



UAAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

***INFEÇÕES ASSOCIADAS AOS CUIDADOS DE SAÚDE: O CASO DA
BACTÉRIA STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À
METICILINA***

Maria Camila Faria Pereira Coelho

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob orientação da Prof.^ª Doutora Maria Leonor Faleiro e sob a
coorientação da Prof.^ª Doutora Isabel Maria Pires Sebastião Ramalhinho

2016



UA Ig

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

***INFEÇÕES ASSOCIADAS AOS CUIDADOS DE SAÚDE: O CASO DA
BACTÉRIA STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À
METICILINA***

Maria Camila Faria Pereira Coelho

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob orientação da Prof.^ª Doutora Maria Leonor Faleiro e sob a
coorientação da Prof.^ª Doutora Isabel Maria Pires Sebastião Ramalinho

2016

INFEÇÕES ASSOCIADAS AOS CUIDADOS DE SAÚDE: O CASO DA BACTÉRIA STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright[©]

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

As minhas primeiras palavras vão para a minha mãe, por todo o apoio incondicional que me proporcionou ao longo do meu percurso académico, por todos os conselhos e por todas as sábias palavras que, em tantas situações, foram fundamentais para me ajudar a ultrapassar as adversidades.

Seguidamente, as minhas palavras vão para o resto da minha família, pai, avó, primos, tios, a quem agradeço por todas as palavras de apoio.

Aos meus amigos de faculdade, um muito obrigado por todos os momentos que pudemos partilhar, desde os tempos de caloiro até este momento determinante no nosso percurso profissional. Guardo cada um de vocês no meu coração!

À Verónica Resende, à Inês Querido, à Jéssica Brás e ao Miguel Dias, quero agradecer pelo vosso apoio, pela vossa amizade e por todos os momentos que passámos juntos.

Ao Humberto Melo quero deixar um especial agradecimento por tudo o que me ensinou ao longo da minha vida quer académica quer pessoal, por todo o apoio ao longo desta etapa final e pela sua verdadeira amizade.

À Prof^a Doutora Isabel Ramalinho tenho a agradecer pela dedicação que demonstra aos seus alunos, pela paixão que nos transmite pela profissão farmacêutica e pela sua entrega ao curso. À Prof^a Doutora Leonor Faleiro quero agradecer pelos conselhos, pela orientação e dedicação na realização desta monografia.

Não posso deixar de agradecer a todos os docentes que contribuíram para a minha formação, transmitindo-me as ferramentas necessárias para iniciar a minha carreira farmacêutica.

Quero ainda agradecer ao Hospital Doutor Professor Fernando Fonseca, E.P.E. e à Farmácia Cartaxo pela oportunidade de realizar o meu estágio curricular nestas duas instituições, que contribuíram para o enriquecimento da minha formação académica.

A todos vós, Obrigada!

RESUMO

Em 1944 foram reportados os primeiros casos de resistência à penicilina por *Staphylococcus aureus*, tendo sido o início de uma constante evolução dos mecanismos de resistência desta bactéria multirresistente face a novos antibióticos introduzidos.

Hoje em dia, a bactéria *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) é considerada uma das principais responsáveis pelas Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde quer a nível europeu, quer a nível mundial. De facto, estima-se que, em 2008, mais de 380,000 Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde estavam correlacionadas a bactérias multirresistentes, das quais 44% estavam associadas a infeções provocadas por MRSA.

Apesar da percentagem de isolados de MRSA manter-se estável ou mesmo a diminuir na grande maioria dos países pertencentes à União Europeia e Espaço Económico Europeu (EEA), Portugal continua a apresentar níveis preocupantes destes isolados atingindo uma taxa de resistência de 47,4 % em 2014.

Atualmente, a vancomicina é o fármaco antimicrobiano mais prescrito para o tratamento de infeções provocadas por MRSA, contudo a preocupação com as limitações terapêuticas da vancomicina, devido à evolução da resistência e reduzida atividade bactericida, levou à necessidade de se introduzir novos agentes antiestafilocócicos. Dentro destas novas abordagens terapêuticas destacam-se os antibióticos dalbavancina, oritavancina, tedizolida, ceftobiprole, assim como outras alternativas antiestafilocócicas em desenvolvimento.

Esta monografia tem como objetivo demonstrar o impacto de das estirpes MRSA nas Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde e apresentar medidas futuras com a finalidade de diminuir a prevalência e incidência desta bactéria multirresistente.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; MRSA; resistências antimicrobianas; Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde

ABSTRACT

The first cases of resistance by *Staphylococcus aureus* to penicillin were reported in 1944, which was the beginning of a constant evolution of resistance mechanisms by this multidrug-resistant bacteria to new antibiotics introduced.

Nowadays, the bacteria methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is considered one of the main responsible for Healthcare-Associated Infections at European level and globally. In fact, it's estimated that in 2008, more than 380,000 Healthcare-Associated Infections were correlated with multidrug-resistant bacteria, of which 44% were associated to infections caused by MRSA.

Although the rate of isolates of MRSA is stabilized or even decreasing in most countries of the European Union and European Economic Area (EEA), Portugal continues to show worrying levels of MRSA isolates displaying a resistance rate of 47,4 % in 2014.

Currently, vancomycin is the antimicrobial drug more prescribed for the treatment of infections caused by MRSA however a concern on the therapeutic limitations' of vancomycin due to the evolution of resistance and reduced bactericidal activity, led to the need of introduction of new antistaphylococcal agents. Within these new therapeutic approaches stand out the antibiotics dalbavancine, oritavancine, tedizolide, ceftobiprole, as well as other antistaphylococcal alternatives in development.

This master thesis aims to demonstrate the impact of MRSA strains in the Healthcare-Associated Infections and present and future prospects in order to reduce the prevalence and incidence of this multidrug-resistant bacteria.

Keywords: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA; antimicrobial resistance; Healthcare-Associated Infections

ÍNDICE

1. INTERESSE E ATUALIDADE DO TEMA	1
2. DESENVOLVIMENTO DE ANTIBIÓTICOS <i>VERSUS</i> APARECIMENTO DAS PRIMEIRAS RESISTÊNCIAS.....	2
2.1. Desenvolvimento dos mecanismos moleculares de resistência em <i>Staphylococcus aureus</i>	4
i. Resistência a antibióticos β -lactâmicos: Penicilina.....	4
ii. Resistência a antibióticos aminoglicosídeos.....	6
iii. Resistência aos antibióticos macrólidos, lincosamidas e estreptograminas.....	6
iv. Resistência a antibióticos β -lactâmicos: Metilina	7
v. Resistência aos antibióticos quinolonas: Fluorquinolonas.....	10
vi. Resistência aos antibióticos glicopeptídeos: Vancomicina	11
2.2. Epidemiologia	16
i. Uma Visão Global.....	16
ii. Europa.....	17
iii. Portugal.....	19
3. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTE À METICILINA: UMA BACTÉRIA MULTIRRESISTENTE	20
3.1. Características gerais de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.2. Mecanismos de virulência	21
i. Fatores de superfície celular: cápsula e proteínas de ligação à fibronectina..	22
ii. Fatores secretados: lípases, citolisinas, superantigénios e protéases	22
iii. Superantigénios: Enterotoxinas Estafilocócicas e Toxina-1 do Síndrome do Choque Tóxico	23
iv. Citotoxinas	24
v. Formação de Biofilmes	24
3.3. Colonização e o processo de patogénese por MRSA.....	26
3.4. Transmissão interindividual de MRSA	29
3.5. MRSA adquirido em meio hospitalar e MRSA adquirido na comunidade.....	30
3.6. Orientações Clínicas no tratamento de infeções provocadas por MRSA.....	33
i. Terapêutica Empírica	35
4. SISTEMAS DE VIGILÂNCIA E NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS	41

4.1.	Sistemas de Vigilância.....	41
vi.	Europa: <i>European Antimicrobial Resistance Surveillance Network</i>	41
vii.	Portugal: Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência a Antimicrobianos (PPCIRA)	41
4.2.	Agentes antiestafilocócicos aprovados recentemente	44
i.	Dalbavancina (Dalvance® EUA, Xydalba® UE).....	45
ii.	Oritavancina (Orbactiv®).....	47
iii.	Tedizolida (Sivextro®)	49
iv.	Ceftobiprole (Zevtera®, Mabelio®)	50
4.3.	Terapêuticas alternativas em desenvolvimento.....	51
5.	AÇÕES FUTURAS PARA CONTROLAR O DESENVOLVIMENTO DE RESISTÊNCIAS	52
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Relação entre o desenvolvimento de antibióticos e o aparecimento de bactérias resistentes.....	3
Figura 2.2 – Mecanismos moleculares de resistência desenvolvidos por <i>Staph. aureus</i> à penicilina.....	5
Figura 2.3 – Mecanismos moleculares de resistência à metilina desenvolvidos por <i>Staph. aureus</i>	9
Figura 2.4 – Comparação da ação da vancomicina entre estirpes de <i>Staph. aureus</i> sensíveis à vancomicina e estirpes com resistência intermédia à mesma.....	14
Figura 2.5 – Mecanismos de resistência à vancomicina por <i>Staph. aureus</i>	14
Figura 2.6 – Marcos importantes na evolução dos mecanismos de resistência em <i>Staph. aureus</i>	15
Figura 2.7 – Distribuição dos isolados de <i>Staph. aureus</i> resistentes à metilina (MRSA) por país, com dados obtidos entre 2011 e 2014.....	17
Figura 2.8 – Distribuição da percentagem de isolados de <i>Staph. aureus</i> resistente à metilina nos países da União Europeia e do Espaço Económico Europeu relativo a 2012.....	18
Figura 2.9 – Representação gráfica da resistência à metilina nos isolados invasivos de MRSA, em Portugal, entre 1999 e 2014.....	20
Figura 3.1 – Mecanismos de formação do biofilme por parte de <i>Staph. aureus</i>	26
Figura 3.2 – Modelo da origem das estirpes CA-MRSA e HA-MRSA.....	32

