e de uso prolongado, quando comparamos com as lentes de contato de caráter rígidas e as rígidas gás-permeáveis, pois elas podem causar o rompimento da membrana ocular facilitando o acesso da AVL a córnea (Santos, 2017).

Esse aumento, no princípio, foi associado ao uso de lentes de contatos com o contato com águas contaminadas de origem duvidosas, como lagoas, lagos e água de rede doméstica, mais tarde esse aumento foi associado ao uso de soluções caseiras diluídas para a sua assepsia e armazenamento (Contarine, 2018).

Diagnóstico

De acordo com o dicionário online de português (Dicio), o diagnóstico para a medicina é o procedimento através do qual o médico faz e analisa exames, durante a consulta e na leitura de resultados, buscando encontrar a razão e a natureza de uma anormalidade, de uma doença. Assim podemos afirmar que existe dois tipos de diagnóstico, o clínico e o laboratorial.

Diagnóstico clínico

O diagnóstico clínico de ceratite por *A. castellanii* ocorre quando o paciente ao comparecer a uma consulta com o médico relata os sintomas que está sentindo e/ou que foi observado em seu corpo durante um período de tempo. No caso de ceratite amebiana os sintomas mais frequentes relatados pelos pacientes estão relacionados com a fotofobia, lacrimejamento e dor na região ocular, não existem predominância de sexo ou idade, porém há mais casos entre jovens adultos, por sua maioria serem usuários de lentes de contato (Morales et al, 2015).

Na fase inicial da infecção, podem se apresentar como pequenas erosões epiteliais, edema microcístico, lesões na forma de um dendrito (pseudodendrito), ceratite ponteada ou defeito epitelial verdadeiro, um achado comum nessa fase da infecção é a limbite (Santos et al, 2018).

Na fase tardia, apresenta o defeito epitelial e a opacidade do estroma, Figura 5, os de pouca frequência são as neovascularizações e cataratas, quando apresentada no indivíduo é decorrente de fatores químicos ou agentes associados como bactérias e/ou o uso corticoides proveniente de inflamações ou medicamentos pré e/ou pós-cirúrgicos. Em casos mais raros temos a presença de hipópio, por toxicidade de medicamentos e em casos graves e mais avançados, o acometimento do segmento superior, pelo processo de inflamações com cistos e/ou trofozoítos (Santos et al, 2018).



Figura 5. Patofisiologia da ceratite amebiana. Legenda: Lesão característica em forma de halo. Fonte: Figura reproduzida de Srinivasan et al (2008).

Geralmente os usuários de lentes de contato demoram a procurar ajuda médica por não saberem dos riscos e/ou não terem conhecimento de patologias geradas pelas amebas e suas consequências para o ser humano, sendo facilmente confundidas com pequenas irritações na região ocular ocorridas ocasionalmente. Esse diagnóstico muitas das vezes consegue ser realizado por microscopia convocal *in vivo* (IVCM), pois os cistos são, geralmente, bem definidos e hiper-reflexivos (Morales et al, 2015).

Diagnóstico laboratorial

Os diagnósticos de *A. castellanii* são baseados em achado clínico laboratoriais, estudos imunológicos e diagnósticos pós-morte. A cada etapa de diagnóstico possui seu tempo e importância para a conclusão do diagnóstico final. Devem-se investigar os sinais nos casos de ulcerações da córnea infecciosas, ulcerações em pele e ulcerações no trato respiratório, em particular nos casos de usuários de lentes de contatos, pacientes imunocomprometidos e aqueles com sintomas semelhantes aos gerados pela AVL. Investigar se há sintomas preexistentes da ceratite por *Acanthamoeba*, pois os mesmos podem não ser relatados durante a consulta com o paciente e serem retratados em resultados de exames ou observados durante a consulta com o paciente (Morales et al, 2015).

Os microrganismos geralmente encontrados em biópsias são coletados e levados para serem realizados testes químicos e bioquímicos como coloração, culturas celulares, entre outros para o reconhecimento e diferenciação da AVL (Kahan, 2003). A detecção direta do agente causador em uma amostra de raspagem da córnea para cultura celular é a mais confiável para o diagnóstico laboratorial de ceratite amebiana, chegando a ser considerado como o padrão ouro de diagnóstico (Morales et al, 2015).

Hoje em dia temos o uso de testes e ensaios imunológicos com grandes avanços tecnológicos, baseados em *Reação em Cadeira da Polimerase em tempo real* (qPCR), o que são bem fundamentadas e podem aumentar a sensibilidade e a detecção desses testes. Esses se utilizam da parte bioquímica dessas AVL's para a diferenciação e diagnóstico da patologia. Em fases graves da infecção é possível o diagnóstico em microscopia direta sem o enriquecimento, pois há um aumento significativo de cistos e trofozoítos da ameba na amostra clínica (Morales et al, 2015; Szentmáry et al, 2018).

Os testes com a maior porcentagem de sensibilidade garantem um melhor diagnóstico, e com isso o tratamento também será bem eficaz e diminuto, entretanto, esses testes possuem limitações e é necessário serem feitos no momento certo e oportuno, temos teste que são eficazes para o diagnóstico precoce, como a microscopia confocal que conseguem identificar os cistos da ameba, por conta da sua alta definição e refração no teste, e o de diagnóstico de fase grave e avançados, que são utilizados os testes qPCR, que buscam bioquimicamente o material genético ou restos metabólicos dos cistos e trofozoítos, e temos também os testes de imunofluorescências direto, que buscam os anticorpos contra os protozoários, esses últimos sendo mais específicos e diretos.

Tabela 2. Diagnóstico in vitro reação em cadeia da polimerase (PCR), exame histopatológico ou cultura microbiológica em ceratite por *acanthamoeba*. Fonte: Szentmáry et al (2018).

Método de diagnóstico	Material analisado	Sensibilidade
Microscopia confocal in vivo	Exame corneano in vivo	Acima de 90% com examinador experiente
Reação em cadeia da polimerase (PCR)	Raspagem da córnea (epitélio) ou biópsia da córnea + estojo de lente de contato e solução de limpeza	84-100%
Cultura in vitro	Raspagem da córnea (epitélio) ou biópsia da córnea + estojo de lente de contato e solução de limpeza	0-77%
Análise histopatológica	Raspagem da córnea ou excisão ou tecido explantado de ceratoplastia	31-65%

Primeiramente é necessário reconhecer os sinais clínicos da *A. castellanii* e detectar em qual fase clínica que esteja para escolha apropriada de método de diagnóstico, como apresentada na tabela 2, para a AVL, em resumo, em mãos experientes e habilidosas, a microscopia confocal possui uma sensibilidade de 90%, porém só é possível para diagnosticar os cistos no estrato córneo. Já as qPCR's de raspagem tem uma variável de 84-100% de sensibilidade, entretanto podem dar um resultado falso positivo com o genoma não vivo da *Acanthamoeba*, que pode se encontrar no meio da amostra coletada. Por último temos os métodos de cultura in vitro e a análise histopatológica, que tem uma variável de até 77% de sensibilidade,

contudo esses podem ter uma duração de semanas para apresentar um resultado por precisarem colonizar uma placa de cultura (Szentmáry et al, 2018).

Testes laboratoriais específicos

A obtenção de materiais para a realização dos testes de laboratório é realizada através de fluorocromos, raspagem ou coleta tecidual da região em que se procura pelo protozoário de vida livre. Para ser um teste específico de *A. castellanii* é necessário o uso de testes laboratoriais específicos e com pesquisa direta para a *Acantamoeba castellanii*. Essas pesquisas devem ser solicitadas pelo médico responsável quando o mesmo possui um grau de suspeita ou gostaria de descartar hipóteses sobre o causador da doença ao paciente ser uma AVL.

Teste de coloração por H&E

O primeiro teste é a coloração por H&E (Hematoxilina e Eosina) tem como objetivo pesquisar e analisar a presença ou ausência de trofozoítas ou cistos da ameba presentes no tecido ou amostra retirada do paciente que foi coletado, preparado e colorido anteriormente, como na figura 6. É um método bastante comum para pesquisas de várias espécies causadoras de doenças, como bactérias, vírus e outros tipos de protozoários, ou seja, é um teste abrangente e pouco específico (Lopes, 2016).

Podem-se visualizar vários componentes celulares, nomeadamente o núcleo, citoplasma e tecido conjuntivo. A hematoxilina é responsável pela parte basal celular, ou seja, tingem os núcleos das células de azul, que são consideradas como a parte basófila, e a eosina é responsável pela parte ácida da célula, que tingem o tecido conjuntivo e o citoplasma de vermelho, também chamadas como a parte acidófila celular, podendo apresentar diferentes tons de rosa ou laranja (Lopes, 2016).

A vantagem desse teste ocorre pela rapidez e eficácia na coloração da amostra celular, permitindo uma boa visualização do corte histológico, entretanto sua desvantagem se dá pela ineficácia na diferenciação entre espécies e precisa de um complemento para concluir um diagnóstico patológico. É um teste de grande amplitude e de baixa especificidade (Lopes, 2016).

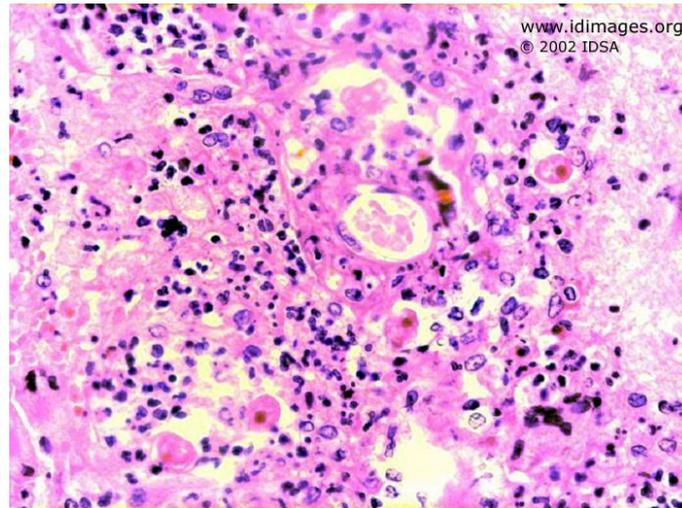


Figura 6. *Acanthamoeba castellanii* em biópsia cerebral. Legenda: coloração por hematoxilina e eosina de biópsia cerebral. Fonte: Emicrobes digital (2002).

Teste de Imunofluorescência direta

O próximo teste a ser apresentado também está relacionado com coloração, entretanto, esse utiliza a fluorescência direta, esse teste é chamado de imunofluorescência, pois permite a visualização em um comprimento de onda, com coloração fluorescente, para a pesquisa anticorpos presentes no paciente que reagem ao protozoário causador da doença, Figura 7. Para detectá-lo, ele deve ter grandes quantidades de microrganismos da *A. castellanii* no tecido. Os fluorocromos usados com frequência nesses testes de imunofluorescências são os FITC (fluoresceína isocianetada) e as rodaminas.

Para esse teste não precisa realizar uma raspagem ou retirada de tecido do paciente, como obrigatório, podem-se realizados direto no corpo do paciente. Possui como alternativa as suspensões celulares, que são culturas de células e são utilizadas para o mesmo fim de pesquisa. As vantagens desse teste é a rapidez em que ele é realizado, no período de 2-3 horas, e podem ser realizados em pacientes internados. É um método direto e preciso, pois marcará os anticorpos contra o parasita produzido pelo corpo, entretanto as suas desvantagens estão nos altos preços de realização do exame e na demora em liberação de resultados para o paciente ou solicitante (CITOLAB, 2020).

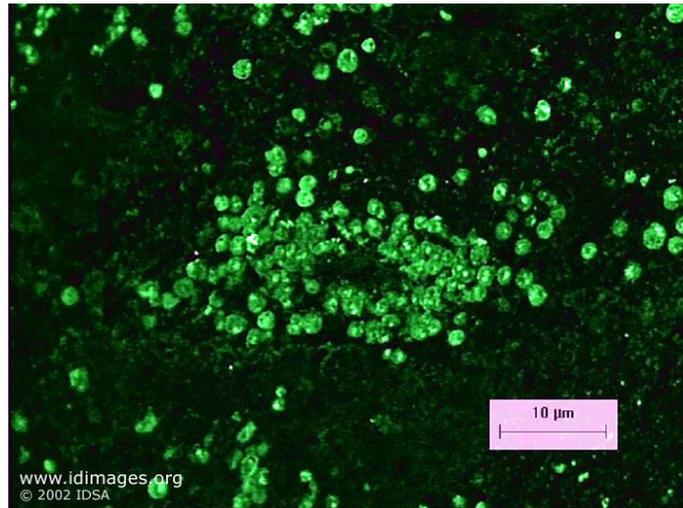


Figura 7. *Acanthamoeba castellanii* mostrado por coloração imunofluorescente. Legenda: Anticorpos mostrados por coloração imunofluorescente no cérebro. Fonte: Emicrobes digital, 2002

Teste de PCR e LAMP

O último teste apresentado neste artigo relata a utilização da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) e a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP), em real time e em microscopia eletrônica, Figura 8, com o intuito de se pesquisar a presença ou não de restos metabólicos do protozoário de *Acanthamoeba*, esses testes consistem na amplificação do DNA em busca de ácidos nucleicos (material genético) para pesquisas genéticas e/ou testes bioquímicos. Como falamos de Parasitose, nesse caso em particular é usado para a detecção de *Acanthamoeba spp.* e de suas espécies.

A qPCR é uma técnica de biologia molecular usada para amplificar um ou vários fragmentos de DNA com base no processo de replicação do DNA que ocorre no corpo. Durante a PCR, a alta temperatura divide a molécula de DNA em duas fitas simples, de forma que os primers também são combinados em uma fita simples, geralmente composta de 15 a 30 nucleotídeos, e esses primers são obtidos por síntese química. Em seguida, dois pares de primers são adicionados à reação. Se uma determinada sequência estiver presente na amostra, será dezenas de milhares de vezes, o que pode constituir uma reação positiva relatada pelo teste (Jornal UFG, 2014).

O LAMP é uma variante da PCR convencional, a enzima utilizada pode realizar uma amplificação isotérmica, tem alta especificidade, sensibilidade, velocidade e custo reduzido, e pode ser usada para a detecção de uma variedade de patógenos. Essa tecnologia utiliza de 4 a 6 primers e DNA polimerase Bst. Além da atividade de síntese, também atua abrindo as fitas duplas de DNA. O resultado ampliado pode ser visto no próprio tubo de ensaio a olho nu (Nunes, 2013).

Como vantagens desses testes, a qPCR que pode detectar a infecção da doença atual, para que a equipe médica possa determinar o que ou quem está infectado e o não infectado. LAMP é uma técnica rápida que pode produzir resultados de 2 a 3 horas. E os seus resultados podem ser visto a olho nu. Esse

é um método simples e barato que pode ser realizado em um laboratório hospitalar, diminuindo o intervalo de tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico. Já como desvantagens, a qPCR possui um alto custo de equipamentos, em contrapartida os testes feitos no equipamento não são caros, e precisa ser feito em fase aguda da doença, ou seja, no estágio mais grave. A LAMP é uma tecnologia mais recente do que qPCR e não há muito histórico de pesquisa por trás dela. A ciência de estabelecer esses testes é mais complicada do que a qPCR (Nunes, 2013; Jornal UFG, 2014).

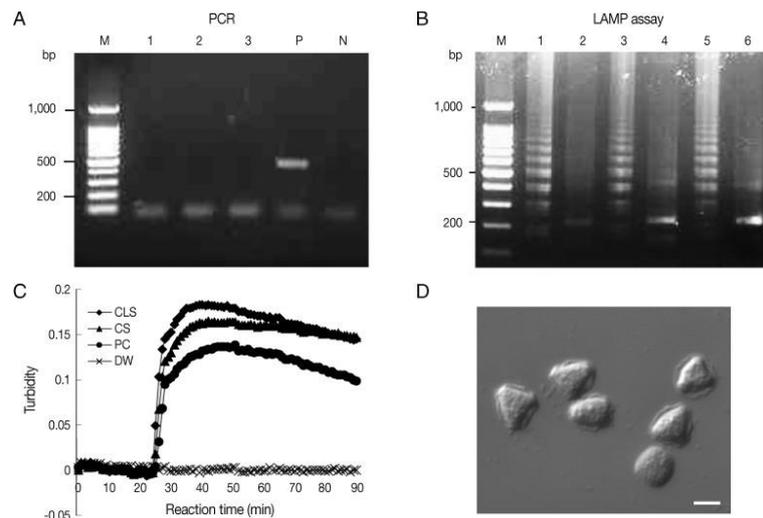


Figura 8. Detecção de *Acanthamoeba* em amostras clínicas. Legenda: Eletroforese de produtos de ensaio PCR (A) e LAMP (B) amplificados a partir de amostras clínicas oculares tratadas com calor de um paciente com suspeita de ceratite (C) Ensaio LAMP de turbidez em tempo real da amostra em (B), (D) Fotografias de trofozoítos de *Acanthamoeba* sp. detectado por culturas de raspagem de córnea e uma solução de lente de contato das mesmas amostras mencionadas em (B). Fonte: Visvesvara et al (2007).

Tratamentos de ceratite

O tratamento de ceratite amebiana é necessário ter o seu início quando diagnosticado com o intuito de retardar ou inibir a ação amebiana. Se diagnosticado precocemente apresenta grandes chances de se ter bons resultados e seu tratamento e ser de curta duração, se comparados com pacientes diagnosticados em fase tardia, o local e a presença de cistos do protozoário, pode deixar o seu tratamento mais longo e complicado.

Hoje em dia o tratamento para a ceratite amebiana prescreve o uso de antisséptico catiônico tópico que consiste na ação contra os cistos amebianos sendo em altas concentrações para afeta-los quantitativamente, degradando a *Acanthamoeba castellanii* e metabolicamente, inibindo a sua proliferação no hospedeiro.

O PHMB (Polihexametileno biguanida) pode ser usado como desinfetante e como um antisséptico em ação contra microrganismos e por isso se tornou a primeira opção de tratamento de ceratite amebiana

por *A. castellanii*, seguidas pelo antisséptico gluconato de clorexidina e o antibiótico sulfato de neomicina, fora o uso complementar de outros fármacos (Clarke et al. 2013; Morales et al. 2015).

O uso de fármacos para mediação da dor é disponibilizado através de colírios, como o cicloplégico, e o uso medicamentoso de não esteroides orais (anti-flamatórios). A ceratoplastia também é uma forma de tratamento, um processo cirúrgico que consiste em um enxerto da córnea inconsistente por uma de um indivíduo da mesma semelhança gênica (Morales et al. 2015).

A prevenção dessas patologias por ameboides facultativas está relacionada com cuidados que devemos ter com o nosso corpo, evitando lesões, ingestão de água de origem duvidosa ou contaminada, o banho em rios e lagos que tenham suspeitas da presença do protozoário e o uso correto de lentes de contato, com os seus cuidados necessários.

DISCUSSÃO

Os resultados coletados nesse estudo têm como proposta atualizar contextos e conceitos existentes, e novos conhecimentos sobre a *A. castellanii*, resultantes de trabalhos realizados recentemente. Voltando-se para os seus testes e diagnóstico que auxiliam ao profissional da saúde na hora de concluir um diagnóstico e, ajudar aos pacientes a conseguirem um bom tratamento e recuperação da doença.

Os estudos apontam testes e métodos de diagnósticos que são usados em fases específicas da doença que melhor auxiliam e caracterizam a AVL para o reconhecimento e diagnóstico promovendo um melhor tratamento recuperação do paciente.

Em análise podemos descrever que a *A. castellanii* é um microrganismo diversificado, pois se apresenta em formas corporais e ambientes variados, o que facilita o seu desenvolvimento e permite observar a sua evolução desde que foi catalogada. Para muitos autores a *A. castellanii* é um protozoário que está em constante evolução, pois consegue se manter estável e saudável em ambientes inóspitos até conseguirem uma oportunidade de contato e assim se desenvolverem como parasitas ou serem levadas a outros ambientes.

A sintomatologia da ceratite amebiana possui uma variável quando se trata de organismos humanos, relatos mais frequentes de pacientes apontam sintomas como coceira, fotofobia, lacrimejamento e dor na região ocular, que quando procuram por orientação médica a doença já se encontra em grande avanço na sua infecção, o que dificulta o tratamento da patologia e aumenta a duração do mesmo. No diagnóstico para a ceratite, se faz necessário, para uma boa recuperação, o diagnóstico precoce. Em cada fase ou estágio da infecção podemos utilizar métodos diferentes ou correlacioná-los para uma melhor decisão de tratamento mostrada ao paciente.

Quando é abordada a função médica, o profissional será responsável por buscar e direcionar o melhor caminho para tratar e orientar os pacientes acometidos pela doença, o seu conhecimento e a sua

experiência será levada em conta e é de comum acordo que esses profissionais devem ser orientados e treinados para entender, através dos históricos clínicos e laboratoriais, as possíveis causas e tratamentos que são necessários.

Em discussão com os autores como Alves (2001) e Clarke et al (2013) podemos observar biologicamente e geneticamente a ação de AVL's como a *A. castellanii*, com o demonstrativo de sobrevivência no meio ambiente externo e em um meio parasitário, assim podendo saber como evoluíram e até que ponto chegou essa evolução, como obtém sucessos ao adentrar no hospedeiro e quais reações elas provocam como respostas no indivíduo parasitado.

Segundo Morales et al (2015) e Szentmáry et al (2018) a melhor utilização de cada um dos testes envolvidos no processo de diagnóstico da patologia, possui relação ao tempo da infecção pelo protozoário no homem e os sinais das primeiras sintomatologias até o seu diagnóstico, corroborando com os achados da literatura de Contarine (2018) e Santos (2018) que apontam, que para cada fase ou etapa que a AVL conseguiu se parasitar existe um teste de detecção que podem estar sendo utilizados por esses profissionais.

Desse modo, Lopes (2016) e NUNES (2013) fizeram o primeiro teste que demosstramos é o de coloração de HE que visa analisar a presença ou não de trofozoítas ou cistos do protozoário utilizando como material o tecido coletado do paciente, como vantagem da coloração eu tenho por meio desse teste uma boa visualização da ameba disposto no tecido coletado e como desvantagem pode ocorrer à ausência do mesmo no tecido coletado, causando o negativo-positivo.

Já o teste de imunofluorescência permite a observação de anticorpos produzidos no corpo do hospedeiro pela fluorescência direta no paciente como uma das vantagens, uma das desvantagens é o seu alto custo para a realização.

E por último temos os testes PCR e LAMP, por microscopia eletrônica e em tempo real, é considerado como padrão ouro, pois pesquisa e detecta o material genético de uma pequena amostra, conseguindo assim ser muito preciso de qual patologia é proveniente, entretanto para realizá-lo se faz necessário está na fase aguda da doença.

Ao notar a utilização de alguns testes podemos perceber que todos possuem os seus pontos positivos e negativos, mas a importância evidente entre eles são a eficácia de resultados específicos para cada uma vertente de fonte de pesquisa, e por isso devem ser usadas como a plena certeza que é o caminho correto a seguir em busca de resoluções e tratamentos da doença.

Autores como Szentmary et al (2018) e Morales et al (2015) apontam fatores importantes relacionados aos métodos e/ou testes necessários para o diagnóstico e tratamento desses pacientes adoecidos com o patógeno oportunista e mostram que é indispensável o conhecimento prévio de microrganismos que podem ser patológico quando há a possibilidade, seus trabalhos colaboram com atualizações de conceitos e novos conhecimentos sobre as AVL's e possuem caráter informativo, que

podemos utilizar no dia a dia de profissionais de saúde que lidam com doenças causadas pelo protozoário. Além disso, podem ser utilizados para a formação educacional de novos profissionais e assim podem trabalhar com informações baseadas em fatos comprovados e com os resultados e tratamentos que estão voltados para as ações de precisão e rapidez nos diagnósticos da infecção pelo microrganismo e suas consequências para o paciente com a doença.

CONCLUSÃO

A *Acanthamoeba castellanii* apresenta-se, entre indivíduos a quem entraram em contato, seja por meio educacional, como estudos e aprofundamentos, ou por parasitose, como sendo uma AVL altamente diversificada e oportunista, que está presente em vários ambientes e superfícies.

A *A. castellanii* é um protozoário de vida livre e está sempre ao nosso redor e, eles são espécies nativas de diversos ambientes e seres vivos de vida livre, não possuem a intenção de causar danos ou doenças ao ser humano, originalmente. Não devemos ter medo desse protozoário, apenas cuidados corretos são necessários para evitar o contágio e a obtenção da doença, como exemplo uma boa higiene pessoal e evitar lugares insalubres, caso tenha entrado em contato com essa ameba, não procrastinar a ida ao serviço de saúde mais próximo.

O diagnóstico pode ser complicado e incerto, principalmente pela falta de atualizações dos profissionais da saúde que estão em serviço, mas existem direções e mecanismos que devem ser seguidas corretamente para a obtenção desse diagnóstico. A existência de testes específicos não garante ao paciente a prescrição desses recursos, pois alguns deles possuem alto valor monetário no mercado e de difícil acesso aos indivíduos com uma baixa fonte de renda ou local sem esses recursos, tornado o diagnóstico mais demorado e de fase tardia, assim podendo ser mais complexo no tratamento da doença e na recuperação do paciente.

REFERÊNCIAS

- Alves JMP (2001). Caracterização e filogenia molecular de *Acanthamoeba*, 210 f. Tese (doutorado) – instituto de ciências biomédicas de universiade de São Paulo. SP.
- AscomUFG (2014). Reação em cadeia da polimerase (PCR). Jornal UFG, 2014. Disponível em: <<https://jornal.ufg.br/n/30634-reacao-em-cadeia-da-polimerase-pcr#:~:text=A%20PCR%2C%20que%20significa%20rea%C3%A7%C3%A3o,DNA%20que%20ocorre%20in%20vivo.>>
- CDC (2019). Patógeno e Meio Ambiente. Centers For Disease Control and Prevention. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/acanthamoeba/pathogen.html>>

- Citolab (2020). Imunofluorescência Direta Disponível em: <<http://citolab.com.br/exames/imunofluorescencia-direta>>
- Clarke M et al (2013). Genome of *Acanthamoeba castellanii* highlights extensive lateral gene transfer and early evolution of tyrosine kinase signaling. *Genome Biology* 14: R11.
- Contarini PL (2018). Ceratite por *Acanthamoeba*. Ligados em saúde, Programa exibido em 11/06/2018. Disponível em: <<https://www.canalsaude.fiocruz.br/canal/videoAberto/ceratite-por-acanthamoeba-les-1943>>
- Finco AB (2012). Avaliação fisiológica, morfológica e caracterização imunoquímica de *acanthamoeba* por anticorpos policlonais e monoclonais. 79 f. Dissertação (pós-graduação) -- Universidade Federal do Paraná Curitiba.
- Image library (2009). Disponível em: <https://mcdinternational.org/trainings/malaria/english/dpdx5/html/ImageLibrary/A-FreeLivingAmebic/body_FreeLivingAmebic_il3>
- Khan NA, Tareen NK (2003). Genotypic, phenotypic, biochemical, physiological and pathogenicity-based categorisation of *Acanthamoeba* strains. *Folia Parasitol.* 2: 97 – 104.
- Lopes C (2016). Hematoxilina & Eosina – Pathologika. Disponível em: <<https://pathologika.com/histoquimica/hematoxilina-eosina/>>
- Merino MCB et al (2019). Parasitosis ocular por *Acanthamoeba*. *Revista Cubana de Oftalmología*, [S.l.], 32(2).
- Microworld (2019). Família *Acanthamoebidae* – mundo de organismos ameboides, Disponível em: <<https://www.arcella.nl/acanthamoebidae/>>
- Morales JL, Khan NA, Walochnik J (2015). An update on *anthamoeba keratitis*: diagnosis, pathogenesis and treatment. 20 f. Publicado pela EDP Sciences. DOI: 10.1051
- Morales JL, Martin-Navarro CM, López-Arencibia A, Arnalich-Montiel F, Piñero Je, Valladares B (2013). *Acanthamoeba keratitis*: an emerging disease gathering importance worldwide? *Trends in Parasitology*, 29(4): 181-187.
- Neves DP (2005). *Parasitologia humana*. Cap. 16, 11ª edição, Editora Atheneu.
- Nunes ML (2013). Aplicação da técnica Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) no desenvolvimento de um teste para o diagnóstico da peste. 74f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Departamento de Saúde Coletiva, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.
- Partners Infectious disease images (2020a). EMicrobes digital library, Disponível em: <<https://www.idimages.org/images/organismdetail/?imageid=1808&altimageid=951>>

- Partners Infectious disease images (2020b). EMicrobes digital library, Disponível em: <<https://www.idimages.org/images/organismdetail/?imageid=1809&altimageid=953>>
- Researchgate (2013). Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/Detection-of-Acanthamoeba-in-heat-treated-ocular-clinical-samples-by-LAMP-and-PCR-A-and_fig3_249997900>
- Researchgate (2014a). Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/Cyst-of-Acanthamoeba-castellanii-under-transmission-electron-microscopy_fig2_262453761>
- Researchgate (2014b). Disponível em: <https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Ceratite-provocada-por-Acanthamoeba-Lesao-caracteristica-em-forma-de-halo_fig1_283784121>
- Salazar HC et al (1982). Isolamento de amebas de vida livre a partir de água mineral engarrafada. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 16: 261-267.
- Santos AM et al (2018). Saúde dos olhos: diagnóstico laboratorial de ceratites infecciosas e ações educativas com usuários de lentes de contato. 06 f. Dissertação (graduação em Farmacologia) Universidade Federal de Santa Catarina, SC.
- Santos DLD (2017). Descrição do perfil dos usuários de lentes de contato e ocorrência de casos de ceratite por *acanthamoeba spp.* em clínicas particulares e no hospital de clínicas de porto alegre. 66 f. Dissertação (Mestrado) Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. RS.
- Siddiqui R, Khan NA (2012). Biology and pathogenesis of *acanthamoeba*. Parasites & vectors. Pakistan, 5(6): 13.
- Szentmary N et al (2018). Acanthamoeba keratitis e clinical signs, differential diagnosis and treatment. 08 f. Department of Ophthalmology, Saarland University Medical Center, UKS, Homburg, Saar, Germany b Department of Ophthalmology, Semmelweis University, Budapest, Hungary.
- Vircell microbiologists (2020). *Acanthamoeba castellanii* - Soluções de diagnóstico para doenças infecciosas humanas. Disponível em: <<https://en.vircell.com/diseases/21-acanthamoeba-castellanii/>>
- Visvesvara G, Moura H, Schuster F (2015). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae Acanth Bal Nfow Sapdip FEMSIM 50 1-26 2007.

CAPÍTULO III

EIM - ACIDEMIAS ORGÂNICAS: ACIDEMIA METILMALÔNICA (AMM)

Mariana Alves da Silva do Couto

INTRODUÇÃO

Os erros inatos do metabolismo (EIM) são alterações de origem genética que geralmente surgem a partir de um defeito enzimático, o qual é capaz de provocar a interrupção de uma via metabólica ocasionando, por conseguinte, o acúmulo de substâncias prejudiciais, ou a falta de alguma substância necessária ao bom funcionamento do organismo.

Dentre estas patologias (EIM) será abordado como tema deste trabalho o grupo das acidemias orgânicas, mais especificamente falando sobre a Acidemia Metilmalônica (AMM) e a importância da Espectrometria de Massa para obtenção de um adequado diagnóstico desta patologia.

A AMM é uma alteração no metabolismo, que surge a partir de defeitos hereditários, afetando de modo característico as vias metabólicas relacionadas à degradação de ácidos orgânicos específicos, acarretando o acúmulo de ácidos graxos e/ ou seus derivados, o que pode ocasionar o comprometimento do sistema nervoso central e em casos extremos levar o paciente a morte.

É extensa a lista de exames que podem ser solicitadas perante a suspeita de EIM, dependendo dos sintomas apresentados e da análise do histórico clínico do paciente. Como ponto de partida, e de forma geral, são solicitados exames como hemograma, glicemia, ácido úrico e colesterol. E em seqüência, dependendo dos resultados, exames mais específicos a cada uma das EIM.

Com o avanço tecnológico de análises e a utilização da espectrometria de massa (MS) tornou-se de forma rápida e viável a definição de uma grande variedade de patologias, dentre as quais a AMM.

Este trabalho apresenta relevância no intuito de ampliar e difundir o conhecimento inerente sobre as Patologias do grupo dos EIM, já que provocam sérios problemas neurológicos nos acometidos pela doença, que por sua vez se tornam pessoas improdutivas acarretando um ônus para a sociedade. Diante da quantidade de EIM e da especificidade no tratamento de cada uma, e também da necessidade de um rápido diagnóstico é que surge a importância da utilização da espectrometria de massa no diagnóstico.

Portanto, este trabalho possui o objetivo de contribuir para uma melhor compreensão sobre Acidemia Metilmalônica e disseminar aprendizagem a respeito destas doenças de origem genética. Bem como apresentar a utilização da Espectrometria de massas como ferramenta para o diagnóstico.

METODOLOGIA

Com o intuito de se alcançar o objeto proposto, foi realizada uma revisão bibliográfica integrativa na busca pela informação de interesse, na literatura acadêmica científica disponível, da qual foram extraídas informações pertinentes de pesquisas, na forma qualitativa e quantitativa, integrando assim todas as informações necessárias para uma boa compreensão do tema. Conduzindo assim o estudo descritivo proposto, ampliando a compreensão e conhecimento a despeito do processo de funcionamento das acidemias orgânicas em específico a acidemia Metil Malônica (AMM). Nessa revisão abordamos: suas causas; seus sintomas; seu diagnóstico; seu tratamento; e a utilização da tecnologia de Espectrometria de massa.

Para o desenvolvimento da base textual optou-se pela busca de artigos, trabalhos científicos, revistas sobre o tema, publicações disponíveis na internet, dentre as quais podemos mencionar: DGITS/SCTIE Ministério da Saúde, Google acadêmico. Por meio da utilização de palavras chaves como “Acidemia, acidemia Metilmalônica, espectrometria de massa”. O período da pesquisa está compreendido em cerca de oito meses e os dados encontrados datam do ano de 2001 até 2020.

RESULTADOS

Erros Inatos do Metabolismo (EIM)

Os erros inatos do metabolismo (EIM) são alterações de origem genética, que geralmente surgem a partir de um defeito enzimático, o qual é capaz de provocar a interrupção de uma via metabólica ocasionando, por conseguinte, o acúmulo ou falta de alguma substância necessária ao bom funcionamento do organismo (Barshack *apud*. Scriver et al., 2001).

Segundo Nolasco (2017) podemos classificar os EIM, sobre a perspectiva fisiopatológica, estas alterações do metabolismo podem ser divididas em três grupos, com base nos fenótipos clínicos destas doenças:

Grupo 1: Distúrbios que dão origem à intoxicação

Aminoacidopatias, Acidemias orgânicas, Alterações do ciclo da ureia, Intolerâncias ao açúcar.

Grupo 2: Distúrbios no metabolismo energético

Acidemias lácticas congênicas, Doenças das cadeias respiratórias mitocondriais, Defeitos de oxidação dos ácidos graxos e metabolismo de corpos cetônicos, Distúrbios relacionados à energia citoplasmática.

Grupo 3: Distúrbios envolvendo moléculas complexas

Doenças lisossomais; Distúrbios peroxissomais; Distúrbios congênicos da glicosilação (CDGs); Erros inatos da síntese do colesterol.

Neste estudo daremos ênfase a Acidemia Metilmalônica no rol das Acidemias Orgânicas que se enquadram no Grupo 1 dos distúrbios que dão origem à intoxicação.

Acidemias orgânicas

As alterações relacionadas ao metabolismo das acidúrias orgânicas, também denominadas acidemias orgânicas, pertencem a um grupo de patologias metabólicas adquiridas por hereditariedade e que afetam de modo característico as vias metabólicas relacionadas à degradação dos carboidratos, aminoácidos e ácidos graxos. As acidemias são doenças hereditárias autossômicas recessivas e possuem como característica principal o acúmulo de ácidos orgânicos e seus respectivos derivados na urina, no sangue, nos tecidos e em outros fluidos corporais (Barschak *apud* Chalmers; Lawson, 1982; Scriver et al., 2001).

Normalmente os sintomas apresentados pelos lactantes e recém-nascidos são vômito, convulsão e coma, apresentando ainda anomalias nos exames laboratoriais, como acidez excessiva, cetonemia, baixa concentração de glicose no sangue e excesso de amônia no organismo.

Segundo Barschak (2003) se o diagnóstico e o tratamento não forem conduzidos de forma adequada, os distúrbios relacionados aos ácidos orgânicos costumam ser fatais e os pacientes que conseguem sobreviver ficam com sequelas graves. E essas ocorrências podem ser facilmente confundidas com septicemia, já que ambos os casos se caracterizam por acidose e encefalopatia aguda.

As acidemias orgânicas são consideradas as mais frequentes doenças metabólicas em crianças severamente doentes e dos mais frequentes grupos de enfermidades hereditárias do metabolismo, sendo a deficiência da acil-CoA desidrogenase dos ácidos graxos de cadeia média (MCAD), a acidemia propiônica e a acidemia metilmalônica as mais frequentes na população Wajner et al (2001).

Acidemia Metilmalônica

Via Metabólica e Alterações

As alterações enzimáticas atribuídas a Acidemia Propiônica (AP) e a Acidemia Metilmalônica (AMM) estão interligadas.

Por causa da carência de propionil-CoA carboxilase, enzima mitocondrial que precisa de biotina, é provocada a acidemia propiônica. Enquanto que na acidemia metilmalônica existe uma carência de metilmalonil-CoA mutase, enzima que depende de vitamina B12.

Durante o catabolismo (fase metabólica do organismo onde ocorre a degradação das macromoléculas nutritivas) dos aminoácidos treonina, valina, isoleucina, e metionina, dos ácidos graxos de número ímpar de carbonos, e da cadeia lateral do colesterol, resultando na formação de propionil-CoA, o qual é convertido a metilmalonil-CoA, entrando seus produtos no ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa. Porém, na AP e AMM, há grande concentração, destes e outros compostos correlacionados, no sangue e tecidos e também são em grandes quantidades eliminados pela urina.

Segundo Trindade (2009) a Acidemia Metilmalônica é uma desordem metabólica com um defeito bioquímico que se apresenta no metabolismo do propianato durante a conversão do ácido metilmalônico para o ácido succínico. Há 2 tipos de anomalias principais: o defeito das coenzimas (metil B-12 e 5-desoxiadenosil –B12) e na apoenzima (metilmalonil-mutase).

Nesta doença é o metabolito que apresenta acúmulo predominante, entretanto, não raro pode-se encontrar também o acúmulo de metabólicos secundários (Pont, 2011).

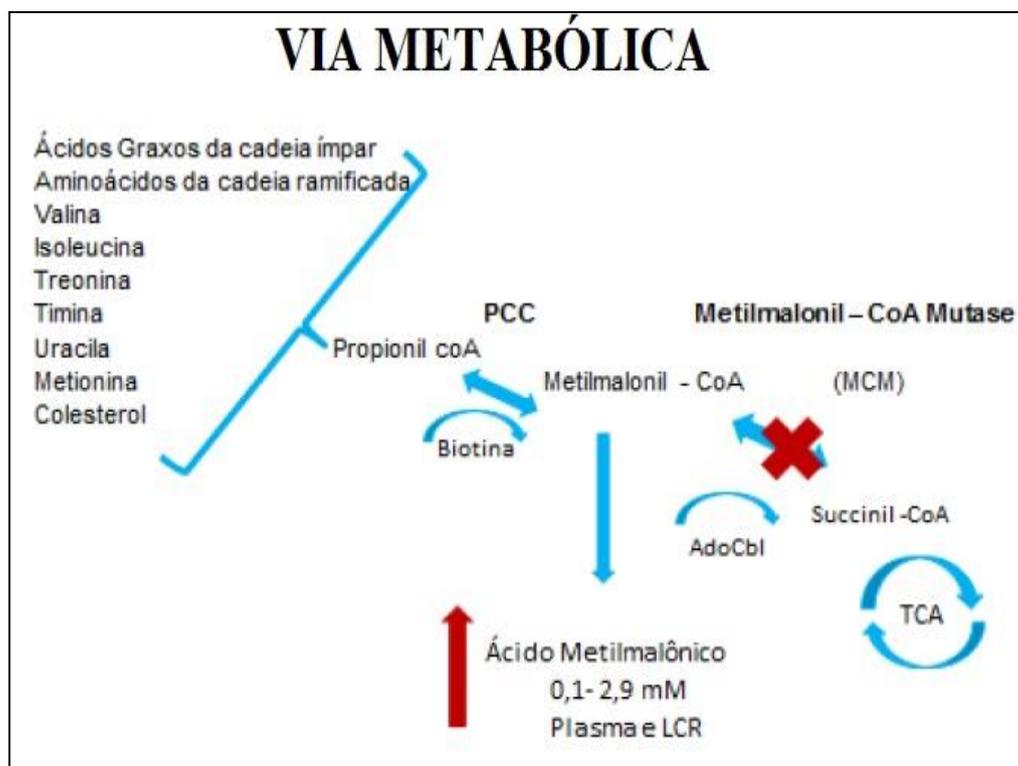


Figura 1. Esquemática de rota metabólica deficiente na acidemia metilmalônica. Fonte: (Gabbi, 2017).

Ocorrências e principais impactos no organismo do paciente

A tabela 1 apresenta a ocorrência de casos de Acidemias, diagnosticadas entre a população pediátrica no Brasil, referenciada no período compreendido entre janeiro de 1994 a julho de 2008 (Gabbi, 2017).

Os impactos desta anomalia congênita no organismo podem variar de forma ampla entre os afetados. Na forma mais grave a acidemia metilmalônica causa acidose metabólica com comprometimento do sistema nervoso central, podendo levar a morte, já no que se refere a forma crônica, ocasiona retardo no desenvolvimento e lesões neurológicas focais sequelares (Dalbello, 2017 *apud*. Schwartz et al., 2008).

Geralmente na primeira semana de vida e que aparecem os primeiros sinais clínicos principalmente os relacionados ao sistema neurológico. O paciente pode apresentar letargia, hipotonia, retardo mental e psicomotor, alterações comportamentais e neuropsiquiátricas (déficit de atenção, quadros de agressividade e comportamento autista), atrofia cerebral, apatia, coma, anormalidades no eletroencefalograma e convulsões, entre outros sintomas (Pont, 2011).

Tabela 1. Acidemias diagnosticadas no Brasil, 1994 a 2008. Fonte: (Gabbi, 2017).

Doenças	Número de pacientes (%)
Número de pacientes analisados	6866
Número de pacientes diagnosticados	218 (3.17%)
Acidemias lácticas	57 (26.1%)
Acidemia metilmalônica	34 (15.6%)
Acidemia glutárica tipo I	33 (15.1%)
Acidemia propiônica	18 (8.26%)
Acidúria 3-hidróxi-3-metilglutárica	17 (7.80%)
Acidúria L-2-hidróxi-glutárica	9 (4.13%)
Deficiência de múltiplas carboxilases	9 (4.13%)
Acidemia glutárica tipo II	8 (3.67%)
Acidemia isovalérica	7 (3.21%)
Alcaptonúria	5 (2.29%)
Deficiência de 3-hidróxi-acil-CoA-desidrogenase	5 (2.29%)
Doença de Canavan	4 (1.83%)
Acidúria 3-metilglutacônica	4 (1.83%)
Deficiência de 3-metil-crotonilglicina-CoA	2 (0.92%)
Acidúria D-2-hidróxi-glutárica	1 (0.46%)
Acidúria D-glicérica	1 (0.46%)
Deficiência de glutatona sintetase	1 (0.46%)
Deficiência de 3-cetotilase	1 (0.46%)
Deficiência de carnitina palmitoil transferase II	1 (0.46%)

Tratamento

O tratamento para a acidemia metilmalônica a princípio consiste em uma dieta restritiva com relação a quantidade de proteínas ingeridas e em alguns casos administração de suplementos dietéticos. A remoção de acil-CoA, cujo acúmulo acontece nas dietas com restrição de proteínas, é promovida pela carnitina. O acil-CoA é convertido em acil-carnitina, podendo ser excretado pela urina. Como tratamento de primeira linha também pode ser utilizado os suplementos de cianocobalamina, caso o paciente seja sensível aos suplementos de carnitina e cobalamina, o tratamento pode ser efetuado por meio da administração de quantidades pequenas de aminoácidos como treonina, isoleucina, valina e metionina (Nora et al., 2017).