Figura 4.1 – Estrutura de gestão do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências Antimicrobianas.....42

Figura 5.1 – Número de óbitos associados a Resistências Antimicrobianas em comparação com outras causas de óbito.....53

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 3.1 – Hierarquia taxonómica de <i>Staph. aureus</i>	21
Quadro 3.2 – Fatores de virulência secretados por <i>Staph. aureus</i> e respetiva ação patogénica.....	23
Quadro 3.3 – Principais diferenças entre as estirpes CA-MRSA e HA-MRSA.....	33
Quadro 3.4 – Terapêutica antimicrobiana empírica e possíveis alternativas para o tratamento das principais infeções provocadas por <i>Staph. aureus</i> resistente à metilina.....	39

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 – Fontes de infeção provocadas por <i>Staph. aureus</i> resistente à metilina, durante o ano seguinte à deteção de doentes colonizados.....	28
Tabela 4.1 – Proporção de MRSA no total de <i>Staph. aureus</i> e densidade de incidência de INCS por <i>Staph. aureus</i> e por MRSA no ano 2012 e 2013.....	44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABSSSI	<i>Acute bacterial skin and skin structure infections</i> (infeções bacterianas agudas da pele e de estruturas da pele)
APCs	<i>Antigen-presenting cells</i> (células apresentadoras de antígenos)
ARS	Administração Regional de Saúde
BARDA	<i>Biomedical Advance Research and Development Authority</i>
BPEI	Polietilenoimina ramificada
CAP	<i>Community-acquired pneumonia</i> (pneumonia adquirida na comunidade)
CHMP	<i>Committee for Medicinal Products for Human Use</i> (Comité de Medicamentos para Uso Humano)
CIM	Concentração mínima inibitória
Cif	<i>Clumping factor</i> (fator de aglutinação)
CPs	<i>Capsular Polysaccharides</i> (polissacarídeos capsulares)
CA-MRSA	<i>Community-associated MRSA</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina associado à comunidade)
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CNS	<i>Staphylococcus Coagulase-Negative</i> (<i>Staphylococcus Coagulase-Negativa</i>)
DGS	Direção-Geral da Saúde
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico, ADN)
EARS-Net	<i>European Antimicrobial Resistance Surveillance</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
EEE	Espaço Económico Europeu
EMA	<i>European Medicines Agency</i> (Agência Europeia de Medicamentos)
EPS	<i>Exopolysaccharides</i> (Exopolissacarídeos)

FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
FnBP	<i>Fibronectin-binding proteins</i> (proteínas de ligação à fibronectina)
G+C	Cocos Gram-Positivos
GHSA	<i>Global Health Security Agenda</i>
GLASS	<i>Global AMR Surveillance System</i>
HA-MRSA	<i>Hospital-associated</i> MRSA (<i>Staphylococcus aureus</i> associado ao meio hospitalar)
HAP	<i>Hospital-acquired pneumonia</i> (pneumonia adquirida em meio hospitalar)
hVISA	<i>Staphylococcus aureus</i> com resistência heterogénea à vancomicina
I&D	Investigação e desenvolvimento
IACS	Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde
INCS	Infeções nosocomiais da corrente sanguínea
IMI	Iniciativa de Medicamentos Inovadores
IPC_RAM	Iniciativa de Programação Conjunta para a Resistência Antimicrobiana
IPTMs	Infeções da Pele e dos Tecidos Moles
MAO	Monoaminoxidase
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina
MSCRAMMs	Componentes da superfície microbiana reconhecedoras de moléculas adesivas da matrix
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível à metilina
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PAV	Pneumonia associada ao ventilador

PBD	<i>Penicillin-binding domain</i> (domínio de ligação à penicilina)
PBP	<i>Penicillin-binding protein</i>
PBP2a	<i>Penicillin-binding protein 2a</i>
PFGE	<i>Pulsed-field gel electrophoresis</i> (Eletroforese em gel de campo pulsado)
PPCIRA	Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos
PQ	Perceção de quórum
PSMs	<i>Phenol-soluble modulins</i> (Modulinas solúveis em fenol)
PVL	Leucocidina <i>Panteon-Valentine</i>
RAM	Resistência Antimicrobiana
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> (ácido ribonucleico, ARN)
RNA_m	<i>Messenger Ribonucleic acid</i> (ácido ribonucleico mensageiro, mARN)
SEs	<i>Staphylococcal enterotoxins</i> (Enterotoxinas estafilocócicas)
THF	<i>Tetrahydrofuran</i> (tetraidrofurano)
TMP-SMX	Trimetoprim-Sulfametoxazol
TSS	<i>Toxic Shock Syndrome</i> (Síndrome do Choque Tóxico)
VE	Vigilância Epidemiológica
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> com resistência intermédia à vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à vancomicina
UCC	Unidades de Cuidados Continuados
UCCI	Unidades de Cuidados Continuados Intensivos

1. INTERESSE E ATUALIDADE DO TEMA

A introdução de antibióticos na medicina a partir da década de 40 veio revolucionar os cuidados de saúde. O seu papel expandiu-se desde o tratamento de infeções severas, na prevenção de aquisição de infeções em doentes cirúrgicos, a nível profilático em doentes imunocomprometidos até à utilização na agricultura em alimentos de origem animal. (2)

Atualmente, as infeções anteriormente tratáveis estão-se a tornar mais difíceis de combater, aumentando os custos hospitalares e dos serviços de saúde, bem como elevando os níveis de mortalidade. (2) A decrescente eficácia dos antibióticos evoluiu desde um problema inofensivo até à atual ameaça que se demonstra a nível mundial, com diversos agentes patogénicos resistentes a mais do que um antibiótico, aliado ao facto de os novos antibióticos e antibióticos de último recurso serem demasiado dispendiosos e muitas vezes difíceis de adquirir. (2)

A resistência antimicrobiana é resultado do uso quer proporcional, quer desproporcional, de antibióticos que se tem verificado nos últimos anos, pelo que quanto maior o consumo de antibióticos, maior a probabilidade de desenvolvimento de resistências bacterianas, devido à pressão seletiva exercida sobre estirpes resistentes. (2)

Nos Estados Unidos da América estima-se que as resistências aos antibióticos sejam responsáveis por mais de 2 milhões de infeções e 23 mil óbitos por ano, com um custo direto de 20 biliões de dólares, segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC). (3) Na Europa, estima-se que, anualmente, cerca de 25 mil óbitos estejam associados a infeções causadas por bactérias resistentes a antibióticos, resultando em custos diretos e indiretos de 1,5 biliões de euros. (4)

O mais recente relatório sobre resistências antimicrobianas, desenvolvido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2014, descreve os seguintes agentes patogénicos *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* como os três agentes de maior preocupação, associados quer a infeções adquiridas na comunidade, quer a infeções hospitalares. (5)

2. DESENVOLVIMENTO DE ANTIBIÓTICOS VERSUS APARECIMENTO DAS PRIMEIRAS RESISTÊNCIAS

Durante o século XIX, certas infeções como a pneumonia, colite e difteria, eram consideradas as principais causas de morte, assim como as infeções pós-cirúrgicas e outras adquiridas em meio hospitalar provocadas, essencialmente, por bactérias Gram-positivas. Neste sentido, as descobertas por *Pasteur*, *Koch* e *Lister*, acompanhadas pelo início da Era Bacteriológica, foram essenciais para depreender as causas de muitas das infeções bacterianas adquiridas em meio hospitalar, influenciando a necessidade do desenvolvimento da quimioterapia antimicrobiana. (6)(7)

A quimioterapia antimicrobiana moderna iniciou-se após a síntese do primeiro agente antimicrobiano, salvarsan, sintetizado em 1910 por *Paul Ehrlich* e extensamente utilizado no tratamento de sífilis e tripanossomíase. Seguidamente em 1932, *Domagk* foi o principal responsável pelo desenvolvimento do prontossil, um profármaco metabolizado em sulfanilamida, tendo sido o primeiro antimicrobiano a ser comercializado. (6)

Finalmente, em 1928, ocorre um dos eventos mais marcantes da história, da medicina e da farmácia do século XX: a descoberta da penicilina por *Alexander Fleming*. Enquanto *Fleming* estudava as propriedades antimicrobianas da lisozima em culturas de *Staph. aureus*, observou que a sua proliferação fora inibida pela presença de um fungo. De facto, as suas placas de Petri tinham sido acidentalmente contaminadas por vários microrganismos, incluindo o fungo *Penicillium notatum*, responsável pela produção de um composto com atividade antibacteriana, que foi denominado de penicilina. (8)

No seguimento das experiências desencadeadas por *Fleming*, dois investigadores da Universidade de Oxford, *Howard Florey* e *Ernst Chain*, dedicaram-se ao estudo das propriedades antibacterianas da penicilina, assim como do processo de purificação da mesma e, em 1941, demonstraram os benefícios da utilização deste antibacteriano em seres humanos. Devido a estas descobertas, a penicilina foi

extensamente utilizada no decurso da Segunda Guerra Mundial e começou a ser comercializada em larga escala no segundo semestre de 1943. (9)

Durante as subsequentes duas décadas foram desenvolvidas novas classes de antibióticos, tais como aminoglicosídeos, através da descoberta da estreptomicina, tetraciclina, macrólidos, glicopéptidos, como a vancomicina, e em 1962 foi sintetizada a primeira quinolona, o ácido nalidíxico. Pode-se então considerar, que estávamos perante a Era Dourada da quimioterapia antibacteriana. (10)

Na verdade, a descoberta e introdução de antibióticos durante o século XX veio revolucionar a medicina, contribuindo para a diminuição dos níveis de morbidade e mortalidade e, conseqüentemente para o aumento da esperança média de vida. Todavia, os primeiros casos de resistência a antibióticos apareceram no final da década de 30 e no início da década de 40, como é visível na **Figura 2.1.**, que representa a relação entre o desenvolvimento de novos antibióticos e o aparecimento de bactérias resistentes aos mesmos. (1)

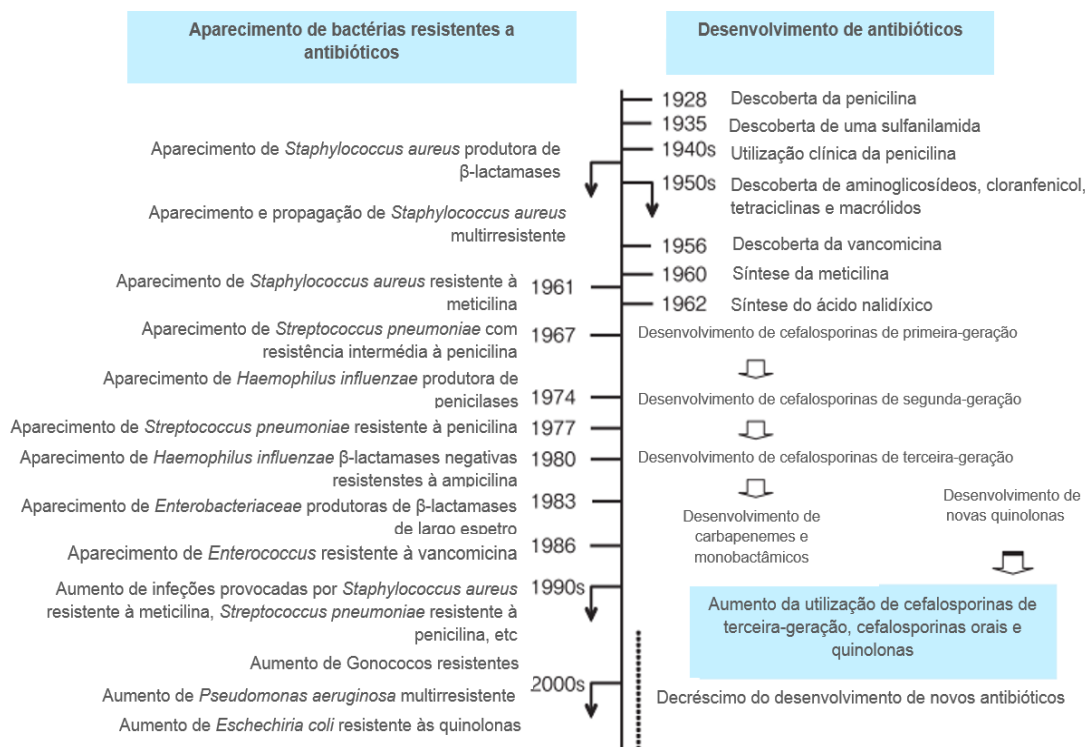


Figura 2.1. - Relação entre o desenvolvimento de antibióticos e o aparecimento de bactérias resistentes. Adaptado de Sga e Yamaguchi (5).

2.1. Desenvolvimento dos mecanismos moleculares de resistência em *Staphylococcus aureus*

i. Resistência a antibióticos β -lactâmicos: Penicilina

No caso de *Staph. aureus* os primeiros casos de resistência à penicilina ocorreram em 1944, pouco tempo após a sua descoberta, pelo que hoje em dia praticamente todas as estirpes são resistentes às penicilinas naturais, aminopenicilinas, ureidopenicilinas e carboxipenicilinas. (11) Esta resistência, mediada por β -lactamases¹, foi adquirida pela transferência horizontal de um plasmídeo, geralmente constituído por genes adicionais de resistência antimicrobiana, tais como genes resistentes à gentamicina e eritromicina. (12)

A resistência à penicilina é mediada pelo gene *blaZ* que se encontra sob controlo de dois outros genes reguladores adjacentes: o gene antirrepressor *blaR1* e o gene repressor *blaI*. Uma vez exposto a antibióticos β -lactâmicos, a proteína transmembranar de sensor/sinal BlaR1 sofre uma ativação autocatalítica, atuando como uma protease, que cliva a proteína repressora BlaI, permitindo que *blaZ* codifique β -lactamases. Assim sendo, quando a bactéria é exposta a antibióticos β -lactâmicos, estas enzimas são sintetizadas, provocando a hidrólise do anel β -lactâmico e, conseqüentemente, inativando-o. (12)

Na **Figura 2.2.** estão descritos os mecanismos moleculares de resistência à penicilina, por parte de *Staph. aureus* e, seguidamente, é apresentado o texto de suporte à mesma.

¹ **B-lactamases:** Enzimas sintetizadas por *Staph aureus* quando exposto a antibióticos β -lactâmicos, provocando a hidrólise do anel β -lactâmico e inativando-o. (8)

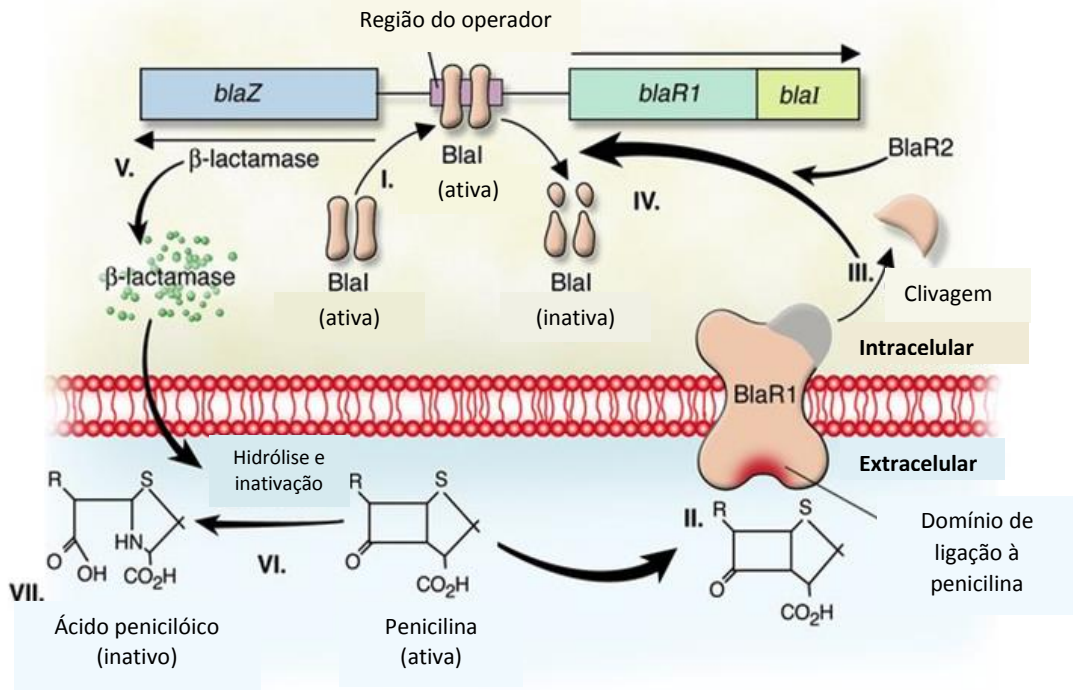


Figura 2.2 - Mecanismos moleculares de resistência desenvolvidos por *Staph. aureus* à penicilina. (I) Na ausência de penicilina, a proteína Blal na sua forma ativa, liga-se à região do operador, reprimindo a transcrição do RNA e dos genes *blaZ* e *blaR1-blaI*. (II) Na presença de penicilina, a ligação desta à proteína transmembranar de sensor/sinal BlaR1, estimula a sua ativação autocatalítica, formando-se uma proteína com função de protease. (III-IV) A proteína BlaR1 ativa é clivada em fragmentos, quer pela protease formada, quer por ação de uma segunda proteína, BlaR2, impossibilitando a sua ligação ao operador. (V) A transcrição dos genes *blaZ* e *blaR1-blaI* é efetuada, o que desencadeia a produção de beta-lactamases. (VI) As beta-lactamases hidrolisam o anel beta-lactâmico da penicilina. (VII) Ocorre formação do ácido penicilóico, forma inativa da penicilina. Adaptado de Lowy (8)

Na ausência de penicilina, a proteína repressora de ligação ao DNA, Blal (ativa), liga-se à região do operador, reprimindo a transcrição do RNA e a transcrição dos genes *blaZ* e *blaR1-blaI*, pelo que, nesta situação, a enzima beta-lactamase é expressa a baixos níveis (I). (12)

Na presença de penicilina, a ligação da mesma à proteína transmembranar de sensor/sinal BlaR1 (II) estimula a sua ativação autocatalítica, formando-se uma proteína clivada que atua como uma protease (III). Deste modo, a proteína BlaR1 ativa é clivada em fragmentos, quer diretamente pela ação da protease anteriormente formada, quer indiretamente através de uma segunda proteína, BlaR2, impedindo a sua ligação à região do operador (IV). Assim sendo, ocorre a transcrição dos genes *blaZ* e *blaR1-blaI* e a consequente produção de beta-lactamases, enzimas extracelulares codificadas pelo gene *blaZ* (V). Em contacto com a penicilina, estas enzimas hidrolisam

o seu anel β -lactâmico **(VI)**, formando-se o ácido penicilóico, forma inativa da penicilina **(VII)**. (12)

ii. Resistência a antibióticos aminoglicosídeos

Os antibióticos aminoglicosídeos foram introduzidos em 1944 e em 1950 começaram a surgir estirpes de *Staph. aureus* resistentes a esta classe de antibióticos. (13)