Em geral o tratamento consiste em: Dieta com restrição Proteica; Suplementação de Cobalamina; Suplementação de Cálcio e Multivitamínico; Hidratação; e facilitar a eliminação das toxinas do organismo.

Nas acidemias metilmalônicas por deficiência de cofator enzimático L-metilmalonil-CoA mutase, pode-se utilizar método terapêutico alternativo administrando por outra via, doses de vitamina B12, concomitantemente a administração de L-carnitina, propiciando a excreção de propionil-carnitina pela urinária contribuindo para redução da toxicidade do propianato (Gabbi *apud*. Burns, 1996; Oggier de Baulny; Saudubray, 2002).

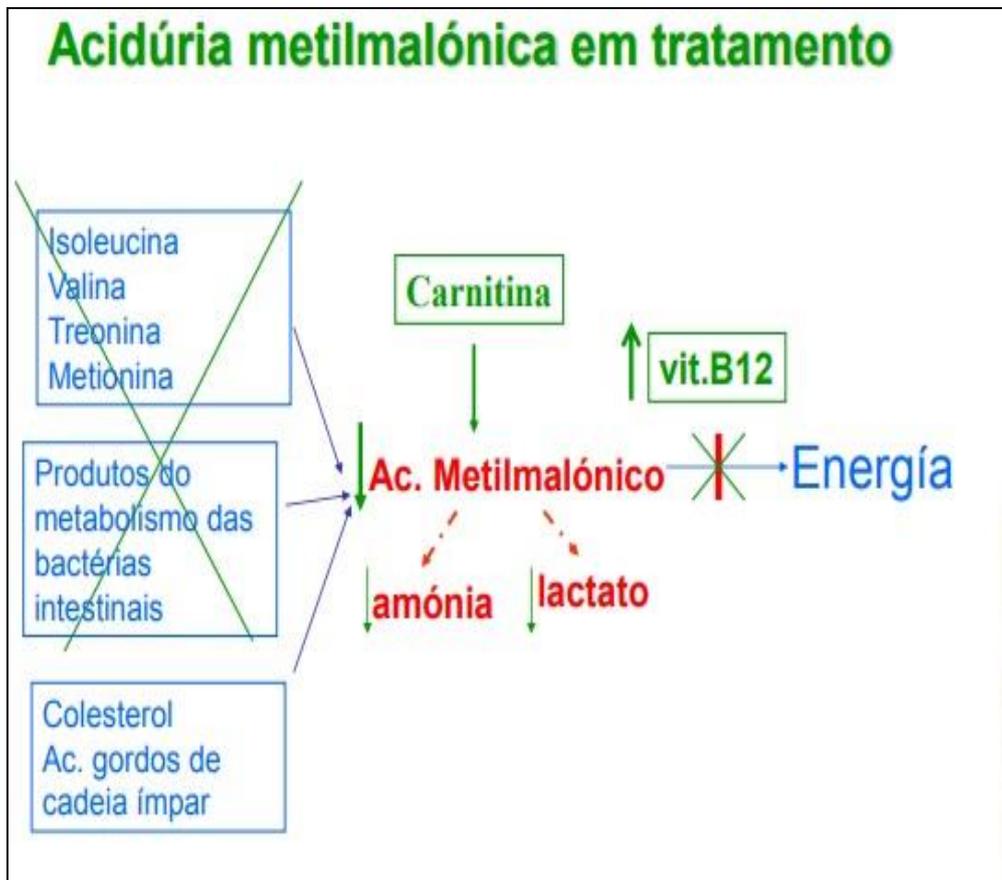


Figura 2. Esquematização de tratamento com a dieta para redução do Ácido Metilmalônico (AMM); Administração de Carnitina que converte o AMM em produto não tóxico e favorece a excreção deste, a

fim de reduzir a toxicidade, administração de vitamina B12 para suprir a falta no organismo. Fonte: (Acidúria Metilmalônica, Guia Metabólico, 2015).

Diagnóstico

Ainda hoje em nosso país o diagnóstico de doenças raras é lento e difícil. Levando meses ou até anos, com inúmeras visitas do paciente ao sistema de saúde, sendo submetidos a vários tratamentos inadequados até se encontrar o diagnóstico correto. Com relação à saúde do paciente os prejuízos causados por este fato são irreversíveis, causando sofrimento para sua família e para ele próprio, além de gerar gastos altos e desnecessários ao sistema de saúde (DGITS/SCTIE, 2014).

São inúmeros os exames que podem ser utilizados para a avaliação de suspeita de EIM, devido a este fato, deve-se considerar como critério para a escolha, uma análise detalhada do histórico do paciente bem como dos respectivos sintomas clínicos apresentados. Entretanto existem alguns exames com uma amplitude maior sendo então escolhidos quando a análise clínica e o histórico não forem indicadores para auxílio no diagnóstico.

Geralmente inicia-se o diagnóstico com exames mais gerais como a dosagem de: ácido úrico, colesterol, glicemia e análise do hemograma. Para posteriormente serem solicitados outros exames mais específicos para o diagnóstico inicial na suspeita de EIM's como: a) Triagem para EIM no sangue e na urina; b) Dosagem de ácidos orgânicos na urina; c) Dosagem de lactato e piruvato plasmático; d) Dosagem de amônia plasmática; e) Dosagem de beta hidroxibutirato plasmático; e f) Dosagem de carnitina plasmática total e livre.

Espectrometria de Massa e sua Importância no Diagnóstico

A espectrometria de massa é uma ferramenta analítica laboratorial para separar componentes de uma amostra coletada com base em sua carga elétrica e massa, determinando a composição e peso das moléculas.

Em medicina laboratorial, já é amplamente empregado na quantificação de metabólitos por ESI-MS/MS em plasma, urina, líquido amniótico ou *dried blood spot*; na análise de produtos de amplificação de DNA através da reação em cadeia de polimerase (PCR), por *mass array* para identificação de mutações gênicas... Fonseca (2006).

A Espectrometria de Massa em Tandem (MS/MS ou MS²) é uma técnica em que dois espectrômetros de massa são utilizados em sequência, onde são separados por uma câmara de colisão. Sendo a amostra injetada, eluída e ionizada. No processo os íons são inicialmente separados por uma carga no primeiro espectrômetro, separados por um software computacional, posteriormente seguem para uma câmara de colisão, para serem fragmentados. Formados tais fragmentos passam ao segundo espectrômetro, onde passarão por análise e identificação com base em sua massa molecular, podemos ver

esse processo de forma mais simplificado no esquema apresentado na Figura 3. Este sistema é específico e sensível, e possui uma taxa baixa de falsos negativos e positivos, possibilitando uma avaliação quantitativa de acilcarnitinas individuais e suas relações além da pesquisa de vasta quantidade de patologias metabólicas (EIM) (DGITS/SCTIE, 2014).

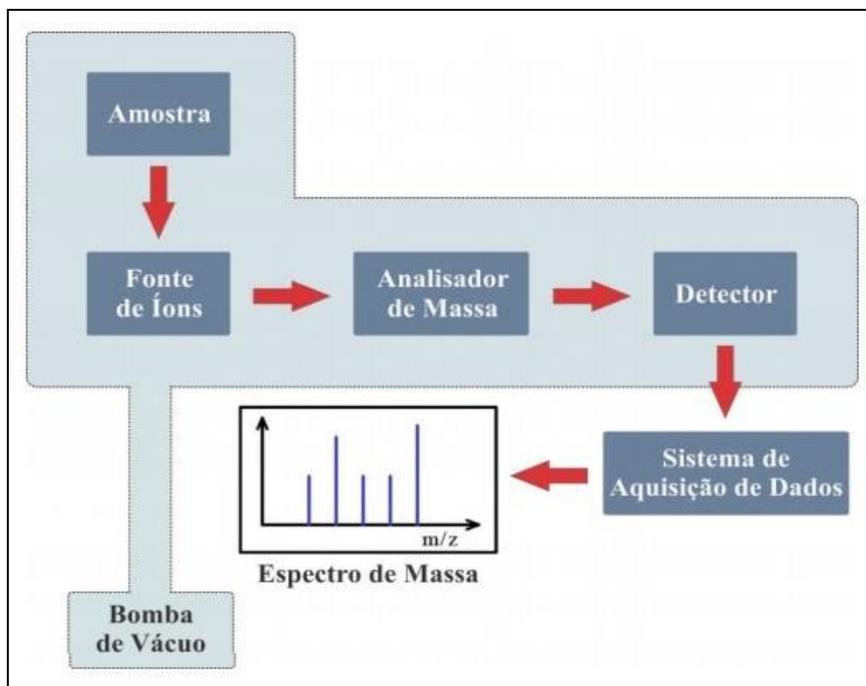


Figura 3. Esquematização do processo de MS. Fonte: (Cunha, 2014)

As acidúrias orgânicas diagnosticadas com maior frequência são a acidemia propiônica, a acidemia metilmalônica e a acidemia glutárica. O diagnóstico se dá por meio da cromatografia gasosa na urina (Exemplificado na Tabela 2 que correlaciona o aumento de ácidos orgânicos e as respectivas acidemias) ou por perfil de acilcarnitinas (AC) específicas no sangue que podem ser identificadas pela espectrometria de massas e perfil Tandem (Nolasco *apud* Karam, 2001, Saudubray et al., 2016).

Tabela 2. Correlação entre o aumento de ácidos orgânicos e respectivas acidemias. Fonte: Barshak (2003).

Exemplo de acidemias orgânicas diagnosticadas pelo aumento dos níveis de ácidos orgânicos.	
DOENÇA	ÁCIDOS ORGÂNICOS AUMENTADOS NA URINA
Acidemia Propiônica	Ácido 3-hidroxi propiônico, ácido metilcitríco, ácido 3-hidroxi valérico, propionilglicina
Acidemia Metilmalônica	Ácido metilmalônico e metabólitos da acidemia propiônica
Acidemia Láctica	Ácido láctico, ácido pirúvico, ácido 2-hidroxi butírico, ácido 4-hidroxi fenil láctico
Acidemia Isovalérica	Isovalerilglicina, ácido 3-hidroxi isovalérico, ácido 4-hidroxi isovalérico

Segundo Siebel (2009) a medição das acilcarnitinas (AC) e dos aminoácidos (AA) pela Espectrometria de Massas em Tandem (MS/MS) nos permite com maior precisão a descoberta precoce no que se refere aos erros inatos do metabolismo (EIM), sendo hoje considerada uma ferramenta para o diagnóstico fundamental na medicina.

A utilização da espectrometria de massa em Tandem no diagnóstico neonatal proporciona a possibilidade de um prognóstico excelente com a descoberta precoce de patologias graves do grupo das EIM, em sua fase assintomática e inicial minimizando os riscos e sequelas no tratamento.

As técnicas de cromatografia gasosa ou líquida, associadas ou não, à espectrometria de massa permitem a separação, identificação e quantificação de constituintes em misturas complexas. No caso dos erros inatos do metabolismo, visam à quantificação de metabólitos potencialmente tóxicos para o organismo gerados por um defeito genético (deficiência de uma enzima) DGITS/SCTIE (2014).

A dosimetria do ácido metilmalônico no soro é realizada pela cromatografia líquida vinculada à espectrometria de massa em tandem (LC/MS-MS), sistema de grande sensibilidade e precisão. Este exame possui a sensibilidade necessária para realização de um diagnóstico mais preciso. O material biológico necessário para realização deste exame são amostras de soro, plasma ou urina. A amostra então é submetida à Cromatografia / Espectrometria de Tandem (LC/MS-MS), após análise por esse sistema e determinado o perfil metabólico com a quantificação dos metabólitos, sendo de interesse para determinação da acidemia metilmalônica, as concentrações do ácido metilmalônico que serão comparadas com os valores de referências normais chegando-se assim ao diagnóstico.

Espectrometrias de Massa

Definição de Espectrometria de Massa.

É uma técnica utilizada para analisar e identificar a composição química de um determinado composto isolado, ou de compostos diferentes em complexas misturas diferentes com base na constituição atômica de cada amostra de moléculas e também com relação ao seu estado iônico (ou seja, com carga líquida, positiva ou negativa), em relação a sua movimentação através de campo magnético ou elétrico. Esse procedimento permite a análise, sem nenhum conhecimento prévio, da composição de uma amostra desconhecida (Souza, 2008 *apud* Van Bramer, 1998).

Devido à alta capacidade analítica esta técnica se tornou um equipamento essencial no que diz respeito ao estudo quantitativo e qualitativo. Esse avanço na tecnologia foi decisivo para a aplicação na análise de proteínas, peptídeos, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, drogas dentre outras moléculas biológicas.

Princípios de Espectrometria em Massa.

Basicamente o princípio da espectrometria em massa é a ionização dos diversos compostos químicos com a finalidade de produzir moléculas fragmentadas e de estabelecer a relação entre as massas e cargas (ou propriedade relacionada a ela).

A análise de dados oferecidos pela espectrometria em massa está fortemente relacionada ao método utilizado em para sua produção. Existem várias subdivisões de dados fundamentais para uma compreensão adequada, além disso, é muito importante saber se os íons observados estão com carga positiva ou negativa

A espectrometria de massa pode ser utilizada tanto para avaliar a pureza da amostra, a estrutura da molécula ou a massa do molar. Pois qualquer uma destas indagações precisa de uma aproximação experimental própria, ou seja, a definição pertinente do objetivo experimental é uma regra prévia para se obter os dados assim como para analisá-los.

Espectrômetro em Massa

Inicialmente o espectrômetro em massa analisava unicamente moléculas inorgânicas pequenas, desenvolvido em 1918, Arthur J. Dempster desenvolveu o primeiro espectrômetro moderno. Contudo atualmente os espectrômetros em massa são utilizados perfeitamente na análise de macromoléculas biológicas sem limitação de massa pertinente. A informação adquirida de um espectrômetro em massa é baseada no resultado da análise de íons durante a fase gasosa (Souza, 2008).

O espectrômetro de massas é formado por 3 partes fundamentais, são elas: a Fonte da ionização - promove a ionização convertendo as moléculas neutras em íons;

Analisador de massas - tem por função a separação e classificação dos íons de acordo com suas massas processado por meio da utilização de campos magnéticos e elétricos;

Detector - última parte de um espectrômetro de massa, detecta a amplificação dos íons medindo o valor de um indicador, calculando a plenitude dos íons e fornecendo dados.

A capacidade de um espectrômetro de massas se dá pelo analisador em massa parte do processo onde ocorre a separação dos íons. Dessa forma associando dois ou mais espectrômetros em massa, conseguimos aumentar consideravelmente o poder de definição e desempenho.



Figura 4. Exemplo de Espectrômetro. Fonte: (Departamento de Química USP, Laboratório de Espectrometria de Massas, 2018).

Principais Tipos de Espectrometria em Massa

Espectrometria em massa em tandem (MS/MS) – espectrometria de modo seqüencial de pelo menos três estágios seleção dos íons, ruptura dos íons particulares para gerar fragmentos e por último detecção e análise destes fragmentos

Encontrou aplicação na análise do peptídeo, bem como na identificação estrutural de oligonucleotídeos, de lipídeos pequenos e de hidratos de carbono.

Espectrometria líquida da cromatografia–massa (LC/MS) – inicialmente é realizada a separação dos compostos cromatográficos para depois serem expostos a fonte de íons e posteriormente ao espectrômetro em massa. Nesta técnica são empregadas geralmente a fase móvel do líquido e uma fonte electrospray.

“Cromatografia é um método de separação física na qual os componentes que serão separados são distribuídos entre duas fases, uma das quais é estacionária (fase estacionária), enquanto a outra (fase móvel) se move em uma direção definida” (Souza, 2008 *apud* IUPAC, 2006).

Avanços na Utilização da Espectrometria de Massa no diagnóstico de Patologias

Atualmente a medicina vem avançando rapidamente no uso da tecnologia relacionada à Espectrometria de massa, a qual vem sendo utilizada em diversos tipos de análises como, por exemplo, no exame de nódulos de tireóide, servindo como triagem para possíveis cirurgias, já que é capaz de ampliar e detectar com extrema rapidez e precisão a diferença entre um tecido saudável e doente. Outros pacientes que também estão se beneficiando desta tecnologia (Espectrometria de Massa), são os pacientes acometidos por doenças onco-hematológicas, sendo utilizada com eficácia nos diagnósticos de tumores cerebrais malignos a níveis moleculares, sendo inclusive utilizado também durante a cirurgia oncológica com o objetivo principal de constatar a remoção de todo o tecido tumoral.

“Agora, com está técnica, será possível fazer um diagnóstico diferencial mais exato e completo, no nível molecular somando ao diagnóstico convencional já existente” (Dr^a. Izilda Cardinali - Doutora pela Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp e patologista do Centro Infantil Boldrini).

DISCUSSÃO

Através da revisão literária, compreendido no espaço de tempo de aproximadamente oito meses, encontramos artigos e trabalhos publicados desde 1982 até o mais recente em 2017, retirados do banco de dados Google acadêmico no idioma em português, foram encontrados os seguintes trabalhos enumerados a seguir:

TRABALHOS ENCONTRADOS					
	TÍTULO	TIPO DE ESTUDO	AUTORES	INSTITUIÇÃO	ANO
1	Efeito In Vitro dos Ácidos Etilmalônicos e Metilsucínico sobre as atividades enzimáticas dos Complexos da cadeia respiratória mitocondrial e da creatina quinase em córtex cerebral, músculo esquelético e músculo cardíaco de ratos jovens.	Trabalho de conclusão de curso (dissertação de mestrado para título de Mestre em Ciências Biológicas – Bioquímica na Universidade Federal do Rio Grande do Sul)	Barschak AG	URFS	2003
2	Espectrometria de massa por tempo de voo com fonte MALDI acoplada a um acelerador de partículas. 2014. 80f.	(Dissertação de mestrado para obtenção do título de mestre em Ciências –	Cunha JA	Universidade de São Paulo. Instituto de Física).	2014

3	Acidemia Metilmalônica: Um estudo de caso. 2017. 20f.	Trabalho de conclusão de curso para obtenção de título de bacharel em Nutrição, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.	Dalbelo; Nogueira.	Unicesumar – Centro Universitário de Maringá.	2017
4	Procedimentos Laboratoriais para Diagnóstico de Doenças Raras associadas a Anomalias Congênitas na Tabela SUS -	Relatório nº 109;	DGITS/SCTI E. Ministério da Saúde; Carlos, 2014.	Ministério da Saúde - Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos no SUS (CONITEC)	2014
5	Publicação no Diário Oficial da União: D.O.U. Nº 22, de 31 de janeiro de 2014, pág. 70.		Augusto Grabojs Gadelha;		2014
6	Espectrômetro de massa: um novo instrumento analítico para o laboratório clínico	Editorial	Fonseca AA	Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial; Volume 42, número 6.	2006
7	Neurotoxicidade Neonatal do Metilmalonato é suficiente para iniciar déficit de memória em camundongos: envolvimento de marcadores inflamatórios e apoptóticos. 2017. 92f..	Tese de Doutorado	Gabbi P	Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul.	2014
8	O papel da amônia sobre as alterações comportamentais, neuroinflamação e apoptose em um modelo experimental de acidemia metilmalônica. 2017. 133f.	Tese de Doutorado	Gabbi P	Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul.	2017
9	Efeito genotóxico in vivo do ácido metilmalônico em cérebro e rim de ratos. 2011. 69f.	Trabalho de conclusão de curso (dissertação de mestrado para título de Mestre em Ciências da Saúde) –	Pont HSD	Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.	2011

10	Análise quantitativa de aminoácidos por HPLC em sangue e urina coletados em papel-filtro no período neonatal: validação de método, estabelecimento de valores de referência e aplicação prática em erros inatos do metabolismo. 2017. 109f.	Trabalho de conclusão de curso (dissertação de mestrado para título de Mestre)	Nolasco DM	UFMG, Belo Horizonte.	2017
11	Revista Medica da UFPR. Acidemia Metilmalônica- Relato de Caso– Julho/Setembro - 2017. Rev. Med. UFPR 4(3): 142-145.	Relato de Caso - Acidemia Metilmalônica	Nora et al.	UFPR	2017
12	Detecção de Erros Inatos do Metabolismo em Pacientes de Risco por Espectrometria em Tandem no HCPA. LUME – Repositório Digital UFGRS;	Palestra em Salão de Extensão	Siebel RS	UFGRS	2009
13	Aplicações da Espectrometria de Massas e da Cromatografia Líquida na Caracterização Estrutural de Biomoléculas de Baixa Massa Molecular. 185f	. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Bioquímica	Souza LM	Universidade Federal do Paraná – UFP.	2008
14	Dificuldades no Diagnostico e Manejo da Acidemia Metilmalônica – Relato de caso sugestivo.	Manejo da Acidemia Metilmalônica	Trindade et al.	Revista de Pediatria SOPERJ, v.1, n°, p. 28-34, jun. 2009.	2009
15	Acidúrias orgânicas: diagnóstico em pacientes de alto risco no Brasil;	Diagnóstico Acidúrias orgânicas:	Wajner et al.	Jornal de Pediatria - volume 77 n°05, 2001.	2001
16	Departamento de Química USP, Laboratório de Espectrometria de Massas – LabMass, 2018. Disponível em: 02/11/2020 < http://quimica.ffclrp.usp.br/central_analitica/espectro_massas/ >	-	-	Departamento de Química USP, Laboratório de Espectrometria de Massas - USP	2020
17	Aciduria Metilmalonica, Guia Metabolico, 2015. Disponível em: 15/03/2020 < https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/ecm/aciduria-metilmalonica >	-	Hospital São João de Deus Barcelona	Associação Portuguesa CDG e outras Doenças Metabólicas Raras (APCDG-DMR) - 2015	2015
18	Introdução a espectrometria de massa. Disponível em: 01/09/2020 < www.ufjf.br/quimicaead/files/2013/05/8-Espectrometria-de-massa.pdf >.	Espectrometria de massa.	-	UFJF	2013

19	O que é espectrometria de massa. Disponível em: 05/10/2020 < www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Mass-Spctrmtry-(Portuguese).aspx >.	Espectrometria de massa.	-	Novidades Médicas e Comunidade Científica.	-
20	Erros Inatos do Metabolismo. Exames laboratoriais para o diagnóstico de EIM. Disponível em: 27/10/2020 < https://www.fleury.com.br/medico/manuais-diagnosticos/erros-inatos-do-metabolismo/exames-laboratoriais >	Exames laboratoriais para o diagnóstico de EIM	-	Fleury.	-

No início do estudo abordamos de uma forma geral os Erros Inatos do Metabolismo, que de acordo com Nolasco (2017) podem ser classificados, sobre a perspectiva fisiopatológica, sendo estas alterações do metabolismo divididas em três grupos, com base nos seus fenótipos clínicos: Distúrbios que dão origem à intoxicação; Distúrbios no metabolismo energético; e Distúrbios envolvendo moléculas complexas. Sendo que os impactos causados no organismo por estas anomalias podem variar de forma ampla entre os afetados.