O mecanismo de ação dos antibióticos aminoglicosídeos incide na inibição da síntese proteica bacteriana, através da ligação à subunidade ribossomal 30S bacteriana, no meio intracelular. Apesar de os passos necessários para iniciar a síntese proteica não serem afetados, tais como a associação da subunidade ribossomal 50S bacteriana e a ligação do mRNA, a associação dos aminoglicosídeos à subunidade ribossomal 30S bacteriana desencadeia uma leitura incorreta do mRNA, o que leva à produção de proteínas não funcionais, afetando a síntese proteica e exercendo o seu efeito bactericida. (14)

A resistência antimicrobiana a esta classe de antibióticos pode ocorrer por meio dos mecanismos descritos seguidamente: através da ocorrência de mutações cromossômicas que impossibilitam que os aminoglicosídeos se liguem ao ribossoma da célula bacteriana e inibam a síntese celular, à ineficaz penetração do antibiótico para o interior da célula bacteriana e, por fim, o mecanismo mais comum, a modificação enzimática dos aminoglicosídeos. Neste último caso, a diminuição da atividade antibacteriana, ocorre através da aquisição de genes modificadores dos aminoglicosídeos, *acc*, *aph* e *ant* que codificam as enzimas modificadoras destes antibióticos, acetiltransferases, fosfotransferases e adeniltransferases, respetivamente. (13)

iii. Resistência aos antibióticos macrólidos, lincosamidas e estreptograminas

Em 1952 foram introduzidos os antibióticos macrólidos, as lincosamidas e as estreptograminas, aparentando ser uma alternativa eficiente para o tratamento de infeções causadas por bactérias do género *Staphylococcus*, em doentes alérgicos à penicilina. Contudo, seguidamente surgiram os primeiros casos de resistências a estes

antibióticos, quer devido à ação de genes resistentes já presentes no genoma da bactéria, quer pela pressão seletiva, exercida por estas classes de antibióticos, sobre as estirpes de *Staph. aureus*. (13)

Estas três classes de antibióticos, apesar de apresentarem estruturas moleculares distintas, atuam por um mecanismo de ação similar. O seu mecanismo de ação ocorre por ligação à subunidade ribossomal 50S bacteriana, fator este que interfere com as reações de transpeptidação, translocação, alongação e, consequentemente, inibindo a síntese proteica bacteriana. (15)

A resistência a estes antibióticos, em *Staph. aureus*, decorre por meio de dois mecanismos: i) através da modificação do local de ligação do antibiótico ao ribossoma bacteriano, provocado pela metilação da subunidade 23S do RNA ribossomal, inserida na subunidade ribossomal 50S bacteriana, que é mediada pelos genes *ermA*, *ermB* ou *ermC* e ii) pela ativação de uma bomba de efluxo ATP-dependente, mediada pelo gene *mrsA*, o que permite que as concentrações intracelulares se mantenham abaixo do nível pretendido. (13)

iv. Resistência a antibióticos β -lactâmicos: Metilina

O antibiótico metilina foi introduzido em 1959, na Europa, apresentando-se como uma penicilina semissintética resistente às β -lactamases. Apesar de, inicialmente, esta terapêutica ter sido eficaz contra as estirpes de *Staph. aureus* resistentes à penicilina, cerca de dois anos mais tarde, em 1961, foram reportados os primeiros casos de *Staph. aureus* resistentes à metilina (MRSA) no Reino Unido, seguindo-se outros países da Europa, Japão e Austrália. (11)

A resistência à metilina resulta da aquisição do gene *mecA* que codifica uma *penicillin-binding protein* (PBP)² alterada, a PBP2A ou PBP2'. As PBP2A vão substituir as outras PBP e devido à sua baixa afinidade para os antibióticos β -lactâmicos, cefalosporinas e carbapenemes, permitem que *Staph. aureus* subsista mesmo quando exposto a elevadas concentrações destes antibióticos. (12)

² **Penicillin-binding protein (PBP):** são transpeptidases ligadas ao peptidoglicano que catalisam a reação de transpeptidação, permitindo a ligação cruzada dos componentes do peptidoglicano. (8)

De forma similar ao caso de resistência à penicilina, também o gene *mecA* está sob controlo de outros dois genes, *mecI* e *mecR1* que, por sua vez, estão associados a outros dois com função de recombinase, *ccrA* e *ccrB*. Estes genes estão localizados num elemento genético móvel, designado por cassete cromossómica estafilocócica (*SCCmec*), que está ausente na estirpe *Staph. aureus* sensível à metilina (MSSA). (16)

De acordo com a organização estrutural foram identificados onze *SCCmec* (I-XI), com tamanhos compreendidos entre 21kb e 67kb. Em todos os casos, a *SCCmec* insere-se na terminação 3' do gene *orfX*, sem que por isso interfira com o nível de expressão do mesmo, pois os aminoácidos terminais e o codão stop, no local de inserção, mantêm-se inalterados. Para além desta característica comum, todos os *SCCmec* contêm um complexo *mec* que engloba o gene *mecA* e os seus genes reguladores, *mecI* e *mecR1*, uma cassete cromossómica de recombinase (*ccr*) que pode conter um ou os dois genes com função de recombinase (*ccrA* e *ccrB*)³ e três regiões *Junk* (*J*)⁴. (16)

Atualmente, a origem do gene *mecA* supõe-se que provenha da espécie *Staph. fleuretti*, embora durante muito tempo, a mesma tenha sido referenciada à espécie *Staph. sciuri*. Ambas são espécies que infetam animais e, apesar de os mecanismos de evolução destes dois componentes genéticos não estarem bem elucidados, julga-se que os mesmos existiram de forma individual, tendo-se conjugado nestas espécies e, posteriormente, transferidos para *Staph. aureus*. (16)

Na **Figura 2.3.** estão representados os mecanismos moleculares de resistência à metilina por *Staph. aureus* que podem ser descritos do seguinte modo: (a) Na ausência de antibióticos β -lactâmicos, a transcrição do operador *mec* é impedida pela ligação da proteína repressora *MecI* a esta região. (b) Na presença de antibióticos β -lactâmicos, estes são detetados pela ligação ao *penicillin-binding domain* (PBD) da proteína *MecR1*. (c) Esta interação despoleta a ativação autolítica do domínio intracelular metaloproteinase (MPD) da proteína *MecR1*, localizado na subunidade L3. (d) Os fragmentos da parede celular bacteriana, presumivelmente originados pela ação dos antibióticos β -lactâmicos que provocaram a sua disrupção, atuam como

³ *ccrA* e *ccrB*: Genes responsáveis pela mobilidade da *SCCmec*. (10)

⁴ **Regiões *Junk* (*J*):** Regiões que codificam a resistência a outros antimicrobianos e a metais pesados. (10)

coativadores que se ligam à proteína MecI, de forma a promover a sua dissociação do operador *mec* e a sua degradação proteolítica. (e) Uma segunda proteína repressora codificada pelo gene *mecR2*, inserido no complexo *mec*, é transcrita e a proteína resultante, MecR2, liga-se à proteína MecR1 e promove também a sua proteólise. (f) A degradação da proteína MecR1 permite a transcrição do gene *mecA*, bem como a produção de PBP2a e a consequente expressão de resistência à meticilina.

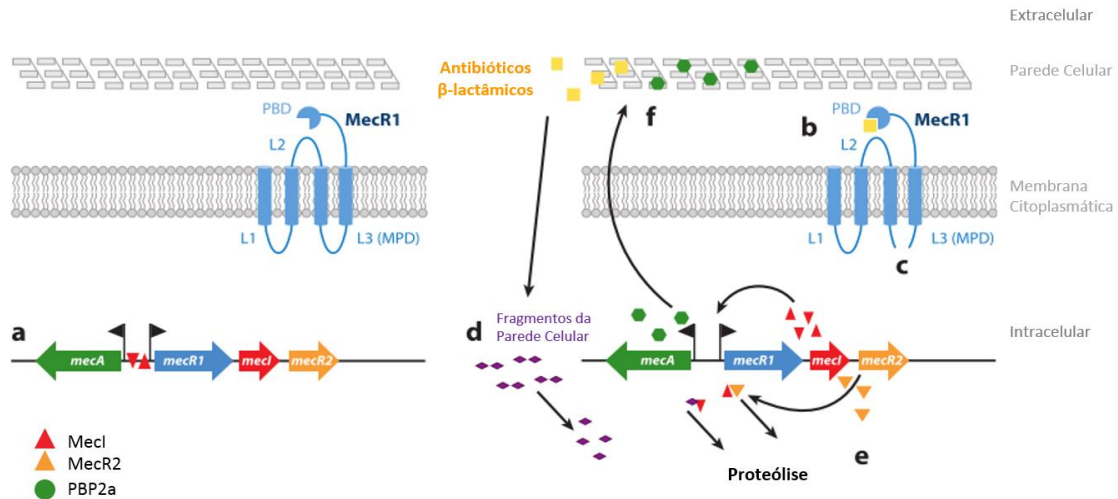


Figura 2.3 - Mecanismos moleculares de resistência à meticilina desenvolvidos por *Staph. aureus*. (a) Na ausência de antibióticos β-lactâmicos, a transcrição do operador *mec* é impedida pela ligação da proteína repressora MecI a esta região. (b) Na presença de antibióticos β-lactâmicos, estes são detetados pela ligação ao *penicillin-binding domain* (PBD) da proteína MecR1. (c) Esta interação despoleta a ativação autolítica do domínio intracelular metaloproteinase (MPD) da proteína MecR1, localizado na subunidade L3. (d) Os fragmentos da parede celular bacteriana, presumivelmente originados pela ação dos antibióticos β-lactâmicos que provocaram a sua disrupção, atuam como coativadores que se ligam à proteína MecI, de forma a promover a sua dissociação do operador *mec* e a sua degradação proteolítica. (e) Uma segunda proteína repressora codificada pelo gene *mecR2*, inserido no complexo *mec*, é transcrita e a proteína resultante, MecR2, liga-se à proteína MecR1 e promove também a sua proteólise. (f) A degradação da proteína MecR1 permite a transcrição do gene *mecA*, bem como a produção de PBP2a e a consequente expressão de resistência à meticilina. Adaptado de Peacock e Paterson. (10)