A pesquisa demonstrou que as acidemias orgânicas que é uma EIM, exemplificada no estudo pela metilmalônica (AMM), podem causar doenças graves se não tiver um diagnóstico e um tratamento precoce.

Trindade (2009) nos diz que a Acidemia Metilmalônica é uma desordem metabólica com um defeito bioquímico que se apresenta no metabolismo do proprianato durante a conversão do ácido metilmalônico para o ácido succínico. Há 2 tipos de anomalias principais: o defeito das coenzimas (metil B-12 e 5-desoxiadenosil –B12) e na apoenzima (metilmalonil-mutase).

Barschak (2003) complementa alertando que se o diagnóstico e o tratamento não forem conduzidos de forma adequada, os distúrbios relacionados aos ácidos orgânicos costumam ser fatais e os pacientes que conseguem sobreviver ficam com seqüelas graves. E essas ocorrências podem ser facilmente confundidas com septicemia, já que ambos os casos se caracterizam por acidose e encefalopatia aguda.

Segundo Pont (2011) é geralmente na primeira semana de vida que aparecem os primeiros sinais clínicos, principalmente os relacionados ao sistema neurológico. O paciente pode apresentar letargia, hipotonia, retardo mental e psicomotor, alterações comportamentais e neuropsiquiátricas (déficit de atenção, quadros de agressividade e comportamento autista), atrofia cerebral, apatia, coma, anormalidades no eletroencefalograma e convulsões, dentre outros sintomas.

Nas observações referentes ao presente trabalho temos como destaque a concordância dos autores correlacionados à importância do diagnóstico precoce ao início imediato do tratamento nas acidemia.

Utilizando como ferramenta para este diagnóstico a espectrometria de massa, que conforme Siebel (2009) realiza a medição das acilcarnitinas (AC) e dos aminoácidos (AA) pela Espectrometria de Massas em Tandem (MS/MS) permitindo com maior precisão a descoberta precoce no que se refere aos erros inatos do metabolismo (EIM), sendo então considerada na medicina como uma ferramenta fundamental para o diagnóstico.

Sendo assim, a revisão da literatura demonstrou que os autores estão de acordo com o diagnóstico precoce e o início imediato do tratamento da acidemia, e utilização da tecnologia de Espectrometria de massa nos diagnósticos. Concluimos também que a cromatografia é uma técnica que trabalha junto com a espectrometria de massa tandem, mas não nos aprofundamos nessa técnica, restando como indicação para estudos futuros.

Não foram encontrados trabalhos contrários a utilização de espectrometria de massa Tandem no diagnóstico das EIM- Acidemias orgânicas ou de qualquer outra doença. Portanto julgamos que o trabalho alcançou o objetivo específico de correlacionar a utilização da espectrometria em tandem para obtenção de um diagnóstico mais rápido com precisão, a fim de tornar célere o processo e conseqüentemente o início do tratamento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da espectrometria de massa se mostra como uma ferramenta fundamental para o diagnóstico laboratorial das patologias pertencentes ao grupo EIM, dentre outras, devido a sua alta sensibilidade que permite a análise de compostos individuais inserido em estruturas complexas e pela utilização de amostras simples. Sua utilização no diagnóstico neonatal e pré-natal proporciona a possibilidade de um melhor prognóstico, minimizando os riscos e sequelas devido ao início mais rápido do tratamento. Sendo fundamental no diagnóstico das acidemias orgânicas, entre estas a Acidemia Metilmalônica, pois o tempo é fundamental na descoberta e tratamento destas patologias que podem ser fatais.

REFERÊNCIAS

- Aciduria Metilmalônica (2015). Guia Metabólico. Disponível em: 15/03/2020 <<https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/ecm/aciduria-metilmalonica>>
- Augusto GG (2014). Publicação no Diário Oficial da União: D.O.U. Nº 22, de 31 de janeiro de 2014, 70p.
- Barschak AG (2003). Efeito *In Vitro* dos Ácidos Etilmalônicos e Metilsucínico sobre as atividades enzimáticas dos Complexos da cadeia respiratória mitocondrial e da creatina quinase em córtex cerebral, músculo esquelético e músculo cardíaco de ratos jovens. 127f. Trabalho de conclusão de

curso (dissertação de mestrado para título de Mestre em Ciências Biológicas – Bioquímica na Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

- Cunha JA (2014). Espectrometria de massa por tempo de voo com fonte MALDI acoplada a um acelerador de partículas. 80f (Dissertação de mestrado para obtenção do título de mestre em Ciências – Universidade de São Paulo. Instituto de Física). São Paulo, SP.
- Dalbello N (2017). Acidemia Metilmalônica: Um estudo de caso.. 20f (Trabalho de conclusão de curso para obtenção de título de bacharel em Nutrição, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Unicesumar – Centro Universitário de Maringá). Maringá, PR.
- DGITS/SCTIE (2014). Ministério da Saúde; Procedimentos Laboratoriais para Diagnóstico de Doenças Raras associadas a Anomalias Congênitas na Tabela SUS - Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos – DGITS/SCTIE. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC) - Relatório nº 109; CARLOS.
- Fleury (2020). Erros Inatos do Metabolismo. Exames laboratoriais para o diagnóstico de EIM. Disponível em: 27/10/2020 <<https://www.fleury.com.br/medico/manuais-diagnosticos/erros-inatos-do-metabolismo/exames-laboratoriais>>
- Fonseca AA (2006). Espectrômetro de massa: um novo instrumento analítico para o laboratório clínico – Editorial; *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42(6).
- Gabbi P (2017a). Neurotoxicidade Neonatal do Metilmalonato é suficiente para iniciar déficit de memória em camundongos: envolvimento de marcadores inflamatórios e apoptóticos. 92f. – Tese de Doutorado Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul.
- Gabbi P (2017b). O papel da amônia sobre as alterações comportamentais, neuroinflamação e apoptose em um modelo experimental de acidemia metilmalônica. 133f. – Tese de Doutorado Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul.
- Ministério da Saúde (2020). Doenças Raras. Disponível em: 27/10/2020 <<http://conitec.gov.br/images/Incorporados/DoencasRaras-EixosI-II-III-FINAL.pdf>>
- Nolasco DM (2017). Análise quantitativa de aminoácidos por HPLC em sangue e urina coletados em papel-filtro no período neonatal: validação de método, estabelecimento de valores de referência e aplicação prática em erros inatos do metabolismo. 109f. Trabalho de conclusão de curso (dissertação de mestrado para título de Mestre) – UFMG, Belo Horizonte.
- Nora et al (2017). Acidemia Metilmalônica- Relato de Caso– Julho/Setembro - 2017. *Rev. Med. UFPR* 4(3): 142-145.
- Novidades Medicas e Comunidade Cientifica (2020). O que é espectrometria de massa. Disponível em: 05/10/2020 <[www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Mass-Spctrmetry-\(Portuguese\).aspx](http://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Mass-Spctrmetry-(Portuguese).aspx)>.

- Pont HSD (2011). Efeito genotóxico *in vivo* do ácido metilmalônico em cérebro e rim de ratos. 69f. Trabalho de conclusão de curso (dissertação de mestrado para título de Mestre em Ciências da Saúde) – Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.
- Siebel RS (2009). Detecção de Erros Inatos do Metabolismo em Pacientes de Risco pó Espectrometria em Tandem no HCPA. LUME – Repositório Digital UFRGS; (Palestra em Salão de Extensão 2009) – Porto Alegre - RS.
- Souza LM (2008). Aplicações da Espectrometria de Massas e da Cromatografia Líquida na Caracterização Estrutural de Biomoléculas de Baixa Massa Molecular. 185f. Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Bioquímica – Universidade Federal do Paraná – UFP.
- Trindade ROC et al (2009). Dificuldades no Diagnostico e Manejo da Acidemia Metilmalônica – Relato de caso sugestivo. *Revista de Pediatria SOPERJ*, 1: 28-34.
- UFJF (2013). Introdução a espectrometria de massa. Disponível em: 01/09/2020 <www.ufjf.br/quimicaead/files/2013/05/8-Espectrometria-de-massa.pdf>.
- USP (2018). Laboratório de Espectrometria de Massas – LabMass. Departamento de Química. Disponível em: 02/11/2020 <http://quimica.ffclrp.usp.br/central_analitica/espectro_massas/>
- Wajner M et al (2001). Acidúrias orgânicas: diagnóstico em pacientes de alto risco no Brasil; *Jornal de Pediatria*, 77(5).

CAPÍTULO IV

INFECÇÕES HOSPITALARES CORRELACIONADAS AS PRINCIPAIS BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

Vagner Braz dos Santos

Danielle Alves Ferraz dos Santos Albernaz

INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares certamente representam um problema grave de saúde pública no Brasil, bem como no resto do mundo. Observa-se que tais infecções são uma das grandes causas da mortalidade e morbidade relativa aos pacientes que passaram por cirurgias na qualidade de tratamento (Anvisa, 2010).

A infecção hospitalar engloba qualquer que seja o processo infeccioso posterior a admissão do paciente no hospital e que se manifeste ao longo de sua estadia e, em certos casos, alguns processos infecciosos que se manifestem após a alta do paciente (Anvisa, 2010).

Em geral, as infecções hospitalares resultam de microrganismos de baixa virulência, presentes tanto nos ambientes hospitalares quanto na microbiota bacteriana normal do hospedeiro (Anvisa, 2007).

Pesquisas indicam que determinadas bactérias em pacientes que se encontrem vulneráveis podem causar infecções graves, bem como elevar muito o coeficiente de mortalidade e a média de permanência dos pacientes no hospital (Anvisa, 2013).

Verificou-se ao redor do mundo que uma grande parte dos casos de óbito, a morte do paciente ocorre justamente como consequência de infecções por bactérias multirresistentes, sobretudo em nações subdesenvolvidas. E a razão disso é que em muitos desses países não existem técnicas apropriadas para a identificação precoce desses organismos, bem como não possuem muitos antibióticos alternativos para tratar de bactérias multirresistentes (Anvisa, 2013).

O surgimento desses microrganismos multirresistentes no geral, decorre da utilização indiscriminada de quantidades muito grandes de antibióticos sem que estes sejam de fato necessários, muitas vezes também empregados incorretamente, o que seleciona e promove as bactérias mais resistentes. As bactérias multirresistente, além de mais resistentes a diversos antibióticos, também podem desenvolver colônias em instrumentos médicos, estas colônias formam biofilmes bacteriano nos instrumentos médicos e aparelhos hospitalares. Por esta razão, se faz necessário programas de promoção à saúde visando o uso

racional dos antibióticos e a presença do farmacêutico é sem dúvida muito relevante, pois este profissional possui a chave que pode minimizar drasticamente esse tipo de problema (Anvisa, 2013).

Controlar as infecções hospitalares junto com médicos, construindo uma equipe multidisciplinar em ação a uso indiscriminado dos antibióticos e orientar os pacientes ao uso correto de antimicrobianos. Debater com as equipes multidisciplinar das interações medicamentosas pelo uso em altas doses de alguns antimicrobianos.

O principal objetivo deste trabalho é revisar critérios de utilização adequada de antimicrobianos para os pacientes hospitalizados e da comunidade, bem como estimular a criação de protocolos de rastreabilidade para bactérias multirresistentes e avaliar a prescrição dos medicamentos durante todo o período de internação dos pacientes (Anvisa, 2013).

REVISÃO DA LITERATURA

Infecção relacionada a assistências à saúde (IRAS)

As Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são um grave problema de saúde pública em todo o mundo, pois são os eventos adversos associados à assistência à saúde mais frequentes e apresentam uma alta morbidade e mortalidade repercutindo diretamente na segurança do paciente e por sua vez na qualidade dos serviços de saúde (Anvisa, 2016).

A definição dos critérios diagnósticos de infecção para a vigilância epidemiológica das IRAS em serviços de saúde permite a harmonização necessária para identificar o caso, coletar e interpretar as informações de modo sistematizado pelos profissionais e gestores do sistema de saúde. São esses critérios que possibilitam a identificação do perfil endêmico da instituição e a ocorrência de eventos, assim como as situações infecciosas de interesse para o monitoramento dos riscos, a partir de informações de qualidade, fidedignas e representativas da realidade nacional (Anvisa, 2017).

As IRAS consistem em eventos adversos que ainda persistem nos serviços de saúde. Essas infecções levam a consideráveis elevações dos custos no cuidado do paciente, além de aumentar o tempo de internação, a morbidade e a mortalidade nos serviços de saúde do país (Anvisa, 2017).

Segundo a literatura, existem várias Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, assim como a pneumonia, infecções do trato urinário, infecções da corrente sanguínea, infecções de sítio cirúrgico, Infecção do trato respiratório, entre outras (Anvisa, 2013; 2016; 2017).

Uso inadequado de antimicrobianos

O uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar é reconhecidamente um importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência microbiana. A resistência microbiana é um grave problema mundial, estando associada ao aumento do

tempo de internação, dos custos do tratamento e das taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes. A dificuldade de se escolher uma terapia apropriada pode levar a uma terapêutica empírica de largo espectro (uso de carbapenemas, glicopeptídeos, entre outros), e a cobertura bacteriana, excessivamente ampla, também pode estimular o desenvolvimento da resistência aos antimicrobianos (Anvisa, 2013; Ribeiro et al., 2015).

Segundo Wannmacher (2004) mais de 50% das prescrições médicas se mostram inapropriadas, dois terços dos antibióticos são usados sem prescrição médica em muitos países, 50% dos consumidores compram medicamento para um dia e 90% compram para um período igual ou inferior a 3 dias e mais de 50% do orçamento com medicamentos são destinados aos antimicrobianos. A Diretoria Colegiada da Anvisa, através da RDC nº 44, de 26 de outubro de 2010 em seu Art. 2º determinou que a dispensação de medicamentos à base de antimicrobianos de venda sob prescrição, somente poderá ser efetuada mediante receita de controle especial, esta conduta visa minimizar o livre acesso a essas drogas para que de forma indireta possa reduzir a resistência microbiana (Anvisa, 2010).

Para o Uso Racional de Medicamentos através da terapêutica, a prescrição ou receita médica constitui um instrumento essencial, pois deve conter as informações necessárias sobre o medicamento: doses, frequência e duração do tratamento adequado para o problema do paciente. Trata-se, portanto, de um importante fator que possibilita avaliar a qualidade e quantidade do consumo de medicamentos, embora o ato da prescrição sofra influências de fatores diversos que vão desde o conhecimento do prescrito e das expectativas do paciente a indústria farmacêutica (Oliveira et al., 2011).

Aproximadamente 50% das prescrições médicas de antimicrobianos são feitas de forma inadequada e o uso excessivo destes fármacos estão associados à emergência e seleção de cepas de bactérias resistentes e um alto custo hospitalar concomitantemente com altos percentuais da morbi-mortalidade (Anvisa, 2010).

No âmbito hospitalar, médicos com menor experiência clínica tomam com mais frequência as decisões terapêuticas e se sentem pressionados por casos agudos de alta complexidade. E para evitar o desastre nas 24 horas seguintes, fazem uso de antibióticos de amplo espectro ou uso de vários antibióticos de pequeno espectro em associação. Identifica-se também uma grande repetição automática das prescrições, fazendo com que a duração de um curso de antibióticos se prolongue além do racional. Fatores como a gravidade das infecções favorece a utilização de terapia empírica que pode levar à seleção de cepas resistentes, tanto de microrganismos bacterianos quanto de microrganismos fúngicos (Rodrigues; Bertoldi, 2010; Oliveira et al., 2011).

De acordo com Ribeiro et al (2015) no âmbito da terapia antimicrobiana, a identificação do foco infeccioso, a correta coleta do material biológico e o isolamento e o perfil de sensibilidade do microrganismo fornecem informações valiosas para a instituição do regime terapêutico. E segundo ele,

torna-se cada vez mais importante a presença de uma equipe interdisciplinar trabalhando na promoção do uso racional de antimicrobianos.

Principais bactérias multirresistentes

Os microrganismos multirresistentes de importância epidemiológica mais comumente considerado em cultura em vigilância são: *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE), *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina/meticilina (MRSA), enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (CRE) *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC), *Pseudomonasaeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* MDR (“*Multidrug-resistant*”) Outros agentes podem ser monitorados em outros ambientes e situações epidemiológicas que justifiquem culturas de vigilância, como pneumococos resistentes à penicilina (Oplustil et al., 2012).

As bactérias multirresistentes (BMR) normalmente são encontradas em ambiente hospitalar devido à pressão seletiva dos antimicrobianos utilizados em larga escala, mas também podem ocorrer em serviços de saúde extra-hospitalares. A existência destes patógenos são capazes de fazer parte da flora entérica e cutânea, associada a procedimentos utilizados para assistência e promoção da saúde, como cateteres, aumentando risco da ocorrência de infecções por BMR. Além disso, fatores como longa permanência em serviços de saúde, complexidade da assistência e maior longevidade da população também contribuem para a ocorrência de infecção e colonização por BMR. Dessa forma, a ocorrência de BMR em IRAS representa um problema de saúde pública, com peculiaridades no seu diagnóstico, controle da transmissão e tratamento adequado (SAÚDE, 2016).

A resistência microbiana é um fenômeno mundial, que ocorre de forma natural, aonde os microrganismos vêm desenvolvendo resistência a maior parte dos antimicrobianos indicados para o seu tratamento. As bactérias são consideradas Multirresistentes (MR) observando critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Atualmente, as BMR estão classificadas em três categorias: MDR (“*Multidrug-resistant*”), XDR (“*Extensivelydrug-resistant*”) e PDR (“*Pandrug-resistant*”) (Hospital Universitario Regional De Maringa-Ccih Microorganismo Multirresistente 2013-2014). Tabela 1 Resistencia dos Antimicrobianos, encontra-se uma lista com as bactérias gram-negativas e na Tabela 2, uma lista com as bactérias gram-positivas.

Tabela 1. Resistencia Dos Antimicrobianos Gram-Negativos. Fonte: Guia de Antimicrobianos – Unimed Londrina 2016.

GRAM NEGATIVO ENTEROBACTERIAS MULTIRRESISTENTES	ANTIMICROBIANOS RESISTENTES
<i>Klebsiella spp, Escherrichia coli, Proteus mirabillis, Citrobacter spp, Enterobcater</i>	-Carbapenes (Imipenem ,Meropenen e Ertapenem), Ou Cefalosporinas de 3ª ou 4ª geração ou Monobactâmicos -Carbapenem ou Cefalosporina de 4ª geração

<i>spp, Serratia spp, Providencia spp, Morganella spp</i>	
<i>Pseudomonas spp e Acinetobacter spp com multidrogarresistência (MR)</i>	-Carbapenens (Imipenem, Meropenem e Ertapenem)
<i>Pseudomonas spp e Acinetobacter com Extensiva Resistência</i>	-Carbapenens (Imipenem, Meropenem e Ertapenem, Ceftazidima, Cefepime Piperaciclina / tazobactam, Ciprofloxacina e Levofloxacina
<i>Pseudomonas spp e Acinetobacter PAN-resistência</i>	-Carbapenens (Imipenem, Meropenem e Ertapenem, Ceftazidima, Cefepime Piperaciclina / tazobactam, Ciprofloxacina e Levofloxacina, Aminoglicosídeos, Polimixinas, Ampicilina Sulbactam (só Acinetobacter) Tigeciclina (só Acinetobacter e Enterobactérias)
Não fermentadores: <i>Burkholderia spp e Stenotrophomonas spp</i>	Todos são considerados naturalmente Multirresistentes. Independente de antibiograma
<i>Salmonella / Shigella</i>	Quinolona

Tabela 2. Resistência dos Antimicrobianos Gram-Positivos. Fonte: Guia de Antimicrobianos – Unimed Londrina 20.

GRAM POSITIVO	ANTIMICROBIANOS RESISTENTES
<i>Staphylococcus aureus</i>	-Oxacilina (MRSA), glicopeptídeos: Vancomicina (VRSA)
<i>Estafilococos coagulase negativa</i>	Oxacilina / glicopeptídeos
<i>Enterococcus spp</i>	Glicopeptídeos (VRE)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Penicilina / cefotaxima / levofloxacina / meropenem
<i>Streptococcus não pneumoniae</i>	Penicilina / glicopeptídeos / macrolídeo

A Organização Mundial de Saúde (OMS) veio a público para chamar a atenção do mundo a respeito da ameaça causada pelas bactérias multiresistentes à ação dos antibióticos. A entidade divulgou uma lista com doze famílias de microrganismos considerados de alto risco e contra os quais as opções terapêuticas estão se esgotando.

Os critérios para a seleção dos patógenos na lista foram: letalidade as infecções que causam; se o seu tratamento requer longa estada hospitalar; com que frequência eles são resistentes aos antibióticos existentes quando em casos de infecções comunitárias; como eles se espalham facilmente entre os animais, aos seres humanos, e de pessoa para pessoa; se eles podem ser prevenidos através de uma boa higiene (IBSP, 2017).