A transcrição do gene *mecA* é induzida pela presença de antibióticos β-lactâmicos através de um sistema de transdução de sinal codificado pelo complexo de genes *mec*. Este sistema é composto por uma proteína intrínseca de membrana dependente de zinco (MecR1) e por um repressor transcricional (MecI), que estão adjacentes ao gene *mecA*, embora sejam transcritos de forma independente do mesmo. (16)

Na ausência de antibióticos β -lactâmicos, a transcrição do operador *mec* é impedida pela ligação da proteína repressora, MecI, a esta região. Contrariamente, na presença desta classe de antibióticos, estes ligam-se ao *penicillin-binding domain* (PBD) da proteína MecR1, o que desencadeia a ativação autolítica do domínio intracelular metaloproteinase (MPD) da mesma. (16)

Os fragmentos citoplasmáticos da parede celular, presumivelmente originados pela interrupção da biossíntese da parede celular provocado pelos antibióticos β -lactâmicos, atuam como coativadores que se ligam à proteína MecI. Este processo provoca a degradação proteolítica da própria MecI, fazendo com que a mesma se separe do operador *mec*. A relação entre este mecanismo e a anterior proteólise da proteína MecR1, ainda não está esclarecido. (16)

Um segundo antirrepressor codificado pelo gene *mecR2*, localizado no complexo *mec*, é transcrito e a proteína resultante, MecR2, também se liga à proteína MecI, levando à sua proteólise. Por sua vez, a degradação da proteína MecI provoca a transcrição do gene *mecA*, produzindo-se as PBP2a e a consequente expressão da resistência à metilina. (16)

A resistência à metilina é expressa de forma heterotípica entre os isolados de MRSA. Este facto significa que um inóculo pertencente a uma colónia, produz culturas em que a maioria das bactérias apresenta baixos níveis de resistência, pelo que apenas cerca de 0,01%-0,1% apresenta elevados níveis de resistência. (16) A suscetibilidade à metilina é expressa por uma concentração mínima inibitória (CIM) de $\leq 2\mu\text{g/mL}$, ao passo que a resistência é manifestada por uma CIM de $\leq 4\mu\text{g/ml}$. (17)

v. Resistência aos antibióticos quinolonas: Fluorquinolonas

As fluoroquinolonas foram introduzidas em meados dos anos 80 direccionadas para o tratamento de infeções provocadas por bactérias Gram-negativas, contudo, pelo facto do seu espectro também abranger bactérias Gram-positivas, a sua utilização também se verificou no tratamento de infeções causadas pelo género *Staphylococcus*. (12)

As fluorquinolonas são uma classe de antibióticos que atua diretamente sobre duas topoisomerasas do tipo II, DNA girase e topoisomerase IV, que possuem um papel preponderante na replicação do DNA bacteriano. Estas duas enzimas formam um complexo com o DNA bacteriano, originando fragmentos na cadeia simples de DNA, necessários para que ocorra replicação. As quinolonas ligam-se a este complexo, de forma a bloquear a progressão do processo de replicação por parte do DNA, o que resulta em danos no DNA bacteriano e a posterior morte da célula bacteriana, exercendo deste modo, o seu efeito bactericida. (18)

A resistência à classe de antibióticos quinolonas, por *Staph. aureus*, emergiu muito rapidamente nas estirpes MRSA, pelo que a mesma resulta de mutações cromossômicas espontâneas no alvo do antibiótico: as enzimas topoisomerase IV e DNA girase ou através da indução de uma bomba de efluxo. (12) Posto isto, quando as quinolonas são utilizadas no tratamento de infeções causadas por outros agentes bacterianos em indivíduos que estejam colonizados por *Staph. aureus*, estas vão estar expostas a concentrações subterapêuticas e, como tal, estes indivíduos correm o risco de ficar colonizados por estirpes mutantes e resistentes a esta classe de antibióticos, resultando num reservatório para futuras infeções. (12)

vi. Resistência aos antibióticos glicopeptídeos: Vancomicina

O antibiótico vancomicina foi introduzido na década de 50 pela indústria farmacêutica *Eli Lilly and Company*, após se ter verificado que este composto, resultante da fermentação da actinobactéria *Amycolatopsis orientalis*, apresentava atividade contra bactérias Gram-positivas. Nessa mesma década, o antibiótico foi utilizado em ensaios clínicos, tendo a sua utilização sido aprovada pela *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) em 1958. (19)

Durante vários anos o antibiótico vancomicina permaneceu a única solução eficaz para o tratamento de infeções provocadas por MRSA, apesar dos efeitos adversos provocados e da administração decorrer por via intravenosa. Porém, a rápida evolução de mecanismos de resistência por *Staph. aureus*, levou a que no final da década de 90 se tenham observado os primeiros casos de *Staph. aureus* com

resistência intermédia à vancomicina (VISA) e em 2012 se tenha identificado a primeira estirpe de *Staph. aureus* resistente à vancomicina (VRSA) nos Estados Unidos da América. (20) Em Portugal a primeira estirpe VISA foi descrita por Gardete *et al* (21) em 2006, no Hospital de São Marcos em Braga, através da análise de uma amostra de uma ferida cirúrgica de um doente hospitalizado no serviço de ortopedia desse hospital. (21)

O antibiótico vancomicina é um inibidor da síntese da parede celular em *Staph. aureus* bem como de outras bactérias Gram-positivas, no entanto o seu mecanismo de ação é distinto dos antibióticos β -lactâmicos, que inibem a síntese da parede celular por se ligarem às PBP. (19)

No caso da vancomicina, esta liga-se ao terminal C do resíduo D-Ala-D-Ala do precursor do peptidoglicano e forma um complexo estável, com ligações não covalentes, de forma a inviabilizar a síntese de peptidoglicanos e a consequentemente inibição da síntese da parede celular. (19) Contudo, o principal local de síntese da parede celular é o septo de divisão⁵ ao invés da totalidade da membrana celular. (22)(19) Este facto traz algumas implicações no mecanismo de ação da vancomicina, uma vez que a mesma precisa de se difundir para esse local específico, de forma a se conseguir ligar aos precursores do peptidoglicano e exercer a sua atividade antibacteriana. Para além disso, a distância de difusão da vancomicina varia de acordo com a fase do ciclo celular da bactéria, pelo que um septo de divisão mais longo persiste numa fase mais tardia do ciclo celular. (19)

Duas formas de resistência à vancomicina foram identificadas desde então, sendo que uma delas foi verificada em estirpes com resistência intermédia à vancomicina (VISA), que se caracteriza fenotipicamente por um valor CIM de vancomicina entre 8 a 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ao passo que a outra forma de resistência foi verificada em estirpes resistentes à vancomicina (VRSA) cujo valor de MIC é $\geq 16 \mu\text{g}/\text{mL}$. (19)

⁵ **Septo de divisão:** Parede celular que se forma entre as células filhas, no final do ciclo celular, antes de ocorrer separação das mesmas. (22)

Para se compreender a resistência à vancomicina por *Staph. aureus* é necessário fazer referência às estirpes com resistência heterogénea (hVISA), que se apresentam como uma forma preliminar de resistência intermédia à mesma. Uma população heterorresistente de *Staph. aureus* mantém-se suscetível à vancomicina, no entanto também contém estirpes VISA que quando expostas à vancomicina, sofrem uma pressão seletiva e subsistem. (19)

A resistência intermédia à vancomicina expressa-se através de um aumento na biossíntese de peptidoglicanos por *Staph. aureus*, embora o processo que desencadeia este mecanismo ainda não está esclarecido. Este aumento de peptidoglicanos resulta numa parede celular mais espessa, embora irregular, o que complica a difusão da vancomicina através da parede celular bacteriana. Além deste fator, também se verifica uma diminuição nas ligações cruzadas entre peptidoglicanos, o que deixa exposto um maior número de resíduos D-Ala-D-Ala, que se ligam à vancomicina, prevenindo que o antibiótico atinja, de forma eficiente, o seu alvo terapêutico.(12)(19)

Na **Figura 2.4.** está representada a comparação da ação da vancomicina entre células bacterianas sensíveis e células bacterianas que expressam resistência intermédia.

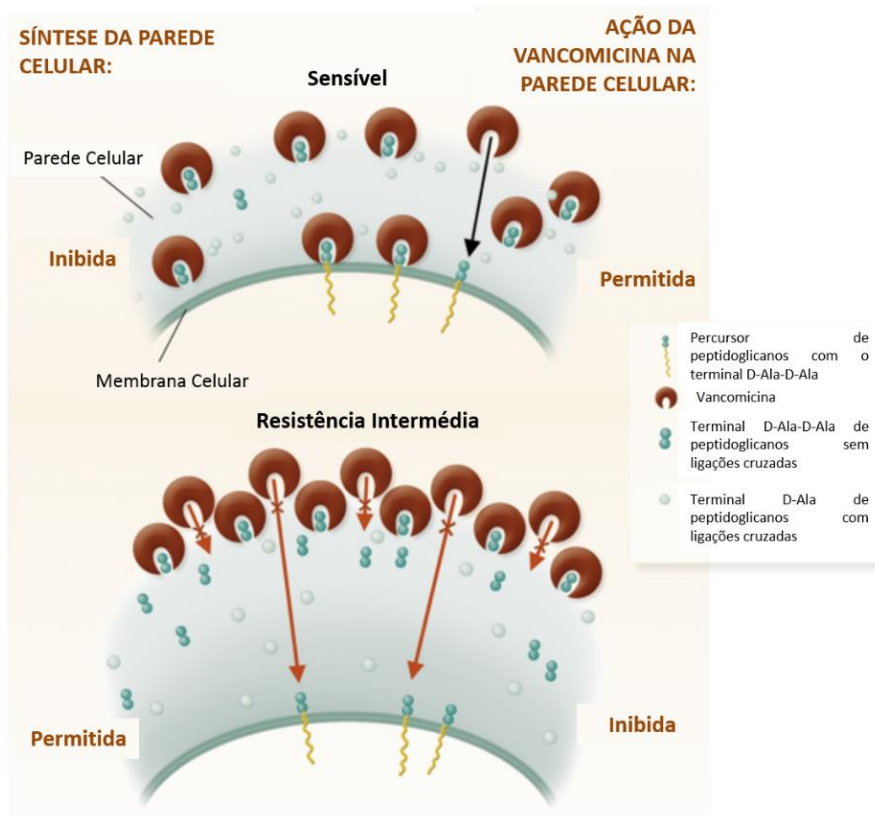


Figura 2.4 - Comparação da ação da vancomicina entre estirpes de *Staph. aureus* sensíveis à vancomicina e estirpes com resistência intermédia à mesma. As estirpes VISA sintetizam quantidades adicionais de peptidoglicanos com um maior número de resíduos D-Ala-D-Ala expostos, que se ligam à vancomicina e, assim, impedem que a mesma atinja o seu alvo terapêutico na parede celular bacteriana. Adaptado de Lowy (8)

A segunda forma de resistência à vancomicina, observada em estirpes VRSA, resulta da provável aquisição do operão *vanA*, importado por conjugação com o plasmídeo de uma estirpe de *Enterococcus faecalis* com resistência à vancomicina. A resistência em VRSA é causada por alterações no terminal do precursor da parede celular o que faz com que o resíduo formado seja D-Ala-D-Lac, em vez de D-Ala-D-Ala, apresentando uma reduzida afinidade para a vancomicina. Deste modo, mesmo na presença do antibiótico vancomicina, ocorre síntese da parede celular bacteriana, fazendo com que a vancomicina não exiba a sua ação antibacteriana. (12) A **Figura 2.5.** representa as principais diferenças na ação da vancomicina em estirpes sensíveis e com resistência à mesma.

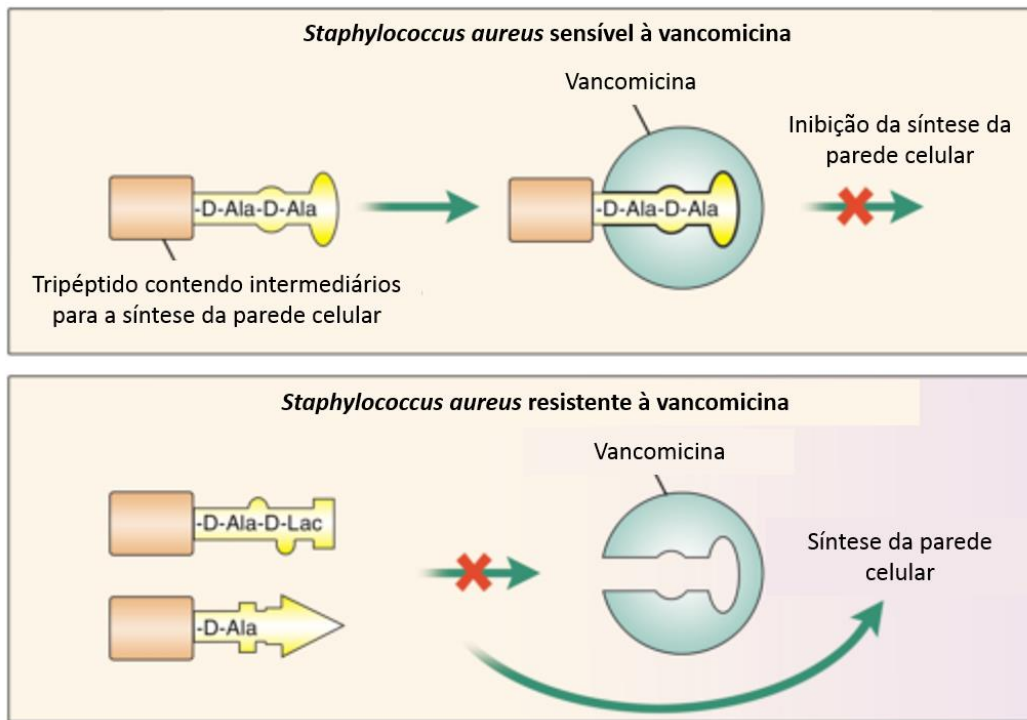


Figura 2.5 – Mecanismos de resistência à vancomicina por *Staph. aureus*. As estirpes VRSA apresentam resistência à vancomicina através de uma presumível aquisição do operador *vanA* de uma estirpe de *Enterococcus*, o que desencadeia a síntese de um precursor da parede celular com o resíduo D-Ala-D-Lac, no seu terminal, em vez do resíduo D-Ala-D-Ala, que possui a devida afinidade para a vancomicina. Deste modo, o novo péptido formado possui uma afinidade bastante reduzida para a vancomicina, logo a síntese da parede celular não é interrompida e a bactéria subsiste. Adaptado de Lowy (8)

A título de síntese, a **Figura 2.6.** ilustra os processos evolutivos da resistência aos antibióticos β -lactâmicos e glicopéptidos em *Staph. aureus*.

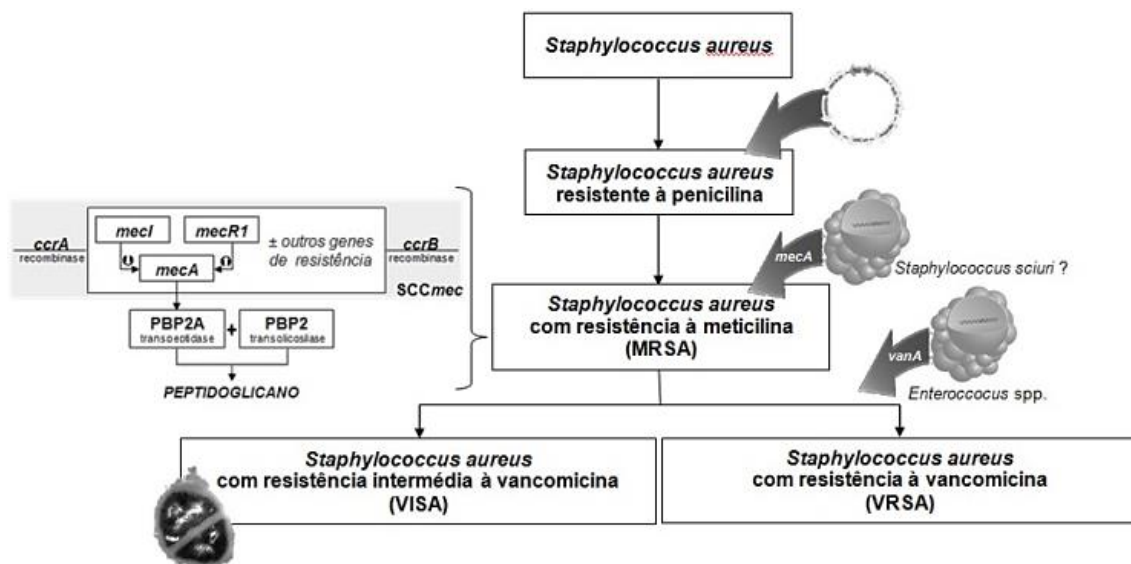


Figura 2.6 - Marcos importantes na evolução dos mecanismos de resistência em *Staph. aureus*. Adaptado de Mendes (9)

Atualmente as estirpes MRSA são consideradas mais virulentas e a sua disseminação ocorre pelos hospitais, cuidados continuados e até na comunidade. (20)

O facto de já se terem observado estirpes VRSA, pode ser uma clara indicação de que as estirpes MRSA vão continuar a desenvolver os seus mecanismos de resistência a outros antibióticos utilizados para a sua erradicação, tornando-o hoje em dia, um caso de elevada preocupação por parte da comunidade científica. (20)

2.2. Epidemiologia

Atualmente, a bactéria *Staph. aureus* é uma das principais causas de infeções adquiridas em meio hospitalar à escala mundial, sendo que uma percentagem significativa é causada por estirpes MRSA. (23)

As primeiras estirpes de MRSA apareceram na década de 60, pelo que rapidamente se apresentaram como um grave problema de saúde pública a nível hospitalar. Contudo, durante a última década as infeções por MRSA adquiridas na comunidade aumentaram consideravelmente, pelo que se tornou um tema de igual importância. (5)(24)

i. Uma Visão Global

Durante os últimos anos, a taxa de estirpes MRSA tem diminuído tanto na Europa como nos Estados Unidos da América, tendo-se observado uma redução de 22% para 18% e 53% para 44%, respetivamente. (2)