Em geral as bactérias classificam-se como resistentes as que crescem “in vitro”, nas concentrações médias que os antimicrobianos atingem no sangue, quando administrados por via oral. A resistência

bacteriana pode ser de forma natural ou adquirida. A natural corresponde a uma característica de espécie bacteriana, quando estes microrganismos são naturalmente resistentes a certo tipo de antibiótico. Este processo é decorrente da ausência de estruturas de atuação de antimicrobianos ou a impermeabilidade, por parte de estruturas periféricas das bactérias. A resistência adquirida ocorre por mecanismos genéticos diversos, tais como: produção de enzimas inativadoras, interferência com a entrada e acúmulo de droga na bactéria, alteração do receptor para ação da droga, via metabólica alternativa. É originada através de uma alteração a nível genético da célula, de natureza cromossômica pelos processos de mutação, transdução e transformação ou extracromossômica (plasmidial) (FIO, Fernando de Sá Del. Resistência bacteriana. Disponível em: Acesso em: 02 nov. 2011.)

Bactérias gram-negativas

Esta família engloba vários gêneros e espécies de bastonetes Gram-negativos. Embora possam ser encontrados amplamente na natureza, a maioria é habitante do intestino de animais e dos homens. Seu diagnóstico é pautado na coprocultura, identificação bioquímica e sorológica de modo geral. Sua prevenção está na manipulação e preparo correto de alimentos, bem como a ingestão de água fervida e filtrada (Molinaro et al., 2009).

A família Enterobacteriaceae está envolvida em quase todas as infecções adquiridas em Unidade de Tratamento intensivo (UTI), particularmente infecções respiratórias e infecções urinárias. São relatadas em muitos hospitais taxas de resistência elevada à quinolonas, beta-lactâmicos e aminoglicosídeos, em geral, por produção de enzimas beta-lactamases. Os principais agentes deste grupo são: *Enterobacter spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* *Proteus spp* (Anvisa,, 2007).

Têm particular importância os agentes que produzem beta-lactamases de espectro ampliado ESBL, principalmente *Klebsiella spp.*, e *E. coli* - 40% a 50% e 10%, respectivamente em cepas isoladas de hospitais brasileiros (Anvisa, 2007).

Carbapenema ou Carbapenem são classe de Antibiótico beta-lactâmicos com um espectro bactericida muito amplo e uma estrutura a qual propicia uma alta resistência a beta-lactamases (enzima produzida por bactérias que podem inibir a ação das penicilinas). São fármacos cruciais no tratamento de infecções potencialmente fatais que são geralmente associadas à medicina mais atual, tais como, transplantes de órgãos, hospitalizações em unidade de terapia intensiva (UTI) e procedimentos cirúrgicos complexos. Esta classe de antimicrobiano possui um espectro de ação ampliado, demonstrando atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, incluindo espécies bacterianas anaeróbias. Devido a sua estabilidade frente às β -lactamases, enzimas frequentemente detectadas em enterobactérias, os

carbapenêmicos apresentam alta eficácia no controle de infecções causadas por enterobactérias quando comparados a outros β -lactâmicos (Nicolau, 2008; Nordmann et al., 2012).

Escherichia coli

E. coli faz parte da microbiota do intestino em humanos e animais. No entanto, é a causa mais frequente de infecções comunitárias e hospitalares e envolve diversas infecções como: infecções do trato urinário, infecção da corrente sanguínea, infecções intra-abdominais, como peritonite e com infecções cutâneas e de tecidos moles, meningite em neonatos, septicemia e outras. Sua presença em água pode indicar contaminação fecal (Molinero et al., 2009).

Escherichia coli pode apresentar resistência a várias drogas antimicrobianas tais como: Cefalosporinas de terceira geração, Penicilinas (ampicilina ou amoxicilina) e fluoroquinolonas. Essa resistência pode ser devida a vários mecanismos de resistência aos antimicrobianos, principalmente a produção de enzimas como a beta-lactamases que estão envolvidas em um dos mais comuns mecanismos de hidrólises aos antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos em bactérias Gram-negativo clinicamente importante (Anvisa, 2007; Oplustil et al., 2012).

A resistência às cefalosporinas de terceira geração é conferida, principalmente, por uma enzima conhecida como beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs). Estas enzimas são capazes de destruir muitos antimicrobianos beta-lactâmicos. ESBLs são transmissíveis entre bactérias das mesmas espécies e até, entre espécies bacterianas distintas. *E. Coli* que possuem esta enzima são geralmente mais resistentes a vários medicamentos antibacterianos (Anvisa, 2007; WHO, 2014).

Segundo com a *World Health Organization* (2014), os carbapenemos geralmente permanecem a única opção de tratamento disponível para Infecções. Uma ameaça recentemente emergente é a resistência ao carbapenem produzidas por algumas cepas de *E. coli* mediada por metallo-betalactamases, o que pode conferir resistência a praticamente todos os medicamentos antibacterianos beta-lactâmicos disponíveis.

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae é uma espécie de bactéria gram-negativa, encapsulada, anaeróbia facultativa em forma de bastonete. É o mais importante membro do gênero *Klebsiella* e importante membro da Família das enterobactérias. Pode causar pneumonia embora seja mais comum à sua implicação em infecções hospitalares em particular em doente imunologicamente deprimidos como portadores do vírus HIV (Portal Educação, 2012).

Assim como *E. coli*, as bactérias do gênero *Klebsiella* são frequentes colonizadores do intestino em humanos e em outros vertebrados. As infecções por *K. pneumoniae* são particularmente comuns em hospitais entre indivíduos vulneráveis, como lactentes, pacientes com sistemas imunológicos debilitado,

diabetes ou transtornos do uso de álcool e processos invasivos. As infecções mais comuns são: infecções no trato urinário, corrente sanguínea e pneumonia (WHO, 2014).

K. pneumoniae pode produzir uma enzima chamada de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, sendo popularmente conhecida como KPC. Essa enzima pode conferir resistência a vários tipos de antimicrobianos e foi descrita pela primeira vez na Carolina do Norte (EUA), em 1996, sendo posteriormente identificada em vários outros bacilos Gram-negativos, tais como *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *E. coli*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa*, *Salmonella entérica* e *Serratia marcescens* (Oplustil et al., 2012).

O primeiro caso de *K. pneumoniae* produtora de KPC, no Brasil, foi publicado em 2009, descrevendo quatro cepas recuperadas em 2006 de pacientes hospitalizados em UTI de um hospital em Recife. Embora os primeiros relatos brasileiros de cepas produtoras de KPC datem desta época, há evidências de que *K. pneumoniae* produtoras de KPC foram inicialmente isoladas no Brasil em 2005, em São Paulo, como sugere um relatório de vigilância de bactérias Gram negativas resistentes aos carbapenêmicos realizada na região sudeste do Brasil (Pavez et al., 2009).

K. pneumoniae pode apresentar múltipla resistência aos diversos tipos de antimicrobianos, tais como os beta-lactâmicos (penicilinas - ampicilina e amoxicilina, Cefalosporinas e Carbapenêmicos) e fluoroquinolonas (ciprofloxacina). Essa resistência pode ser principalmente através de Transferência de elementos genéticos móveis como transporte de plasmídeos e produção de beta-lactamases localizada na região cromossômica (Anvisa, 2007; WHO, 2014).

Salmonella

Os microrganismos do gênero *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, são móveis, não esporulados e aeróbios facultativos. Estes microrganismos possuem a capacidade de infectar diversas espécies, inclusive o homem, sendo considerada uma das causas mais importantes de toxinfecções alimentares em todo o mundo. Este gênero apresenta mais de 2.500 sorotipos e pertence a duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, que podem ser diferenciadas com base em séries bioquímicas e sorológicas. As salmonelas são isoladas mundialmente, podendo infectar uma grande variedade de hospedeiros, incluindo animais selvagens, domésticos e humanos. A contaminação pela *Salmonella* sp., normalmente, acontece por via oral. Existem também suspeitas de infecção via conjuntivas e pelo trato respiratório superior e membranas mucosas. A doença entérica pode acontecer com a propagação pelo intestino delgado distal e o início do cólon. Um dos fatores que contribuem para a colonização pela *Salmonella* é o desequilíbrio do peristaltismo e da microbiota intestinal (Molinaro et al., 2009; Santos et al., 2015).

A resistência bacteriana aos antimicrobianos varia entre diferentes sorotipos de *Salmonella*. Durante o final da década de 90 e o início dos anos 2000 vários clones de *Salmonella* multirresistentes surgiram e se expandiram em todo o mundo.

Salmonella entérica com o sorotipo *Typhimurium*, possui resistência a cinco antimicrobianos como a ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas e tetraciclina, podem espalhar para os outros sorotipos e adquirir resistência. *Salmonella* entérica multirresistente, sorotipo *Typhimurium*, foi associado a um maior risco de infecção invasiva, maior frequência e duração da hospitalização, doença mais longa e aumento do risco de morte em comparação com infecções causadas por cepas susceptíveis. A Redução da susceptibilidade às drogas oral como ciprofloxacina (fluoroquinolonas) e números crescentes de falhas de tratamento, são motivo de preocupação (WHO, 2014).

S. Typhimurium é o sorotipo mais comum em amostras de aves e suínos, é também o que apresenta maior frequência de resistência, nomeadamente à tetraciclina (83%) e ampicilina (76%), assim como, o maior número de isolados multirresistentes. A multirresistência é um problema emergente. A aquisição de resistência a agentes antimicrobianos de várias classes garante à estirpe bacteriana uma elevada capacidade de sobrevivência frente a diferentes terapêuticas, possibilitando a disseminação destas estirpes entre animais, e animais e humanos (Figueiredo et al., 2013).

Shigella

As bactérias desse gênero causam a disenteria bacilar ou *shigelose* a partir da ingestão de água ou alimentos contaminados. Tem quatro espécies importantes para o homem: *Shigella dysenteriae*, *S. boydii*, *S. flexneri* e *S. sonnei*. Todas são gram-negativas, imóveis, não capsuladas, aeróbias, não fermentam lactose e possuem metabolismo facultativo. Devido à invasão e destruição da mucosa, o paciente pode apresentar disenteria de início súbito, espasmos abdominais seguidos de diarreia e febre, com sangue e muco nas fezes (Molinaro et al., 2009; Portal Educação, 2012).

Anteriormente, as cepas de *Shigella* eram suscetíveis ao cotrimoxazol. No entanto, com o surgimento de cepas resistentes para os antimicrobianos, levou uma mudança nas recomendações de tratamento das doenças causadas por esse microrganismo, principalmente para ciprofloxacina e azitromicina. Unidades genéticas móveis, tais como, plasmídeos, cassetes de genes em integrons e Transposons, são importantes na propagação da resistência aos antimicrobianos como fluoroquinolonas que são determinantes entre isolados de *Shigella*, bem como em outras enterobactérias, como *Klebsiella* e *E. coli* (WHO, 2014).

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa é um bacilo gram-negativo não fermentador de glicose, estritamente aeróbio, não forma esporos e é móvel devido à presença de um único flagelo. É uma bactéria ubíqua que sobrevive sob condições nutricionais mínimas e toleram grandes variações de temperatura, sendo encontrada com frequência em ambientes naturais (solo, plantas, frutas e vegetais) e hospitalares (água, desinfetantes, equipamentos e utensílios).

Esta bactéria faz parte da microbiota do trato gastrointestinal e da pele humana. Embora raramente possa causar patologias em indivíduos saudáveis, pode comporta-se como patógeno oportunista em indivíduos imunocomprometidos, sendo um problema em ambientes hospitalares. *P. aeruginosa* é uma bactéria altamente oportunista, invasiva e toxigênica, apresentando fatores de virulência capazes de dominar o sistema imune.

Outra característica marcante desta espécie é sua capacidade de persistir por longos períodos em ambientes adversos e desenvolver resistência aos antimicrobianos. *P. aeruginosa* está sob contínua pressão seletiva em ambientes hospitalares e é considerada pela comunidade científica internacional um patógeno multirresistente. O desenvolvimento de diferentes mecanismos de resistência tem um impacto clínico considerável já que compromete a eficácia de quase todas as drogas utilizadas como tratamento contra *P. aeruginosa*, acarretando um alto custo da terapêutica dos pacientes infectados, além do aumento da duração da hospitalização e da mortalidade (Almeida et al., 2012; Sargi et al., 2013; Santos et al., 2015).

P. aeruginosa podem expressar múltiplos mecanismos de resistência simultaneamente. Dentre os mecanismos de resistência aos β -lactâmicos, o mais importante é a produção de enzimas β -lactamases, no entanto, a resistência também pode ser ocasionada pela hiperexpressão de sistemas de efluxo, pela alteração da permeabilidade da membrana e pela síntese de proteínas de ligação à penicilina (PBPs) com baixa afinidade por β -lactâmicos. Atualmente, vários grupos e classes de β -lactamases vêm sendo descritos e um número significativo das diversas classes é encontrado em *P. aeruginosa* (Santos et al., 2015).

P. aeruginosa podem apresentar resistência a vários antimicrobianos, tais como: Beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e polimixinas. As β -lactamases são capazes de inativar os antimicrobianos β -lactâmicos pela quebra do anel β -lactâmico, rompendo sua ligação amida, de forma que os produtos obtidos deixam de possuir atividade antibacteriana. A hidrólise dos antibióticos β -lactâmicos ocorre pela formação de uma ligação éster entre o sítio ativo de serina (ou com íons de zinco, no caso das metalo- β -lactamases) da enzima β -lactamase e o anel β -lactâmico do antimicrobiano. Os mecanismos mais comuns de resistência adquirida pelos aminoglicosídeos são a atividade de enzimas modificadoras, sistemas de efluxo ativo e redução da permeabilidade da célula bacteriana. Pode ocorrer, ainda, alteração dos ribossomos por mutação, que reduz sua afinidade para esses antibióticos, e proteção ribossomal pela

metilação sítio-específica da subunidade 16S do rRNA (RNA ribossômico), realizada por enzimas metilases 16S rRNA.

Os principais mecanismos de resistência às fluoroquinolonas em *P. aeruginosa* se baseiam em alterações na DNA-girase e/ou na topoisomerase IV (alvos das fluoroquinolonas), provocadas por mutações cromossômicas nos genes que as codificam, e em mutações nos genes que regulam a expressão dos sistemas de efluxo. A resistência às polimixinas pode ser provocada por mutações que alteram a constituição da membrana externa da bactéria, através de redução de proteínas específicas da membrana externa, redução do conteúdo de íons de magnésio e cálcio e alterações lipídicas (Anvisa, 2007; Almeida et al., 2012; Oplustil et al., 2012; Sargi et al., 2013; Santos et al., 2015).

Acinetobacter spp

Acinetobacter spp. são cocobacilo gram-negativo, aeróbio restrito, não móvel e um importante patógeno nosocomial oportunista que acomete pacientes imunocomprometidos. É capaz de resistir ao dessecação e a amplas faixas de temperatura e pH (Gusatti et al., 2009). A habilidade do *A. baumannii* de sobreviver em superfícies secas e inanimadas aliada à capacidade em adquirir multirresistência aos antimicrobianos contribui para o tempo de sobrevivência no ambiente hospitalar (Ayan et al., 2003). Estes organismos estão particularmente associados à pneumonia, à septicemia, à meningite e à infecção do trato urinário (Gaynes et al., 2005). *Acinetobacter baumannii* é a espécie mais comum do gênero isolada de amostras clínicas e de ambiente hospitalar. No passado foi considerado de baixa virulência, mas agora é reconhecido como um importante patógeno hospitalar, afetando, mais frequentemente, pacientes criticamente doentes em unidades de tratamento intensivo (Carvalho et al., 2009).

Bactérias gram-positivas

As bactérias Gram-positivas, especialmente os cocos, estão entre os microrganismos mais frequentemente isolados de amostras biológicas humanas em laboratórios de microbiologia (Anvisa, 2007, 2010).

Staphylococcus

O gênero *Staphylococcus* é composto de 37 espécies, 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas (Anvisa, 2007).

Os estafilococos são geralmente encontrados na pele e mucosas do homem e de outros animais. Muitas espécies são isoladas de partes específicas do corpo humano ou de certos animais, por exemplo: *S. auricularis* encontrado como parte da microbiota humana do conduto auditivo e *S. hyicus* causando

dermatite infecciosa em suínos. Os estafilococos são cocos Gram-positivos, podem se apresentar isolados ou aos pares, em cadeias curtas ou agrupados. O aspecto macroscópico da colônia em meio sólido, presença de pigmento e hemólise em ágar sangue de carneiro são características auxiliares na identificação destes microrganismos. São imóveis, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos e produtores de catalase (Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. In: Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Medsi Editora; 2001).

Os Estafilococos são cocos Gram-positivos não esporulados que mais resistem no meio ambiente. Podem sobreviver por meses em amostras clínicas secas, são relativamente resistentes ao calor e podem tolerar uma concentração aumentada de sal. São esféricos, imóveis, a sua morfologia predominante é em cachos irregulares, algumas espécies fazem parte da flora normal da pele e das mucosas dos homens. *S. aureus* pode causar uma variedade de infecções, principalmente na pele, tecido mole, osso e infecções sanguíneas. É a causa mais comum de Infecções pós-operatória Infecções. Algumas cepas de *S. aureus* produzem tóxicos fatores que podem causar uma variedade de sintomas específicos; incluindo síndrome de choque tóxico e intoxicação alimentar (Molinaro et al., 2009; WHO, 2014; Tavares, 2000).

Indivíduos sadios são colonizados intermitentemente por *Staphylococcus aureus* desde a amamentação, e podem albergar o micro-organismo na nasofaringe, ocasionalmente na pele e raramente na vagina. A partir desses sítios, o *S. aureus* pode contaminar a pele e membranas mucosas do paciente, objetos inanimados ou outros pacientes por contato direto ou por aerossol, ocasionando infecções letais por conta dos fatores de virulência ou através de resistência aos antimicrobianos atualmente utilizados (BRASIL, 2013).

Quando a penicilina foi introduzida pela primeira vez teve um bom efeito no tratamento de infecções causadas por *S. aureus*, porém já existiam alguns relatos de cepas resistência a penicilina durante a década de 40. Essa resistência foi mediada pela produção de uma enzima chamada betalactamase, inicialmente conhecidas como penicilinases, que inativa drogas como penicilina, ampicilina e amoxicilina. Na década de 1950, a produção de betalactamases pelos *S. aureus* passou a predominar nas cepas isoladas de pacientes hospitalizados. Em 1960, a metilicina foi lançada no mercado como alternativa terapêutica para cepas produtoras de betalactamases, uma vez que essa droga não sofre ação dessa enzima. Porém, já em 1961, relatos de cepas também resistentes à metilicina passaram a ser descritos como *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina/oxacilina (MRSA) (Hum, 2012; WHO, 2014).

Para o último, o tratamento de último recurso foi glicopeptídeos como a vancomicina (Desde a década de 1950) e teicoplanina, que só pode ser dado por injeção e também precisa de monitoramento cuidadoso para evitar efeitos colaterais adversos (WHO, 2014).

Já foram descritos no Brasil casos de infecções causadas por *Staphylococcus aureus* com sensibilidade reduzida aos antibióticos mais potentes como a Vancomicina, e relatos da capacidade que os *Staphylococcus*

coagulase negativa têm de desenvolver resistência. Recentemente tem sido relatada a emergência de *Staphylococcus aureus* associado a infecções na comunidade com resistência a oxacilina, (ORSA-AC), porém sensível à maioria das classes de antibióticos, exceto a beta-lactâmicos, representados por penicilinas e cefalosporinas, contrapondo ao ORSA hospitalar que é multirresistente (BRASIL, 2013).

Staphylococcus aureus está na lista da OMS entre as 12 bactérias com grandes necessidades de produção de novos antibióticos. Em três categorias de acordo com a urgência da necessidade de novos antibióticos, *Staphylococcus aureus* é prioridade alta, apresenta resistência parcial ou total à Vancomicina (IBSP, 2017.1; Istoé, 2017).

Rotineiramente, o teste da catalase é utilizado para diferenciar os estafilococos (catalase positiva) dos estreptococos (catalase negativa). Entretanto, existem relatos na literatura de *Staphylococcus aureus* catalase negativa relacionados a processos infecciosos, embora raros, descritos em vários países, inclusive no Brasil. A catalase constitui um mecanismo de defesa para a bactéria contra células fagocitárias, porém não é um fator essencial para a sobrevivência do *S. aureus*. A identificação da espécie de estafilococos é baseada em uma variedade de características fenotípicas convencionais. As espécies mais importantes do ponto de vista clínico podem ser identificadas com algumas provas específicas, como pigmentação da colônia, estafilo-coagulase, “fator clumping” ou “fator de agregação”, prova da desoxiribonuclease, resistência à novobiocina, fermentação do manitol, entre outras. A habilidade de coagular o plasma continua sendo o critério mais aceito e utilizado para identificar estafilococos patogênicos associados com infecções agudas, em geral, *S. aureus* em humanos e animais e *S. intermedius* e *S. hyicus* em animais. Identificação em nível de espécie no grupo dos estafilococos coagulase negativa não é realizada rotineiramente no laboratório clínico devido às dificuldades metodológicas e alto custo, sendo sua importância relacionada principalmente com dados epidemiológicos e suspeita de resistência aos glicopeptídeos. Situação especial ocorre com o *S. lugdunensis*, que está associado com endocardite grave e alta mortalidade; neste caso, a identificação da espécie é fundamental para a interpretação do teste de disco difusão para sensibilidade à oxacilina, que é diferente daquela preconizada para os outros estafilococos coagulase negativa (Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenber Pc, WinnWC. IN Diagnostico Microbiologico. 5ºed. Medsi Editora; 2001).

Streptococcus

As bactérias do gênero *Streptococcus* são capazes de causar diversas doenças nos seres humanos. Dentre as mais frequentes estão as infecções do trato respiratório, pele e tecidos moles, endocardites, sepses meningites. *Streptococcus pneumoniae*, o pneumococo, é um dos agentes que mais frequentemente causam doenças invasivas graves, como meningite e bacteremia. Os estreptococos, da família *Streptococcaceae* são caracterizados como cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, não produtores de catalase e de

citocromo-oxidase. Os estreptococos com relevância clínica são homofermentadores e um processo metabólico constituído por uma série de reações químicas sendo o ácido láctico o produto final da fermentação da glicose. Podem produzir hemolisinas, e os tipos de reação hemolítica em meio sólido contendo 5% de sangue de carneiro, descritos a seguir, têm sido utilizados na classificação de estreptococos (Anvisa, 2007).