As taxas de estirpes MRSA também diminuíram no Canadá, observando-se uma descida de 21% para 16% desde 2009, particularmente a nível hospitalar, ao passo que na Austrália a prevalência de MRSA aumentou de 12% em 2009 para 19% em 2013. (2)

Na Índia verificou-se um aumento bastante significativo desde 2009 até 2014, de 29% para 47% e na Tailândia a prevalência de MRSA sofreu um decréscimo de 28% em 2009 para 19% em 2013. (2)

Na **Figura 2.7.** é possível observar o mapa mundial que descreve a distribuição mundial da percentagem de isolados de *Staph. aureus* que são resistentes à metilina. De acordo com o país em estudo, a resistência a um ou mais dos seguintes fármacos

foi utilizada para testar a resistência por parte das estirpes MRSA: oxacilina, cefoxitina, flucloxacilina, cloxacilina, dicloxacilina e metilina. Os isolados que apresentaram resistência intermédia também foram incluídos nos dados, como sendo resistentes. (2)

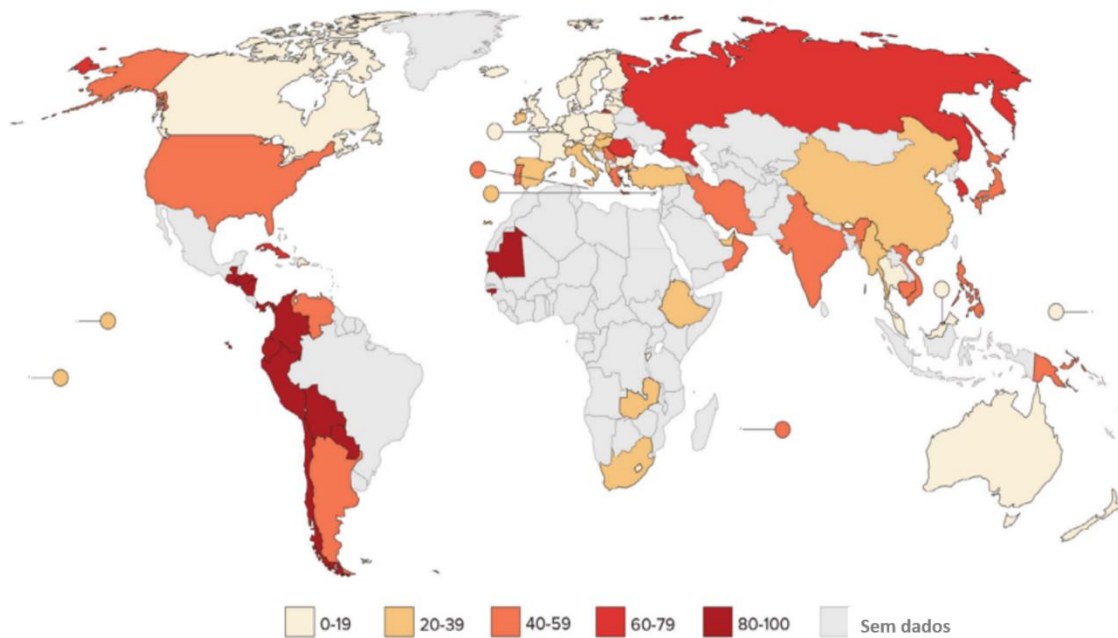


Figura 2.7. - Distribuição de isolados de *Staph. aureus* resistentes à metilina (MRSA) por país, com dados obtidos entre 2011 e 2014. Adaptado de Gelband *et al* (22)

ii. Europa

O *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) calculou que um total de 171,200 Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde (IACS) são adquiridas anualmente nos Estados Membros da União Europeia, Irlanda e Noruega e que, tal facto, resulta diretamente em aproximadamente 5400 óbitos, mais de 1 milhão de dias de hospitalização adicionais e um custo hospitalar associado de 380 milhões de euros nos Sistemas de Saúde da União Europeia. (25)

Entre as bactérias multirresistentes reconhecidas como tal, a nível europeu as estirpes MRSA apresentam-se como uma das principais causas das IACS. Em 2008, mais de 380,000 IACS foram associadas a bactérias multirresistentes, das quais 44% estavam relacionadas a infeções provocadas por MRSA. (26)

O mais recente Relatório de Vigilância publicado pelo ECDC, *Annual Epidemiological Report: Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections* 2014, apresenta a situação epidemiológica da resistência antimicrobiana e IACS com

dados recolhidos entre 2008 e 2012, a nível europeu.(27) Durante a última década, diversos países europeus implementaram planos de ação nacionais direcionados a reduzir a propagação de MRSA nas instituições de saúde e, de facto o que se observou nesses quatro anos, foi uma clara estabilização e mesmo redução da percentagem de isolados de MRSA na maioria dos países europeus. (27)

Apesar destes resultados fornecerem razões para otimismo quanto ao controlo da propagação de MRSA, esta bactéria continua a ser uma prioridade no âmbito de Saúde Pública, pois mesmo assim a percentagem de MRSA ainda se encontra acima de 25% em sete dos 29 países que forneceram dados para análise, principalmente no Sul e Oriente Europeu, colocando Portugal num dos países com maior prevalência de MRSA. (27)

Na **Figura 2.8** está representado um mapa europeu com a distribuição da percentagem de isolados de MRSA obtidos a partir de amostras invasivas, isto é, a partir de fluído cefalorraquidiano e de sangue, nos países da Europa e Espaço Económico Europeu (EEE) aderentes. (27)

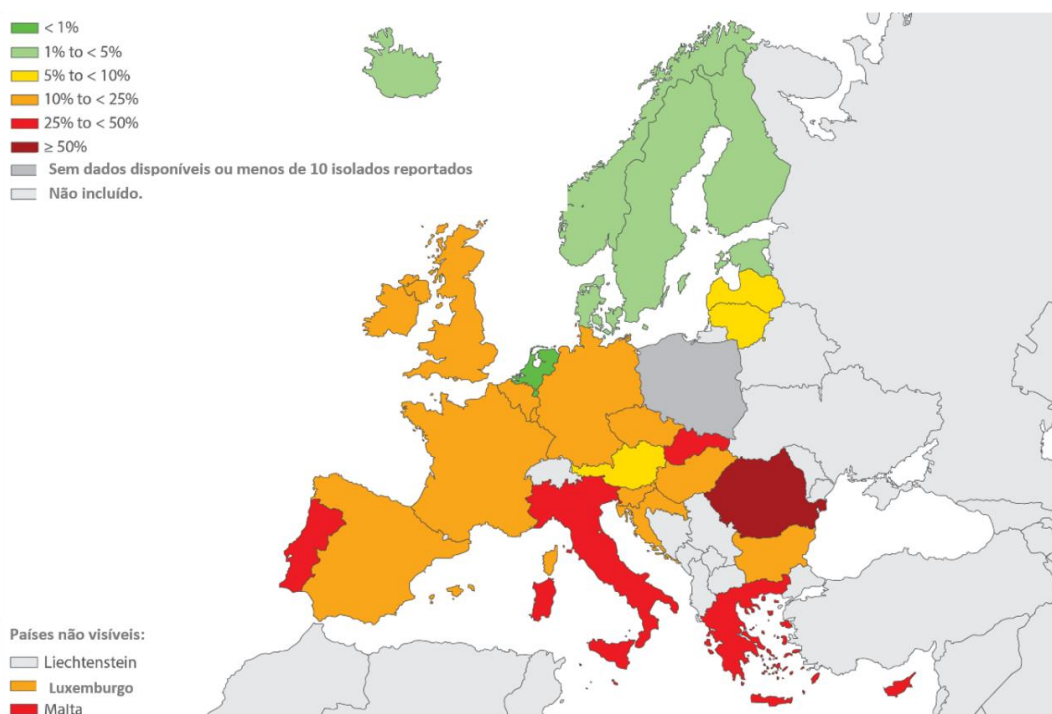


Figura 2.8 - Distribuição da percentagem de isolados de *Staph. aureus* resistente à meticilina nos países da União Europeia e do Espaço Económico Europeu relativos a 2012. Adaptado de ECDC (25)

iii. Portugal

Em Portugal, a taxa de resistência à metilina em *Staph. aureus* atingiu 54,6% em 2011, valor este situado entre os mais elevados da Europa, após uma subida gradual desde 2000. (28)

Em 2013 registou-se uma descida da taxa de resistência com estabilização no ano de 2014, atingindo o valor de 47,4%. Este valor representa uma nítida inversão da tendência anteriormente verificada, no entanto é um valor ainda preocupante, sendo a sua redução um dos objetivos do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA), como será abordado mais à frente. (28)

Na **Figura 2.9** está representada a evolução da taxa de resistência à metilina em *Staph. aureus*, baseado em amostras invasivas, recolhidas desde 1999 até 2014. Através da análise do gráfico é possível depreender uma subida gradual da resistência à metilina nos isolados invasivos de *Staph. aureus* desde o ano de 2000 até ao ano de 2011, embora no ano de 2009 se verifique uma descida de 3,8% face ao ano de 2008. Em 2011 é atingido o valor máximo da taxa de resistência à metilina em *Staph. aureus*, 54,6%, verificando-se posteriormente uma descida de 0,8% entre o referido ano e o ano de 2012. A partir desse ano, verificou-se uma notória descida de 7% na taxa de resistência à metilina por *Staph. aureus*, relativamente ao ano de 2013, atingindo o valor de 46,8% no referido ano. Em 2014, a taxa de resistência manteve-se relativamente estável, em relação ao ano anterior, alcançando o valor de 47,4%, ou seja, 47,4% dos isolados de *Staph. aureus* seriam resistentes à metilina.