Streptococcus pneumoniae é conhecida, também, como pneumococcus é o principal agente etiológico de infecções respiratórias adquiridas da comunidade (otite média, sinusites e pneumonias). As pneumonias podem ser acompanhadas de bacteremias, principalmente em pessoas idosas ou muito jovens. Outras infecções graves como meningite, endocardite, peritonites, osteomielite, artrite séptica são também associadas a esse agente. Produtores de alfa-hemólise, apresentam cápsula, em esfregaço corado pelo método de gram podem aparecer de forma agrupada aos pares, são habitante normal do trato respiratório (Anvisa, 2007)

Pneumococos não possuem a enzima catalase a autólise pode ser aumentada pela adição de sais biliares ao meio de cultura. Como são lisados facilmente por detergentes fracos, como a bile, desoxicolato de sódio e optoquina, esta característica é útil para distingui-los de outras bactérias. As colônias de *Streptococcus* β -hemolíticos dos grupos A, C e G são relativamente grandes quando comparadas com as colônias pontuais de outras cepas β -hemolíticas (grupo *S. milleri*). Eventualmente colônias do *S. pyogenes* podem ser mucóides. Quanto às características das células, os pneumococos são Gram-positivos, com morfologia de diplococos lanceolados, ou seja, com as extremidades em ponta de lança ou em chama de vela. Medem 0,5 a 1,25 μm de diâmetro e dispõem-se aos pares (diplococos), em razão de sua divisão em apenas um plano, ou em cadeias curtas. São imóveis (sem flagelos), não formam esporos e podem possuir cápsula, o seu principal fator de patogenicidade. Podem perder a característica de Gram-positivos quando o cultivo ultrapassa a fase logarítmica, período mais ativo do crescimento bacteriano. A cápsula de polissacarídeo que envolve externamente o pneumococo é seu constituinte mais importante, sob vários aspectos. O polissacarídeo capsular (PS) é um determinante essencial para a antigenicidade do pneumococo, e sua diversidade bioquímica induz respostas imunológicas específicas, nas quais se baseia a classificação dos pneumococos em tipos. A diversidade antigênica do PS de *S. pneumoniae* é responsável pela diferenciação desta única espécie em pelo menos 91 sorotipos. A cápsula é o principal fator de virulência destas bactérias, protegendo-as da fagocitose e do reconhecimento pelo sistema imunológico, assim permitindo a sua sobrevivência, multiplicação e disseminação para vários órgãos. A virulência e o poder de invasão do pneumococo variam entre os sorotipos e entre cepas de um mesmo sorotipo, dependendo da quantidade de PS produzido. Apesar do grande número de sorotipos, cerca de 23 deles são os responsáveis pela maioria das doenças pneumocócicas em todo o mundo (Anvisa, 2007)

O primeiro relato de diminuição de sensibilidade do *Streptococcus pneumoniae* à penicilina (PRSP), ocorreu em 1967. Já na Década de 90 alguns países apresentam altas taxas de aumento da resistência aos antimicrobianos, tais como: México, França, Espanha, EUA e China. No Brasil, as taxas de resistência intermediária estão em torno de 20% e de alta resistência, inferior a 5%. A resistência à penicilina resulta de alterações das PBPs, responsáveis pelo alongamento dos fragmentos de peptidoglicano, que estruturam a parede celular bacteriana. São definidos dois grupos dos estreptococos resistentes às drogas; PRSP (*Penicilin resistant Streptococcus pneumoniae*) resistente à penicilina e DRSP (*Drug resistant Streptococcus pneumoniae*) que é resistente a múltiplas classes, com resistência total ou intermediária à penicilina associada à pelo menos um agente antimicrobiano de outra classe (Anvisa, 2007; WHO, 2014).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2007) *S. pneumoniae* apresenta resistência frente a diferentes classes de antimicrobianos, como a penicilina, macrolídeos, tetraciclina, sulfas, fluoroquinolonas, vancomicina e Cloranfenicol.

Enterococcus spp

Enterococcus são cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, que crescem como diplococos de cadeia curta. Causam graus variáveis de hemólise no ágar-sangue. Na sua maioria são sensíveis a penicilina, ampicilina, amoxicilina, e quando resistestes a estes, só são sensíveis aos glicopeptídeos: vancomicina e teicoplanina. É peculiar a situação dos carbapenêmicos, meropenem e imipenem, porque os *enterococosfaecium* podem ser resistentes a eles. São naturalmente resistentes a todas as cefalosporinas, a quinolonas e aos aminoglicosídeos, são sensíveis apenas quando associados a outras drogas. Apresentam resistência natural a clindamicina e a sulfametoxazol + trimetoprim. São colonizantes do trato gastrointestinal e quando causam doenças são frequentes em urina e eventualmente hemoculturas, podendo sempre ser valorizado este achado. Dificilmente são contaminantes (Anvisa, 2007).

Podem apresentar diferentes tipos de hemólises (alfa, beta e gama) e são considerados microrganismos extremamente resistentes, podendo crescer em condições de alta salinidade (pH 9,6) e temperaturas de 10 a 45 graus, bem como detergentes e bile. São patógenos de baixa virulência, mas possuem capacidade de transferir sua resistência através de plasmídeos para outros gêneros bacterianos como *S. aureus* (Molinaro et al., 2009).

A emergência desse patógeno nas últimas duas décadas, entre muitos fatores, se deve em parte à sua resistência intrínseca aos antimicrobianos comumente utilizados, como: aminoglicosídeos, aztreonam, cefalosporinas, clindamicina, oxacilina. *E. faecium* é menos sensível aos antimicrobianos beta-lactâmicos do que *E. faecalis* devido à baixa afinidade das PBPs (proteínas de ligação da penicilina) a esses compostos (Anvisa, 2007, Molinaro et al., 2009).

A resistência dos *Enterococcus* à vancomicina (VRE) está associada às alterações na parede celular (modificação dos precursores de parede bacteriana impedindo a ligação da droga em seu sítio de ação), pode ser mediada por plasmídeos ou cromossomos (Tavares, 2000).

O VRE teve seu primeiro isolamento na década de 80 e foi responsável por mais de 20% das infecções enterocócicas nos EUA. No Brasil, foi descrito pela primeira vez em 1996, em Curitiba. Estudos mostram mais de 15% de resistência à vancomicina em alguns hospitais brasileiros (Anvisa, 2007).

De acordo com a Portaria Anvisa 2.616/98, as unidades que mais apresentam casos de VRE, são unidades de transplantes, oncologia e UTIs. No Brasil, temos casos comprovados de VRE em pacientes de UTIs que coletaram swab retal que foi relacionado à longa permanência na internação e uso prévio de Vancomicina.

Os principais fenótipos de resistência encontrados em VRE são mediados pelos genes VanA, VanB, VanC e os menos frequentes, VanD e VanE (Anvisa, 2007).

Segundo Oplustil, Zoccoli e Barberino (2012) a resistência dos *Enterococcus* aos glicopeptídeos (Vancomicina e teicoplanina) ocorre pela substituição do grupo terminal D-ala-D-ala dos precursores do peptidoglicano por D-alanil- D-lactato (D-ala- D-lac) ou D-alanil- D-serina (D-ala- D-ser), produzindo respectivamente, altos e baixos níveis de resistência. A resistência a baixos níveis de aminoglicosídeos é observada em todas as espécies de *enterococcus* e decorrente do transporte ineficiente do antibiótico através da membrana celular. Os fatores de risco para infecção e colonização por *Enterococcus* são: hospitalização prolongada, uso de antibióticos de amplo espectro, uso de antiácidos, uso de corticóides, gravidade da doença, procedimentos cirúrgicos prévios e baixos níveis de albumina (Hospital Universitario Regional De Maringa Microrganismos Multirresistentes, 2012).

Antimicrobianos

As penicilinas (exceto oxacilina e penicilinas associadas a inibidores da betalactamase) não dão cobertura contra *Staphylococcus* (nem aureus, nem *epidermidis*) (Harbarth et al., 2003).

Cobrem estreptococos do grupo A (faringite, impetigo, erisipela), pneumococos e a maioria dos organismos que causam infecções odontogênicas. Podem ser usados para tratar meningite causada por meningococos ou pneumococos.

Fascíte necrotizante / síndrome do choque tóxico: usar clindamicina (penicilina menos eficaz devido ao efeito inóculo)

Pneumococos com resistência plena às penicilinas no Brasil (multirresistentes) Projeto SENTRY: 2,3%; Projeto SIREVA: 1%; Tratamento: vancomicina com ou sem cefotaxima ou ceftriaxona

Os enterococos (*Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*) usualmente são sensíveis à combinação penicilina-aminoglicosídeo (por exemplo, ampicilina-gentamicina).

A ampicilina/amoxicilina sozinha pode curar uma infecção urinária enterocócica leve, mas para infecções sérias, adicione o aminoglicosídeo (Tavares W. Antibióticos e quimioterápicos para o clínico. Rio de Janeiro: Atheneu, 2ª. ed., 2009. 20; Anvisa 2007)

Alguns enterococos são resistentes a vários antimicrobianos (cheque o resultado do antibiograma).

Ampicilina/amoxicilina são usadas para bronquite, sinusite e otite (*Haemophilus influenzae*, pneumococos, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*). A cobertura gram-negativa da ampicilina/amoxicilina é limitada. Muitas cepas de *E. coli* são resistentes. Portanto, não use estas drogas como primeira escolha empírica para ITU (ao invés, considere SMZ/TMP).

A oxacilina é usada apenas para tratar infecções causadas por *Staphylococcus aureus*.

A ação da oxacilina contra os estreptococos do grupo A é menor quando comparada com a penicilina G (MIC 0,05µg/mL e 0,001µg/mL, respectivamente). Nem todo *S. aureus* é sensível à oxacilina. As cepas resistentes são chamadas MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina).

SARM são resistentes a todas as penicilinas e cefalosporinas. Ignore qualquer antibiograma em contrário.

Infecções sérias por SARM requerem vancomicina (Tavares W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. Rio de Janeiro: Atheneu 3ª.ed., 2001; Guia De Antimicrobianos – Unimed Londrina, 2016).

Cefalosporinas

Nenhuma cefalosporina cobre enterococos, SARM ou *Staphylococcus epidermidis*.

Cefalosporinas de Primeira Geração

Orais: Cefalexina, cefadroxil, cefradina.

Parenterais: cefalotina, cefazolina, cefradina. Ativas contra bactérias gram-positivas como *Staphylococcus aureus*, estreptococos do grupo A e pneumococos. Faça a escolha por uma cefalosporina oral de primeira geração e utilize em infecções leves a moderadas de partes moles (celulite). As infecções por estreptococos são melhor tratadas com penicilina. Atividade variável contra bactérias gram-negativas como *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Proteus* (necessário conferir o antibiograma).

Indicações: infecções leves a moderadas adquiridas na comunidade de partes moles ou trato urinário por germes sensíveis. Não oferece cobertura contra *Pseudomonas*. Nunca utilize para meningite: não cruza a barreira hematoencefálica.

A cefazolina é preferível à cefalotina para antibioticoprofilaxia cirúrgica devido à maior meia-vida da cefazolina. Neste caso, a mesma deve ser restrita para esta indicação (não se deve usar uma mesma droga para profilaxia e tratamento, com fins a preservar a droga e não selecionar resistentes) (Amato Neto

V, Nicodemo AC, Lopes HV. Antibióticos na prática clínica. 6ª ed. São Paulo: Sarvier Editora; 2007; Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016; Anvisa, 2007).

Cefalosporinas de Segunda Geração

Cefaclor, cefamandol, cefprozil, cefuroxima, ceftiofina, cefonicida. Melhor espectro para gram-negativos que as cefalosporinas de primeira geração, incluindo os patógenos respiratórios (*Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *K. pneumoniae*), mas também não possuem ação contra *Pseudomonas*. São eficazes na sinusite, bronquite e otite (dar preferência ao SMZ/TMP).

Utilizar em caso de intolerância, alergia, reações tóxicas ou resistência ao SMZ/TMP (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016; Anvisa, 2007; 2010).

Segunda escolha também na faringite aguda estreptocócica (primeira escolha penicilina) e infecções de partes moles (cefalosporina de primeira geração ou ampicilina/amoxicilina, respectivamente para etiologia estafilocócica ou estreptocócica) (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016; Anvisa, 2007).

Cefalosporinas de Terceira Geração

Parenterais

Cefotaxima, ceftriaxona, ceftizoxima, ceftazidima, cefoperazona. Se seu paciente precisar usar estas medicações, ele deve estar seriamente doente. Orais: cefixima, cefetamet-pivoxil e cefpodoxima-proxetil. Não se demonstrou vantagens com estes agentes em infecções do trato respiratório, nariz, ouvido e garganta quando comparados aos agentes convencionais. Espectro ampliado contra bactérias gram-negativas e melhor penetração no SNC em comparação com as cefalosporinas de gerações anteriores. Não atuam contra *Bacteroides fragilis* (anaeróbio). São sensivelmente menos potentes contra bactérias gram-positivas que cefotaxima e ceftriaxona.

Ceftriaxona e cefotaxima têm ação igual ou menor que as cefalosporinas de primeira geração contra estafilococos e estreptococos. A Ceftriaxona e cefotaxima são também usadas para meningite por cobrirem pneumococos, meningococos e *Haemophilus influenzae* (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016; Anvisa, 2007).

Cefalosporinas de Quarta Geração Cefepima e Cefpiroma

A atividade para bactérias gram-positivas comparável às cefalosporinas de primeira geração e atividade para bactérias gram-negativas comparável à ceftazidima (incluindo *Pseudomonas aeruginosa*). Não são eficazes para SARM, enterococos ou anaeróbios. Como antibióticos de amplo espectro, devem ser

reservados para infecções graves cujo perfil do antibiograma não revele sensibilidade a outras drogas de gerações anteriores (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016; Anvisa, 2007).

Penicilinas Com Inibidores de Betalactamase

Os inibidores das betalactamases (clavulanato, sulbactam, tazobactam) são adicionados às penicilinas para melhorarem a cobertura para *Staphylococcus aureus*. Melhora também a cobertura para *Haemophilus influenzae*.

Contudo, a atividade contra enterococos, pseudomonas e BGN ainda são limitadas às dos componentes antibióticos respectivos (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Amoxicilina-Clavulanato

Causa diarreia com frequência. Além de cobrir tudo que a amoxicilina cobre, serve para *Staphylococcus aureus* e *Bacteroides fragilis*. Atividade anaeróbia é semelhante à do metronidazol, imipenem-cilastatina e clindamicina. Não oferece cobertura contra SARM e *Pseudomonas aeruginosa* e tem atividade variável contra enterobactérias. Pode exercer efeito acentuado sobre a flora oral, levando à colonização por bacilos gram-negativos ou fungos. Serve para a maioria dos casos de infecções de pele e partes moles de gravidade leve a moderada. Melhor ação na sinusite, otite e bronquite agudas (mas SMZ/TMP é uma primeira escolha por ser a mais barata) (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Ampicilina-Sulbactam

Tratamento empírico de infecções moderadas ou graves. Por via oral, suas indicações são semelhantes às da amoxicilina-clavulanato. Indicada em infecções hospitalares abdominais, pélvicas, respiratórias, urinárias, de pele e partes moles ou generalizadas, com etiologia mista (agentes aeróbios associados a anaeróbios).

Ticarcilina-Clavulanato / Piperacilina-Tazobactam

Ticarcilina e piperacilina são penicilinas antipseudomônicas cujo espectro inclui também as enterobactérias. A adição do inibidor da betalactamase a estes antibióticos estende sua cobertura contra *Staphylococcus aureus*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* e mais algumas bactérias gram-negativas e anaeróbios. São, portanto, antibióticos de amplo espectro e, como tal, devem ser usados muito judiciosamente (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

A adição do inibidor da betalactamase não oferece cobertura contra cepas de *Pseudomonas* que são resistentes à piperacilina ou ticarcilina isoladamente. Suas indicações incluem infecções

polimicrobianas graves (gram-positivos, gramnegativos, anaeróbios), como sepse abdominal, infecções de partes moles (pé diabético, úlceras de decúbito, fascíte necrotizante), pneumonia hospitalar, infecções em imunossuprimidos, infecções crônicas de ossos e articulações, etc. (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Carbapenêmicos

Bactérias resistentes a carbapenêmicos são um desafio na prática diária, uma vez que frequentemente são agentes de infecções graves e com poucas opções terapêuticas. Entretanto, algumas estratégias podem ser utilizadas no combate a esses microrganismos. Entretanto, algumas estratégias podem ser utilizadas no combate a esses microrganismos (Anvisa, 2007).

Existem pelo menos três mecanismos que conferem resistência a carbapenêmicos em enterobactérias:

- Produção de enzimas;
- Presença de bombas de efluxo, que ativamente transportam os carbapenêmicos para fora do espaço periplasmático, impedindo sua ação;
- Mutações ou deleção de porinas, que impedem que os carbapenêmicos penetrem na célula. Enquanto o primeiro confere resistência aos betalactâmicos, os segundos e terceiros mecanismos podem estar associados à resistência a outras classes.

A produção de enzimas beta-lactamases é o principal mecanismo de resistência encontrada em enterobactérias resistentes a carbapenêmicos (ERC). Embora chamadas em conjunto de carbapenemases, essas enzimas podem ser divididas em diversas classes, as quais apresentam diferentes suscetibilidades a antimicrobianos. E que só podem ser corretamente identificadas por meio de análise molecular (E. Durante-Mangoni; R-Andini;R.Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Novos antibióticos

Nos últimos anos, novos antibióticos foram desenvolvidos visando restaurar a suscetibilidade aos carbapenêmicos por meio de inibidores de betalactamases. A maioria ainda não está disponível no Brasil e nenhum dos citados apresenta atividade contra enzimas do tipo metalo-betalactamases.

Avibactam: um inibidor de betalactamase que é utilizado em conjunto com o betalactâmicoceftazidima, com excelente ação *in vitro* contra enterobactérias produtoras de KPC ou de OXA-48. A associação está aprovada para tratamento de infecções intra-abdominais complicadas, infecções do trato urinário complicadas e pneumonias associadas aos cuidados da saúde, incluindo pneumonias associadas à ventilação mecânica (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Varbobactam: inibidor de carbapenemases do tipo KPC e que é utilizado em conjunto com meropenem. Em ensaios clínicos, mostrou-se não inferior a piperacilina/tazobactam no tratamento de infecções do trato urinário, sendo essa a única indicação aprovada em bula pelo FDA até o momento. Ainda não está disponível no Brasil (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Relebactam: inibidor de betalactamase estruturalmente semelhante ao avibactam. Que, em combinação com imipenem, apresenta atividade contra carbapenemases do tipo KPC. A atividade contra enzimas do tipo OXA-48 é mais inconsistente. A associação imipenem-relebactam foi recentemente aprovada pelo FDA como opção para infecções intra-abdominais e infecções do trato urinário complicadas causadas por ERC (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Não betalactâmicos

Outras opções comumente utilizadas consistem de antibióticos de outras classes, que atuam por outros mecanismos. E, portanto, não são afetados pela produção de betalactamases. Entretanto, podem estar sujeitos à ação de outros mecanismos de resistência (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Aminoglicosídeos: gentamicina e ampicacina podem ser utilizadas no tratamento de ERC, dependendo do perfil de suscetibilidade. Plazomicina é um novo antimicrobiano aprovado pelo FDA em 2018, com maior estabilidade a enzimas modificadoras de aminoglicosídeos e com atividade contra a maior parte das ERCs, exceto as produtoras de metalo-betalactamases NDM. Ainda não está disponível no Brasil e aprovação pelo FDA é somente para o tratamento de infecções complicadas do trato urinário (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Polimixinas: são consideradas opções importantes no tratamento de infecções causadas por ERC e por outros microrganismos resistentes. Porém, vem sendo observado um aumento na prevalência de enterobactérias resistentes a esses antimicrobianos (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Tigeciclina: é uma opção para pacientes estáveis com infecções de pele e partes moles. Não é adequada para tratamentos de bacteremia, já que apresenta níveis séricos insuficientes (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection-2019).

Fosfomicina: apresenta boa atividade *in vitro* contra ERC, principalmente contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC, incluindo algumas também resistentes à colistina. Entretanto, pode ocorrer discordância entre a atividade *in vitro* e a *in vivo*. Mais estudos demonstrando seu real papel

no tratamento de infecções por ERC ainda são necessários (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-*Clinical Microbiology and Infection*-2019).

METODOLOGIA DE TRABALHO

Foi realizada uma busca na bibliografia através dos bancos de dados eletrônicos: PubMed (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), Scielo (*Scientific Eletronic Library OnLine*), capítulo de Livros e orientações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Para pesquisa nestes bancos de dados, utilizou-se as seguintes palavras-chave:

- Infecção hospitalar;
- Antibióticos;
- Resistência bacteriana;
- Bactérias gram-positivas;
- Bactérias gram-negativas;
- Atuação farmacêutica.

Diante do objetivo deste trabalho, foram incluídos como critério de inclusão:

- O papel do farmacêutico na Comissão de Infecção Hospitalar;
- Prescrição Correta;
- Dispensação de drogas;
- Automedicação

O critério de exclusão, consiste em todas as variáveis que não contemplem o critério de inclusão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a coleta e análise dos estudos, foi possível verificar que entre os médicos, é prática comum a prescrição de associações de antimicrobianos, com os seguintes objetivos (Anvisa, 2008):

- Alargar o espectro antimicrobiano;
- Reduzir ou impedir a seleção de germes multirresistentes;
- Melhorar o resultado clínico por meio de possível sinergismo.

De forma geral, a associação de antimicrobianos é prática redundante. Esta prática não impede a evolução da resistência, nem melhora a resposta terapêutica, servindo, com frequência, para *tratar* a insegurança e a ansiedade do prescritor. Esta atitude poderá piorar o curso clínico pelo antagonismo antibacteriano, além de elevar custos, resistência e toxicidade (Anvisa, 2008)

É frequente o debate sobre o papel da terapia combinada nas infecções graves por Gram-negativos, especialmente, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp, mas evidências suportando benefícios sobre a resposta terapêutica ou sobre a resistência são escassos e estudos atuais não mostram benefícios (Anvisa, 2008).

Em algumas situações, entretanto, a associação poderá ser efetiva, como:

- Na redução da seleção de resistência em situações de elevada carga microbiana e alto poder de mutação dos patógenos (ex: tuberculose e AIDS);
- Na produção de sinergismo antibacteriano contra determinados microrganismos (ex: enterococo), especialmente em sítios extra-urinários;
- No alargamento do espectro terapêutico, na possibilidade de flora mista ou multirresistente, até que os resultados de cultura estejam disponíveis (Anvisa, 2008)

Estudos retrospectivos avaliando o desfecho de pacientes com bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenêmicos (KPC-KP) demonstraram menor mortalidade para pacientes tratados com associação de antimicrobianos do que para aqueles tratados com monoterapia. As associações de antimicrobianos mais utilizadas e avaliadas retrospectivamente foram polimixinas com tigeciclina, tigeciclina com aminoglicosídeos, tigeciclina com carbapenêmicos e polimixinas com carbapenêmicos, mesmo não estando estabelecido o benefício de manter o uso de carbapenêmicos para o tratamento destas infecções (Hirsch; Tam, 2010; Daikos et al., 2011; Qureshi et al., 2012; Tumbarello et al., 2012; Daikos et al., 2014; Oliva et al., 2014).

Tanto estudos in vitro, como os in vivo descritos apresentaram resultados conflitantes e nenhum experimento de sepse urinaria através de injeção intraperitoneal de KPC-KP até o momento estudou monoterapias em comparação com terapia combinada. Desta forma, optou-se pela realização de um modelo experimental para avaliar a eficácia de diferentes terapias contra Enterobacterias Resistentes a Carbapenêmicos (ERC), visto que o melhor tratamento para infecções por estes micro-organismos ainda não está estabelecido (Toledo et al., 2012).

A alta mortalidade atribuída a infecções causadas por estas bactérias torna este aumento de casos um problema de saúde pública, sobretudo nos países em desenvolvimento, como o Brasil em que o número e a qualidade de leitos hospitalares e pré-hospitalares muitas vezes não oferecem condições adequadas de 17 precauções de contato. O aprimoramento das práticas sanitárias e o uso correto e pelo mínimo tempo necessário são ferramentas essenciais para o controle desta epidemia (Akova et al., 2012).

Possivelmente a terapia combinada apresente melhor resposta terapêutica do que monoterapias para micro-organismos resistentes, sobretudo em infecções sistêmicas e com critérios de gravidade. A terapia combinada pode teoricamente suprimir a emergência de resistência e proporcionar efeito sinérgico (Mouton et al., 1999).

Zusman (2013) observou sinergismo e prevenção de resistência com o uso de terapia combinada em uma metanálise de estudos *in vitro* que combinavam polimixinas com carbapenêmicos.

Com base nestes dados teóricos e *in vitro*, vários pacientes são tratados com terapia combinada e coortes observacionais retrospectivas realmente demonstram este benefício, porém a combinação ideal ainda não foi definida.

Oliva (2014) relatou três casos de terapia com associação de ertapenem e meropenem, em infecções por cepas com Concentração Inibitória Mínima (CIM) para meropenem bastante elevadas. Um dos pacientes foi a óbito, mas todos tiveram resposta microbiológica.

Tumbarello (2015) compilou infecções de vários centros entre 2010 e 2013, entre as quais 68% eram bacteriemias e observou que a mortalidade geral em 14 dias foi de 34,1%. Além dos fatores que já havia demonstrado anteriormente como 21 preditores de mortalidade (choque séptico, terapia empírica inadequada e escore elevado no APACHE III) relatou insuficiência renal crônica e resistência à colistina como fatores de mau prognóstico. Terapia combinada (com pelo menos dois antibióticos ativos *in vitro*) foi relacionada a menor mortalidade, sobretudo nos pacientes com bacteriemia. Para o tratamento das cepas com Concentração inibitória mínima (CIM) ≤ 8 mg/L para meropenem, incluir este agente na terapia combinada foi significativamente associado com maior sobrevida. Desfecho favorável em terapia combinada também foi observado em estudos que avaliaram associações em infecções do trato urinário (Satlin et al., 2011 e Alexander et al., 2012)

O uso excessivo de antibióticos pode provocar maior resistência bacteriana (Del Arco et al., 2015). Desta forma, avaliarem duoterapias e terapia tripla a fim de averiguar se este acúmulo de antimicrobianos prescritos é realmente necessário para o tratamento eficaz contra estes patógenos resistente.

Em termos de sobrevida as monoterapias não garantiram a mesma eficácia que as terapias combinadas (Tumbarello et al., 2012; Qureshi et al., 2012 e Daikos et al., 2014).

Monoterapia vs. terapia combinada

Nesta revisão foram observados X estudos, dentre eles podemos verificar que 10 artigos, 68 livros, 41 manuais estudos observacionais vêm demonstrado benefício do uso de terapia combinada em relação à monoterapia no tratamento de infecções por agentes produtores de carbapenemases. Apesar da heterogeneidade de esquemas utilizados, o que prejudica comparações, a terapia combinada está associada a menor mortalidade hospitalar.

Estudos recentes com ceftazidima-avibactam sugerem que a monoterapia com essa combinação pode ser uma opção adequada. Estudos observacionais mostram benefício de ceftazidima-avibactam em diferentes infecções por ERC, incluindo infecções de corrente sanguínea, quando comparada com outros

esquemas. Os dados sugerem menor efetividade em cepas produtoras de OXA-48 e em pacientes com pneumonia ou em diálise.

Poucos estudos controlados avaliaram o tratamento de infecções por ERC. E a maioria não apresenta poder estatístico o suficiente para que conclusões sólidas possam ser feitas (E. Durante-Mangoni; R-Andini; R. Zampino-Clinical Microbiology and Infection, 2019).

Estratégias preventivas de rastreabilidade dos multirresistentes

São fundamentais na prevenção de disseminação de resistência e devem ser aplicadas em todos os hospitais e serviços de saúde. Destacam-se:

- 1- A vigilância e isolamento de pacientes com cepas multirresistentes (identificação de portadores ou infectados).
- 2- O uso de estratégias para diminuir a mutação e a transferência genética (erradicação de reservatórios – limpeza e desinfecção adequadas).
- 3- O uso de medidas para diminuir a pressão seletiva (uso correto de antimicrobianos).
- 4- Evitar a disseminação – uso correto das precauções e higienização correta e frequente das mãos.

Baseando-se na revisão de Harbarth et al (2003), 20% de todas as IH são provavelmente evitáveis. Prevenir é sempre melhor do que curar e a melhor estratégia está em nossas mãos! A seguir, os cinco momentos preconizados para higienização das mãos, de acordo com a OMS:



Figura 1. Os cinco momentos para higienização das mãos. Fonte: Organização Mundial de Saúde.

Rastreabilidade Para Multirrestentes

Antes de começar a escrever o passo-a-passo, colocar um parágrafo sobre a importância desta rastreabilidade.

Quando colher cultura para identificar MR

As culturas devem ser colhidas de rotina quando houver suspeita de infecção ou em populações de risco, quando houver suspeita de infecção/colonização por MR.

São sítios de pesquisa de colonização por MR: retal, nasal, feridas/lesões e secreção traqueal (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Pacientes de risco

Pacientes cirúrgicos; queimados; traumatizados; com úlceras de pressão/lesão de pele; traqueostomizados; internados em UTI; em uso de antibióticos; com internação maior que sete dias; com internação prévia recente; em tratamento dialítico (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Coleta de swab de vigilância para multirresistente

Na admissão (swab nasal, oral, axilar, inguinal e retal).

História de internação anterior, durante no mínimo 48 horas, nos últimos 6 meses, quando em situação de surto; e nos últimos 3 meses, quando a situação estiver controlada (Guia De Antimicrobianos – Unimed Londrina, 2016).

História de internação anterior em UTI, durante no mínimo 48 horas, nos últimos 6 meses (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Paciente transferido de outro serviço, com história de mais de 48 horas de internação; (Guia De Antimicrobianos – Unimed Londrina, 2016).

Tratamento prolongado com antibióticos de amplo espectro nos últimos 6 meses, principalmente cefalosporinas de 3ª geração e carbapenens (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016)

Pessoas que tiveram contato com pacientes MR (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

RN cuja mãe tenha passagem pela UTI durante a gestação e/ou tenha utilizado antibiótico de amplo espectro durante a gestação. Durante a internação (swab nasal, de orofaringe e retal) (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Semanal de pacientes nas UTIs que ainda não sejam MR positivo e enquanto houver pacientes MR na unidade (Guia De Antimicrobianos – Unimed Londrina, 2016).

Quinzenal de pacientes em uso de antibiótico de amplo espectro e com internação prolongada, conforme orientação da CCIH (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Semanal de RN cuja mãe tenha diagnóstico de infecção ou colonização com MR durante a gestação (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Quinzenal de RN cuja mãe tenha passagem pela UTI durante a gestação ou tenha utilizado antibiótico de amplo espectro durante a gestação e não tenha coletado o swab de vigilância. Em casos de surtos, conforme orientação da CCIH (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Todos os pacientes devem permanecer em precaução de contato até a definição das culturas (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Quando não for possível a coleta de swabs, os pacientes suspeitos de MR devem permanecer sob precaução de contato (avental de mangas longas e luvas) até a alta. Pacientes MR positivo devem permanecer em precaução de contato até que tenham três swabs negativos (coletados com intervalo de 5 a 7 dias entre eles), corte de profissionais e equipamentos individuais (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Pacientes contatantes de MR (KPC) devem permanecer em precaução de contato até que tenham dois swabs negativos (colhidos com intervalo mínimo de 48 horas entre eles) após retirada a exposição ao caso positivo (Amato Neto V, Nicodemo AC, Lopes HV. Antibióticos na prática clínica. 6ª ed. São Paulo: Sarvier Editora; 2007; Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Uso otimizado de antimicrobianos (Antimicrobia ISteward ship Program)

Esta é uma estratégia recomendada desde 2007, atualizada por um grupo de experts em 2016. Baseia-se no melhor uso dos antimicrobianos disponíveis, pois convivemos com patógenos altamente resistentes. Não está prevista a descoberta de novas drogas contra esses patógenos e o problema da resistência é crescente e alarmante. Essa estratégia baseia-se nos seguintes pontos (Guia De Antimicrobianos – Unimed Londrina, 2016):

Melhor indicação do antimicrobiano: ter certeza da infecção bacteriana, não tratar com antibióticos as infecções virais, não tratar colonizações, coletar culturas nas infecções graves e escolher a melhor opção para cada infecção.

Melhor dose, que deve ser baseada no peso e ajustada pelo clearance de creatinina na disfunção renal. Não esquecer da dose de ataque em diversos antimicrobianos.

Melhor/menor duração: não manter antimicrobianos por tempo prolongado e desnecessário. Hoje, muitos tratamentos se completam em 5-7 dias de antibióticos, com exceção dos bacilos gram-negativos não fermentadores (*Pseudomonasaeruginosa*, *Acinetobacterspp*).

Transição endovenoso para via oral tão logo seja possível. Se possível com a mesma droga ou semelhante. Isto reduz o tempo de internação, reduz complicações com acesso venoso e gastos com hospitalização.

De-escalonar as drogas desnecessárias/redundantes após os resultados microbiológicos, que devem ser revelados em 48-72h. Toda terapia antimicrobiana deve ser reavaliada em 48 horas, se há realmente necessidade em manter ou alterar ou suspender (Guia De Antimicrobianos –Unimed Londrina, 2016).

Papel do Farmacêutico em uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) no Controle do Uso Racional de Antimicrobianos

No Brasil, estima-se que 3% a 15% dos pacientes desenvolvem alguma infecção hospitalar, tornando-se um grave problema na saúde pública. Portanto em 06 de janeiro de 1997 entrou em vigor a Lei Federal 9431 a qual previa a obrigatoriedade da existência de uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), com objetivo de desenvolver ações para à redução máxima da incidência e da gravidade das infecções hospitalares. A CCIH é indispensável na prevenção da resistência bacteriana, pois são desenvolvidas ações com função de minimizar as infecções no ambiente hospitalar e conseqüentemente as resistências bacterianas.

O farmacêutico como componente da CCIH é o profissional capacitado para avaliar as prescrições hospitalares, propor o uso racional dos antimicrobianos, elaborar juntamente com uma equipe multidisciplinar o Guia Farmacêutico, patronizado assim os antimicrobianos utilizados no hospital, realizar exames de identificação do agente infeccioso e sensibilidade dos antimicrobianos para a correta seleção do fármaco, praticar a atenção farmacêutica, oferecendo informações sobre a utilização dos medicamentos, estimular à terapia sequencial, elaborar relatórios de consumo e realizar treinamentos sistemáticos na prevenção da propagação do patógeno e sua correta eliminação do ambiente a equipe de saúde.(OPAS. Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública – CGLAB/SVS/MS e Disciplina de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde. 2008; BRASIL. Presidência da República. Lei 9.431, de 6 de janeiro de 1997. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de programa de controle de infecções hospitalares pelos hospitais do país (Brasília, 1997).

As infecções causadas por bactérias resistentes têm um impacto negativo nas finanças dos hospitais, pois eleva o tempo de internação, necessidade de antimicrobianos de última geração que são mais caros e conseqüentemente aumenta o risco de mortalidade. Na Europa, por exemplo, as resistências bacterianas aos antimicrobianos custam 9 bilhões de euros por ano e nos Estados Unidos (EUA) 4 a 5 bilhões de dólares (Gottlieb T, Nimmo GR. Antibiotic resistance is an emerging threat to public health: an urgent call to action at the Antimicrobial Resistance Summit. Med J Aust. 2011).

Papel do Farmacêutico em Farmácias e Drogarias no Controle do Uso Racional de Antimicrobianos.

O farmacêutico é um profissional diretamente envolvido na política do uso racional de medicamentos. Portanto, para que o farmacêutico moderno esteja preparado é fundamental ter atitudes e habilidades que permitam agregar-se à equipe de saúde e interagir com o paciente e a comunidade, de forma a educar sobre o uso adequado dos antimicrobianos, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida, em especial no êxito farmacoterapêutico.

Dentre as diversas atribuições do farmacêutico que atuam em farmácias e drogarias, destacam-se na prevenção do uso inadequado de antimicrobianos, avaliação da prescrição quando a ocorrência de erros e interações medicamentosas, prestar assistência farmacêutica através de ações de educação continuada, informando quanto ao modo de uso dos antimicrobianos, sobretudo alertando sobre a importância de sua administração no horário prescrito e condições de armazenamento adequado, informa ao Sistema Nacional de Notificações para a Vigilância Sanitária (NOTIVISA) em casos de eventos adversos e queixas técnicas que comprometam o tratamento farmacoterapêutico e realizar treinamento contínuo aos funcionários sobre a dispensação de antimicrobianos somente com prescrição e de forma adequada (Scarcela et al., 2008).

O farmacêutico estando presente nas farmácias e drogarias têm a capacidade e o dever em informar e tomar decisões pautadas no conhecimento técnico-científico e na legislação vigente e assumir uma postura proativa na prática da dispensação, sem esperar sinais do paciente quanto à compreensão do seu tratamento (Declour, 2009).

Prescrição de Antimicrobianos

A utilização correta de antimicrobiano envolve a avaliação criteriosa sobre sua necessidade de uso, a escolha de um fármaco eficaz, seguro, com custo equilibrado e que seja administrado por tempo, dose e intervalos posológicos apropriados (Anvisa, 2017).

As ações voltadas para a melhoria do uso de antimicrobianos vão desde abordagens educativas até medidas restritivas, entre as quais podemos citar:

- Utilização de protocolos clínicos para as principais síndromes clínicas;
- Adoção das boas práticas de prescrição, como documentação de dose, duração e indicação do antimicrobiano;
- Auditoria prospectiva de prescrição com intervenção e divulgação dos dados;
- Readequação da terapia, conforme resultados microbiológicos; Análise técnica das prescrições pela farmácia;

- Restrição com uso de formulário terapêutico e pré-autorização de antimicrobianos (Anvisa, 2017).

Elaboração de Protocolos clínicos

A elaboração de protocolos clínicos com base em evidências científicas e em práticas de consensos é de fundamental importância para orientar as ações dos profissionais de saúde, tanto de técnicos quanto de gestores (Anvisa, 2017).

Foi demonstrado que a adoção de protocolos de uso de antimicrobianos é efetiva na promoção do uso correto desses fármacos e, por isso, tal estratégia tem sido adotada por vários países (Anvisa, 2017).

Os serviços de saúde devem elaborar ou adaptar seus próprios protocolos, de acordo com as características clínicas e com os perfis epidemiológico e microbiológico locais (Anvisa, 2017)

Para isso, é importante analisar se existem guias regionais ou nacionais para adaptá-los às condições epidemiológicas (prevalência de principais patógenos e seus respectivos antimicrobianos), recursos de diagnóstico e arsenais terapêuticos institucionais (Anvisa, 2017).

É necessário que os protocolos sejam objetivos, para que na prática clínica seu uso seja simples e rápido, e que incorporem o perfil microbiológico do setor no qual serão usados, já que a epidemiologia pode variar entre setores de uma mesma instituição. Além disso, devem ser atualizados periodicamente (Anvisa, 2017).

A atuação da farmácia clínica junto ao Programa de Gerenciamento do Uso de Antimicrobianos é primordial para melhorar os resultados em saúde do paciente e os indicadores propostos no Programa (Anvisa, 2017).

Para seu desenvolvimento, é importante a presença de um farmacêutico clínico dedicado, com formação adequada e conhecimento nessa área. Algumas das atividades voltadas ao uso de antimicrobianos desenvolvidas pela farmácia clínica, são citadas a seguir (Anvisa, 2017).

- Participação no desenvolvimento e atualização de protocolos de indicação e uso;
- Auditoria prospectiva da prescrição após a dispensação inicial pela farmácia;
- Auxílio na detecção e prevenção de interações indesejáveis tais como medicamento-medicamento, medicamento-alimento, medicamento nutrição enteral;
- Auxílio na detecção e prevenção de reações adversas e erros de medicação;
- Auxílio na otimização da posologia conforme características clínicas do paciente (peso, função e hepática, hemodiálise, diálise peritoneal), agente etiológico, sítio infeccioso e características farmacocinéticas e farmacodinâmicas do medicamento;

- Otimização da forma de preparo (ex.: reconstituição, diluição, forma de administração via sondas, equipo adequado, velocidade de infusão, tempo total de infusão para manutenção de estabilidade da solução, compatibilidade);
- Auxílio na monitorização terapêutica e ajuste de dose, de acordo com concentração plasmática (ex.: vancomicina, aminoglicosídeos);
- Auxílio no processo de descalonamento, ajuste da terapia, terapia sequencial (conversão de terapia parenteral para oral) e suspensão de tratamento;
- Educação dos profissionais de saúde;
- Notificação de suspeita de reação adversa a medicamentos, erro de medicação, suspeita de desvio de qualidade ou ineficácia terapêutica;
- Orientação do paciente, especialmente no momento da alta (Anvisa, 2017).

Importância dos laboratórios de microbiologia e clínico para a prescrição correta de antimicrobianos

O laboratório de microbiologia clínica tem papel importante para a prescrição correta de antimicrobianos pois isola, identifica e determina o perfil de sensibilidade a antimicrobianos dos patógenos causadores de infecções (Anvisa, 2017).

Esses resultados viabilizam a reavaliação e a readequação da terapia antimicrobiana prescrita empiricamente (Anvisa, 2017).

Além disto, os antibiogramas são utilizados na elaboração de guias terapêuticos locais pelos programas de gerenciamento do uso racional de antimicrobianos.

Tem sido discutido se o laboratório de microbiologia deveria emitir laudos de antibiogramas seletivamente (“em cascata”), ou seja, reportar a sensibilidade a antimicrobianos de amplo espectro ou mais caros somente quando houvesse resistência aos antimicrobianos de menor espectro (Anvisa, 2017)..

Porém, até o momento não há evidência que esta seja uma medida efetiva que leve definitivamente à redução do uso de antimicrobianos ou das porcentagens de resistência antimicrobiana (Anvisa, 2017).

Dessa maneira, cada programa de gerenciamento do uso de antimicrobianos deve decidir em conjunto com a equipe do laboratório de microbiologia a respeito da implantação desta medida e, posteriormente, quanto a avaliação da adoção da mesma (Anvisa, 2017).

A parceria forte entre os laboratórios microbiológico e clínico e o Programa de Gerenciamento do Uso de Antimicrobianos resulta na melhoria da qualidade da assistência oferecida ao paciente e maior chance de sucesso terapêutico (Anvisa, 2017).

A prescrição de antimicrobianos em serviços de saúde tem sido uma preocupação, especialmente pela dificuldade em garantir a sua utilização correta (dose e duração do tratamento) pelos pacientes (Anvisa, 2017).

Os protocolos são diretrizes embasadas em evidências científicas e práticas de consensos, cuja implantação demonstrou ser efetiva e fundamental para promover o uso correto de antimicrobianos, padronizando as condutas e prescrição, sendo uma estratégia efetiva adotada em diversos países e em todos os níveis de atenção, desde a atenção básica até os serviços mais complexos (Anvisa,2017).

CONCLUSÃO

Farmacêutico tem a capacidade de desenvolver medidas, com o objetivo principal de prevenir a propagação do patógeno resistente, evitando desta forma o uso inadequado dos antimicrobianos, altas taxas de infecções hospitalares, mortalidades e aumento no tempo de internação, situações essas que podem vir a agravar a situação financeira dos hospitais e a todo sistema de saúde pública do país.

Conclui-se que são diversas as bactérias presentes no planeta e que todas elas representam um problema gravíssimo para ambientes hospitalares, tendo em vista que acometem pacientes já debilitados por patologias graves, desencadeando infecções que muitas vezes podem evoluir ao óbito. Cabe aos profissionais de saúde refletirem sobre as graves consequências do uso indiscriminado de antibióticos e da importância da necessidade de se adotar, rigorosamente, as medidas de assepsia para o controle de infecção hospitalar.

Não havendo, pois, casos de infecção hospitalar, não há necessidade do uso de antibióticos para tratá-la, diminuindo a pressão seletiva sobre as bactérias do ambiente hospitalar e dos pacientes.

Os importantes avanços, conhecidos até hoje, para o controle total de doenças infecciosas têm sido através de imunizações, dos cuidados de higiene ou de medidas de assepsia, particularmente, a lavagem das mãos.

Logo, é necessário conscientizar os profissionais de saúde para que os mesmos venham adotar, com responsabilidade, na sua prática assistencial, as principais medidas básicas para o controle das infecções hospitalares e também, quando for o caso, estimular a prática do uso prudente de antibióticos.

Então, há uma necessidade de que ocorra, urgentemente, uma mudança consciente e radical no comportamento e de atitudes de todos os profissionais de saúde, do consumidor (paciente), dos pesquisadores, dos empresários das indústrias farmacêuticas, da administração hospitalar e do próprio governo e de muitos outros envolvidos no processo do controle da resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar.

O fenômeno da resistência bacteriana não é um problema individual, mas coletivo e mundial.

O impacto da resistência bacteriana aos antibióticos representa uma ameaça para a continuidade da vida humana no planeta terra.

Infecção hospitalar controlada, resistência bacteriana diminuída!

REFERÊNCIAS

- Abrantes PM et al (2007). Avaliação da qualidade das prescrições de antimicrobianos dispensadas em unidades públicas de saúde de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2002. *Cad. Saúde Pública.*, 23(1): 95- 104. DOI: 10.1590/S0102-311X2007000100011.
- Akova M et al (2012). Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect.*, 18(5): 439-48.
- Alexander BT et al (2012). Treatment and clinical outcomes of urinary tract infections caused by KPC-producing Enterobacteriaceae in a retrospective cohort. *Clin Ther. Philadelphia*, 34(6): 1314–1323.
- Almeida MGC et al (2012). Perfil de sensibilidade a antimicrobianos em *Pseudomona saeruginosa* de origem hospitalar e ambulatorial oriundas de laboratórios público e privado, em Belém, estado do Pará. *RBAC.* 44(1): 44-9.
- Antonio NS et al (2009). Mecanismos de resistência bacteriana. *Rev. Cient. Elet. Med. Vet.*, 12(7): 1-4.
- Anvisa (2007). *Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GIPEA/GGTES.
- Anvisa (2010). *Novas regras para antibióticos entram em vigor*. Imprensa/Anvisa,, 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 30 ago. 2017.
- Anvisa (2010a). RDC nº 44, de 26 de outubro de 2010. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lex: Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Anvisa (2013). *Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde* Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Anvisa (2017). *Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde*, Agência Nacional de Vigilância Sanitária., 2ª edição.
- Anvisa (2017). *Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2017.
- Appelbaum PC (2002). Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for drug selection. *Clin Infect Dis.*, 34: 1613-1620. <http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/340400>

- Appelbaum PC, Bozdogan B (2004). Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Lab Med., 24: 381-402.
- Baptista MGF (2013). Mecanismos de Resistência aos Antibióticos [Tese]. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia.
- Baquero F (1995). Pneumococcal resistance to B-lactam antibiotics: a global geographic overview. Microb Drug Resist., 1: 115-120.
- Barlam TF et al (2016). Implementing antibiotic stewardship program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and The Society For Health care and Epidemiology of America. Clin Infect Dis. Advanced access, april, 2016. <http://www.cdc.gov/getsmart/week/>
- Black S et al (2004). Postlicensure surveillance for pneumococcal invasive disease after use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Northern California Kaiser Permanente Medical Care Program. Pediatr Infect Dis J., 23: 485-489.
- BRASIL (1997). Presidência da República. Lei 9.431, de 6 de Janeiro de 1997. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de programa de controle de infecções hospitalares pelos hospitais do país. Brasília.
- BRASIL (2007). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resistência Microbiana. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mecanismos.htm, acessado em 18 de março de 2015.
- BRASIL (2007). Investigação e controle de bactérias multirresistentes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- BRASIL (2010). Dispõe sobre os requisitos mínimos para funcionamento de Unidades de Terapia Intensiva e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº. 7, de 24 de fevereiro de 2010. Diário Oficial da União. Seção 1.
- BRASIL (2010). Nota Técnica Nº 1/2010. Medidas para identificação, prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde por microrganismos multirresistentes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Unidade de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos Adversos. Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/271858/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+01+de+2013/5be89853-7eca-4b4b-98e4-5096b9f5a2ec>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- BRASIL (2013). Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica Nº 001/2013. GVIMS/GGTES.
- BRASIL (2013). Módulo 3: Principais Síndromes Infecciosas. Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.

- BRASIL (2013). Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica. Brasília. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde.
- BRASIL (2016). Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência microbiana do ano de 2015 a 2016. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 14:
- Brito MA, Cordeiro BC (2012). Necessidade de novos antibióticos. J. Bras. Patol. Med. Lab., 48(4): 247-249. DOI: 10.1590/S1676-24442012000400002.
- Burman LA et al (1985). Invasive pneumococcal infections: incidence, predisposing factors, and prognosis. Rev Infect Dis., 7: 133-142.
- CDC (2007). Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings, HICPAC-CDC, 2006.
- Cereda RF et al (2002). Molecular typing and antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Brazil. Infect Control Hosp Epidemiol, 23(1): 19-22. <http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/501962?cookieSet=1>
- Cetinkaya Y et al (2000), Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev., 13(4): 686-707.
- Cherobim MD (2014). Atividade in vitro e in vivo dos peptídeos Pa-MAP 1.5 e Pa-MAP 1.9 derivados de *Pleuroectes americanus* contra *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883 [Dissertação]. Brasília: Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília.
- Christensen CM et al (2009). Inovação na gestão da saúde: a receita para reduzir custos e aumentar qualidade. Porto Alegre: Bookman.
- D'Azevedo PA et al (2001). Evaluation of an automated system for the identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. Diagn Microbiol Infect Dis., 40: 157-161.
- Dalla Costa LM et al (1998). Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*. First case in Brazil. Braz J Infect Dis., 2(3): 160-163.
- Declour A (2009). Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. National Institutes of Health., 1749(5): 808-816. DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.11.005.
- Del Arco A et al (2015). The impact of an antimicrobial stewardship programme on the use of antimicrobials and the evolution of drug resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. Berlin, 34(2): 247-251.
- Del' Alamo L et al (2007). An outbreak of catalase-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect., 65: 226-230.

- Deresinski S (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. Clin Infect Dis. 40: 562-573. <http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/427701>
- Diekema DJ et al (2001). Survey of infections due to *Staphylococcus* species: Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. Clin Infect Dis., 32: S114-132. <http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdf/10.1086/320184>
- Drago L (2007). Epidemiology and mechanisms of resistance: clinical and environmental impact. Le Infezioni in Medicina: Infez Med.
- Dzidic S et al (2008). Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. J. Food Technol., 46(11): 11-21.
- Facklam R et al (2007). Enterococcus In: Manual of clinical microbiology. Editor in Chief Murray PR. 9th ed. Washington: ASM Press.
- Fernandes IDQ et al (2012). Impacto fármaco econômico da racionalização do uso de antimicrobianos em unidades de terapia intensiva. Rev Bras Farm Hosp Serv Saúde, 3(4): 10
- Ferreira et al (2007). Resistência da Neisseriagonorrhoeae e Antimicrobianos em Manaus: Período 2005-2006. DST. J Bras. Doenças Sex Transm., 19(2): 65-69.
- Figueiredo R et al (2013). Resistência a antibióticos em isolados de Salmonella entérica em alimentos de origem animal. RPCV, 108(585-586): 39-43.
- Forbes BE et al (, Sahn DF, Weissfeld AS. In: Bayley and Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. St. Louis: Mosby Press; 2007.
- Giarola LB et al (2012). Infecção hospitalar na perspectiva dos profissionais de enfermagem: Um estudo bibliográfico. Cogitare Enferm., 17(1): 151-7. DOI: 10.5380 /ce.v17i1.26390.
- Goodman LS, Gilman AG (2012). As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill.
- Gottlieb T, Nimmo GR (2011). Antibiotic resistance is an emerging threat to public health: an urgent call to action at the Antimicrobial Resistance Summit. Med J Aust., 194(6): 281-283.
- Gurgel TC, Carvalho WS (2008). A Assistência Farmacêutica e o Aumento da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos. Lat. Am. J. Pharm., 27(1): 118-123.
- HUM (2013). Hospital Universitário Regional de Maringá. Serviço de Controle de Infecção Hospitalar. Microorganismo multirresistente. Universidade Estadual de Maringá. 2013-2014.
- IBSP (2017). Resistência bacteriana leva a grandes desafios para tratar pacientes em quadro infeccioso. Instituto Brasileiro para Segurança do paciente. Disponível em: <<http://www.segurancaopaciente.com.br/seguranca-e-gestao/resistencia-bacteriana-leva-a->

- grandes-desafios-para-tratar-pacientes-em-quadro-infeccioso-diz-farmaceutico-ingles/>. Acesso em: 12 set. 2017.
- ISTO É (2017). As doze bactérias mais ameaçadoras. Disponível em: <<http://istoe.com.br/as-doze-bacterias-mais-ameacadoras/>>. Acesso em: 29 ago. 2017.
- Kaplan SL, Mason Jr EO (1998). Management of infections due to antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. ClinMicrob Rev., 11: 628-644.
- Kloss WE, Bannerman TL (2007). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Manual of clinical microbiology. Editor in Chief Murray PR. 9th ed. Washington: ASM Press.
- Klugman KP. Pneumococcal resistance antibiotics. Clin Microbiol Rev., 3: 171-196.
- Koneman EW et al (2001). In: Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Medsi Editora.
- Mamizuka MN (2009). Early dissemination of KPC-2- producing Klebsiella pneumoniae strains in Brazil. Antimicrobial agents and chemotherapy, 53(6): 2702.
- Marques TC et al (2008). Erros de administração de antimicrobianos identificados em estudo. Rev. Bras. Cienc. Farm., 44(2): 305-314. DOI: 10.1590/S1516- 93322008000200016.
- Martino MDV et al (2003). Isolamento de *Enterococcus* resistente a vancomicina em unidades de terapia intensiva com o uso de meio cromogênico. Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 48(1): 77-80.
- Molinaro E et al (2009). Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde. Volume 4, EPSJV, IOC, Rio de Janeiro.
- Mota LM et al (2010). Uso racional de antimicrobianos. Medicina (Ribeirão Preto), 43(2): 164-72. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v43i2p164-172.
- Mouton JW et al (1999) Use of pharmacodynamic indices to predict efficacy of combination therapy in vivo. Antimicrob. Agents Chemother. Washington, 43(10): 2473–2478.
- Mundy LM et al (2000). Relationships between Enterococcal virulence and antimicrobial resistance. Clin Microbiol Rev., 13(4): 513-22.
- Murray BE (2000). Problems and perils of vancomycin resistant enterococci. Braz J Infect Dis., 4(1): 9-14.
- Nicolau DP (2008). Carbapenems: a potent class of antibiotics. Expert opinion on pharmacotherapy, 9(1): 23-37.
- Nordmann P et al (2012). Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! Trends in molecular medicine, 18(5): 263-72.
- Novaretti MCZ et al (2014). Controle De Vendas De Antibióticos No Brasil. RASM, 4(2): 25-39.

- Oliva A et al (2014). Synergistic activity and effectiveness of a double-carbapenem regimen in pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *J Antimicrob Chemother*. Birmingham, 69(6): 1718-1820.
- Oliveira AB et al (2005). Obstáculos da atenção farmacêutica no Brasil. *Rev. Bras. Cienc. Farm*, 41(4): 409-413. DOI: 10.1590/S1516-93322005000400002.
- Oliveira FBM et al (2011). Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma reflexão no tratamento das infecções hospitalares. *Revista Interdisciplinar NOVAFAPI, Teresina*. 4(4): 72-77.
- Oliveira KR, Munaretto P (2010). Uso Racional de antibióticos: Responsabilidade de prescritores, usuários e dispensadores. *Rev. Contexto Saúde*, 18(9): 43-51.
- OMS (2014). *Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*. Genebra, Suíça: Organização Mundial da Saúde.
- OPAS (2008). *Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública – CGLAB/SVS/MS e Disciplina de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo*. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde. 2008.
- Oplustil CP (2012). *Microbiologia clínica. Coleção 156 perguntas e respostas*. 2. Ed. Sarvier.
- Oplustil CP et al (2004). *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 2ª ed. São Paulo: Sarvier Editora.
- Oplustil CP et al (2004a). *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 2ª ed. São Paulo: Sarvier Editora.
- Oplustil CP et al (2004b), Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto IS. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 2ª ed. São Paulo: Sarvier Editora.
- Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (2006). Eighteenth informational supplement. CLSI document M100-S18. Pennsylvania.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (2006). Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S15. Pennsylvania.
- Portal Educação (2017). *Microbiologia geral*. Disponível em: <<https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/moda/microbiologia-geral/7507>>. Acesso em: 30 ago. 2017.
- Qureshi ZA et al (2012). Treatment Outcome of Bacteremia due to KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Superiority of Combination Antimicrobial Regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. Washington, 56(4): 2108-2112.
- Reynolds PE, Courvalin P (2005). Vancomycin resistance in Enterococci due to synthesis of precursors terminating in D-Alanyl-D-Serine. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(1): 21-25.
- Ribeiro GX et al (2015). A importância da Farmácia Clínica no uso racional de antimicrobianos em Unidade de Terapia Intensiva. *RBAC*, 47(1-2): 13-16.

- Robbins JB et al (1983). Considerations for formulating the second generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on the cross-reactive types within groups. *J Infect Dis.*, 148: 1136-1159.
- Rodrigues Fd'A, Bertoldi AD (2010). Perfil da utilização de antimicrobianos em um hospital privado. *Ciência & Saúde Coletiva*, 5: 1239-1247. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232010000700033>. Acesso em: 25 ago. 2017.
- Ruoff KL et al (2007). *Streptococcus*. In: Manual of Clinical Microbiology. Editor in Chief: Murray PR. 9th ed. Washington: ASM Press.
- Santos IAL et al (2015). Mecanismos de resistência antimicrobiana em *Pseudomonasaeruginosa*. *RBAC*, 7(1-2): 5-12. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/05/RBAC_Vol.47_n1-2-Completa.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2017.
- Sargi GAV et al (2013). Avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos de *Pseudomonasaeruginosa* isoladas do ambiente hospitalar. *RBAC*. 45(1-4): 19-22. Disponível em: <<https://docslide.com.br/documents/rbac-volume-45-numeros-1-4-ano-2013.html>>. Acesso em: 30 ago. 2017.
- Satlin MJ et al (2011). Comparative Effectiveness of Aminoglycosides, Polymyxin B, and Tigecycline for Clearance of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* from Urine. *Antimicrob Agents Chemother*. Washington, 2011.
- SAÚDE SP GOV (2016). Plano de Prevenção e Controle de Bactérias Multirresistentes (BMR) para os Hospitais do Estado de São Paulo. Disponível em: <<http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/infeccao-hospitalar/plano-estadual-prevencao-e-controle-de-bacterias-multiresistentes-bmr>>. Acesso em: 12 set. 2017.
- Scarcela MAA et al (2011). Investigação do uso indiscriminado de amoxicilina em crianças na faixa etária de 2 a 10 anos. *Cenarium Farmacêutico* 4(4): 1-27.
- Schrag SJ et al (2004). Emergence of *Streptococcus pneumoniae* with very-high-level resistance of penicillin. *Antimicrob Agents Chemother*, 48: 3016-3023.
- Silva EU (2020). A importância do controle da prescrição de antimicrobianos em hospitais para melhoria da qualidade, redução dos custos e control
- Simonsen GS et al (2004). The antimicrobial resistance containment and surveillance approach - a public health tool. *Bull World Health Organ*, 82: 928-934.
- Steel HC et al (2015). Overview of Community-Acquired Pneumonia and the Role of Inflammatory Mechanisms in the 15 Semana Acadêmica. *Fortaleza*, 1(72): 1-17 Immunopathogenesis of Severe Pneumococcal Disease. *Mediators of Inflammation*. 2013; 1-18. DOI: 10.1155/2013/490346.

- Straub RO (2014). *Psicologia da Saúde: Uma Abordagem Biopsicossocia*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed.
- Tavares W (2000). Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev Soc. BrasMed Trop.*, 33(3): 281-301.
- Toledo PV et al (2012). Surveillance programme for multidrugresistant bacteria in healthcare-associated infections: an urban perspective in South Brazil. *J Hosp Infect. Londres*, 80: 351-53.
- Tortora GJ et al (2012). *Microbiologia*. 10ª ed. Porto Alegre: Artmed.
- Trabulsi LR, Alterthum F (2008). *Microbiologia*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu.
- Tumbarello M et al (2012). Predictors of mortality in bloodstream infections caused by KPC–Producing *K. pneumoniae*: Importance of Combination Therapy. *Clin Infect Dis. Boston*, 55(7).
- Wannmacher L (2004). Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? ISSN 1810-0791 Vol. 1, Nº 4 Brasília.
- Wannmacher L (2004). Uso racional de antidepressivos. In: BRASIL. Ministério da Saúde. *Uso Racional de Medicamentos: temas selecionados*. Brasília: Ministério da Saúde.
- Weckx L (2012). Antibióticos: do uso ao abuso. *Braz. j. otorhinolaryngol.*, 78(2): 2-2. DOI: 10.1590/S1808-86942012000200001.
- Whitney CG et al (2003). Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med.*, 348: 1737-1746. <http://content.nejm.org/cgi/reprint/348/18/1737.pdf>
- WHO (2014). World Health Organization. *Antimicrobial Resistance. Global Report on Surveillance*. Geneva: World Health Organization Press, 1-232.
- Zanella RC et al (1999). First confirmed case of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with vanA phenotype from Brazil: isolation from a meningitis case in Sao Paulo. *Microb Drug Resist.*, 5(2): 159-162.
- Zimerman RA (2012). Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana. In: BRASIL. Ministério da Saúde. *Uso Racional de Medicamentos: temas selecionados*. Brasília: Ministério da Saúde, 21-30.
- Zusman O et al (2013). Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob. Agents Chemother. Washington*, 57(10): 5104-11.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acanthamoeba, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 32, 33, 34, 37, 38, 39
Acanthamoeba polyphaga, 26
acantopódios, 23
acidemias orgânicas, 40, 41, 42, 54, 55
Acinetobacter, 60, 61, 67, 79
análise histopatológica, 30
anomalia congênita, 44

B

bactérias, 5, 23, 24, 28, 31, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 68, 69, 70, 74, 75, 76, 80, 85, 88, 89, 91, 93
biossegurança, 9, 13, 17, 18
biotério, 9, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18

C

carbapenêmicos, 60, 63, 64, 71, 76, 77, 79, 80
cefalosporinas, 63, 69, 71, 72, 73, 74, 75, 83
ceratite amebiana, 22
ciclo de vida, 25, 26
córnea, 24, 27, 29, 30, 34, 35
cromatografia, 47, 48, 50, 55

D

diagnóstico, 22, 28, 29, 30, 31, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 46, 48, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 61, 62, 83, 86

E

ectocisto, 23
endocisto, 23
Enterococcus, 60, 62, 71, 72, 91, 92, 93, 97
enzimas, 62, 63, 67, 76, 77, 78
eosina, 31, 38
erros inatos do metabolismo, 40, 41, 48, 53, 55, 56
Escherichia coli, 63, 74
espectrometria
de massas, 47
em Tandem, 48, 55
estroma, 27, 28

H

hematoxilina, 31, 38

I

imunofluorescência direta, 38
infecções hospitalares, 57, 58, 64, 76, 84, 85, 88, 89, 90, 94

K

Klebsiella pneumoniae, 60, 64, 79, 92, 93, 94, 95, 96

M

microscopia confocal *in vivo*, 30
multirresistência, 65, 67

P

patogenicidade, 18, 27, 71
patologias, 5, 21, 22, 23, 26, 29, 35, 40, 42, 47, 48, 55, 66, 88
penicilinas, 63, 64, 69, 73, 75, 76
proteínas, 27, 45, 49, 67, 72
protozoário, 23, 24, 27, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37
Pseudomonas aeruginosa, 66, 75, 79

R

reação em cadeia da polimerase em tempo real, 33

S

Salmonella, 61, 63, 64, 65, 93
Shigella, 61, 65, 66
Staphylococcus, 60, 62, 68, 69, 73, 74, 75, 76, 90, 92, 93

T

taxonomia, 24
tratamento, 15, 17, 18, 22, 30, 34, 35, 37, 40, 41, 42, 45, 46, 48, 54, 55, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 68, 69, 74, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 85, 86, 87, 88, 94
trofozoíto, 23

SOBRE OS AUTORES



 Camila Correa Fernandes

Licenciada em Ciências biológicas, com interesse na área de: biossegurança, microbiologia e ambiental.

Contato: correafernandescamila@gmail.com



 Mariana Alves da Silva do Couto

Graduada em ciências Biológica. Pós Graduada: Em Ciências do laboratório e diagnóstico in vitro. Pós Graduada em Gestão Ambiental. Área de interesse laboratório de análises clínica. Microbiologia, Parasitologia ou analista.

Contato: marianaalvescouto@gmail.com



 Larissa Maria Batista de Jesus

Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Unigranrio. Pós Graduada em Ciências do laboratório e diagnóstico in vitro, pela Universidade Unigranrio. Atualmente professora de Ciências e Biologia na escola particular Educandário Luz do Saber, em Duque de Caxias. Área de interesse: Análises Clínicas, Bioquímica, Imunologia, Parasitologia e Hematologia.

Contato: larissa.fj2@gmail.com



ID Vagner Braz dos Santos

Farmacêutico Bioquímico. Pós Graduado em Ciências do laboratório e diagnóstico um vitro.

Contato: vagnerbrazz@hotmail.com.br



ID Danielle Alves Ferraz dos Santos Albernaz

Farmacêutica Generalista. Pós-graduada em Análises Clínicas, Microbiologia e Farmácia Hospitalar.

Contato: dadaferraz26@gmail.com



ID Thiely Rodrigues Ott

É mestre em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro–UERJ. Atualmente doutoranda do curso da pós graduação em Biotecnologia pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – INMETRO. Graduada em Biomedicina pelo Centro Universitário Metodista IPA. Contato: thiely.ott@gmail.com



ISBN 978-658831946-8



Pantanal Editora
Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp)
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br