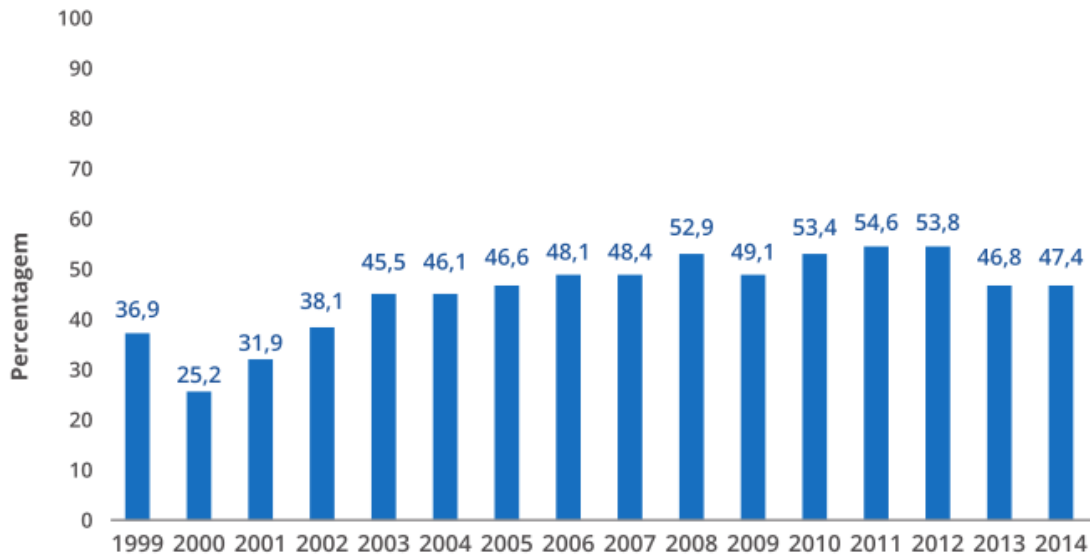


Figura 2.9 - Representação gráfica da resistência à metilina nos isolados invasivos de MRSA, em Portugal, entre 1999 e 2014. Adaptado de Fernandes *et al* (26)

3. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE À METICILINA: UMA BACTÉRIA MULTIRRESISTENTE

3.1. Características gerais de *Staphylococcus aureus*

O género *Staphylococcus* está tradicionalmente dividido em dois grupos com base na produção da enzima coagulase⁶: o primeiro grupo é conhecido por *Staphylococcus* coagulase-positiva, constituído essencialmente, por *Staph. aureus*, ao passo que o outro grupo, *Staphylococcus* coagulase-negativa (CNS), inclui cerca de trinta espécies diferentes. (29)

A bactéria *Staph. aureus* apresenta-se como cocos Gram-positivos (G+C) organizados em cachos, que detêm entre 0,5 µm a 1,5 µm de diâmetro, são imóveis, não esporulados e anaeróbios facultativos, com exceção da espécie *Staph. aureus subsp. anaerobius*. São microrganismos nutricionalmente pouco exigentes, conseguem-se desenvolver num intervalo de temperatura entre 15°C a 45°C, o seu pH ótimo de crescimento é entre 6,0 e 7,0 e são halotolerantes, uma vez que toleram concentrações significativas de cloreto de sódio. Quando mantidos em cultura, em

⁶ **Coagulase:** Enzima que converte o fibrinogénio em fibrina, provocando a coagulação do plasma sanguíneo. (13)

meio de agarose, formam colónias com uma coloração dourada, fator este responsável pelo termo latino *aureus*. (29) (30)

No **Quadro 3.1.** está indicada a nomenclatura taxonómica associada a *Staph. aureus*. (31)

Quadro 3.1 - Hierarquia taxonómica de *Staph. aureus*. Adaptado de Rosenbach (29)

HIERARQUIA TAXONÓMICA	
Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordem	<i>Bacillales</i>
Família	<i>Staphylococcaceae</i>
Género	<i>Staphylococcus</i>
Espécie	<i>Staphylococcus aureus</i>

3.2. Mecanismos de virulência

O arsenal de fatores de virulência produzidos por *Staph. aureus* é bastante complexo, pelo que o mesmo fator de virulência pode ter diversas implicações patogénicas, assim como diferentes fatores de virulência podem desencadear a mesma patogenicidade. (32)

De forma geral, o potencial de virulência de *Staph. aureus* inclui a produção de diversas toxinas, proteínas de adesão ao tecido do hospedeiro, formação de biofilmes e produção de enzimas hidrolíticas. É de notar que nem todas as estirpes de *Staph. aureus* produzem os mesmos fatores de virulência, pois a distribuição dos mesmos pode estar relacionada com o tipo clonal de MRSA, ou não estar diretamente associada a antecedentes genéticos. Este facto significa que diferentes estirpes podem produzir diferentes proteínas de adesão ao hospedeiro, diferentes toxinas, resistir de forma distinta à fagocitose e podem diferir na forma de produzir biofilmes. (32)

Seguidamente são descritos, em pormenor, os principais fatores de virulência produzidos pela maioria das estirpes de *Staph. aureus*, incluindo MRSA.

i. Fatores de superfície celular: cápsula e proteínas de ligação à fibronectina

Os fatores de virulência estruturais associados à parede celular de *Staph. aureus* incluem polissacarídeos capsulares (CPs), o pigmento estafiloxantina⁷, assim como um grupo de proteínas designadas de componentes da superfície microbiana reconhecidas de moléculas adesivas da matriz (MSCRAMMs). (33)

A principal função da cápsula é impedir a fagocitose por parte dos neutrófilos, embora também tenha sido demonstrada a sua importância na colonização em superfícies mucosas humanas. O pigmento estafiloxantina também permite que *Staph. aureus* resista à fagocitose, por parte dos neutrófilos, através da sua ação antioxidante sobre as espécies reativas de oxigénio libertadas. (33)

As MSCRAMMs, assim como os fatores de aglutinação (Clf), proteínas de ligação à fibronectina⁸ (FnBP), moléculas de adesão ao colagénio e a proteína A⁹, têm um papel importante na adesão microbiana às proteínas do hospedeiro (fibronectina, fibrinogénio e colagénio), além de estabelecerem o primeiro passo da infeção. Para além disto, estas proteínas também previnem que a estirpe MRSA seja reconhecida pelo sistema imunitário do hospedeiro, pois por exemplo Clf e FnBP possuem a capacidade de provocar a ativação plaquetária, ao passo que a Proteína A tem a capacidade de se ligar à região constante (Fc) das imunoglobulinas e, deste modo, previne a opsonização¹⁰. (33)

ii. Fatores secretados: lípases, citolisinas, superantigénios e proteases

Contrariamente ao papel protetor e passivo praticado pelos fatores de virulência associados à parede celular de *Staph. aureus*, os seguintes fatores de virulência secretados por estas bactérias têm maior incidência no sistema imunitário do hospedeiro. Os fatores de virulência secretados agrupam-se em quatro grupos:

⁷ **Estafiloxantina:** Pigmento carotenóide produzido por algumas estirpes de *Staphylococcus aureus* (17)

⁸ **Fibronectina:** Glicoproteína que promove a adesão celular através de ligações a superfícies celulares, colagénio, fibrinogénio, glicosaminoglicanos, entre outros. (109)

⁹ **Proteína A:** Proteína específica de *Staph aureus* que é responsável pela ligação a Imunoglobulinas do hospedeiro, essencialmente as IgG. (110)

¹⁰ **Opsonização:** Processo que promove a fixação de opsoninas e fragmentos do complemento na superfície bacteriana, de forma a promover a fagocitose. (17)

superantigénios, toxinas formadoras de poros na membrana celular, diversas exoenzimas e outras proteínas como descrito no **Quadro 3.2.** (33)

Quadro 3.2 - Fatores de virulência secretados por *Staph. aureus* e respetiva ação patogénica. Adaptado de Lin e Peterson. (17)

FATOR DE VIRULÊNCIA	AÇÃO NO HOSPEDEIRO
Toxina 1 do Síndrome do Choque Tóxico Enterotoxinas estafilocócicas Toxinas estafilocócicas enterotoxina-like	Ativação das células T e macrófagos.
Citolisinas (toxinas α, β, γ, δ) Modulinas Solúveis em Fenol (PSMs) Leucocidina <i>Panton-Valentine</i> (PVL)	Indução da apoptose (em baixas concentrações) e lise celular de eritrócitos, linfócitos, monócitos e células epiteliais.
Lipase	Inativação de ácidos gordos.
Hialuronidase	Degradação do ácido hialurónico.
Serina proteases Cisteína proteases Aureolisina (metaloenzima)	Inativação da atividade proteolítica neutrófila e de péptidos antimicrobianos.
Estafilocinase	Ativação do plasminogénio e inativação de péptidos antimicrobianos.
Toxinas exfoliativas	Ativação das células T e atuação como serina proteases.
Proteína inibidora da quimiotaxia Inibidor estafilocócico do sistema do complemento	Inibição do sistema do complemento.
Superantigénios-like estafilocócicos Proteínas de adesão extracelular	Inibição do componente C5 do sistema do complemento e da imunoglobulina A (IgA). Inibição da migração neutrófila.

iii. Superantigénios: Enterotoxinas Estafilocócicas e Toxina-1 do Síndrome do Choque Tóxico

Os superantigénios são um grupo de exotoxinas produzidas por *Staph. aureus* com capacidade para induzir uma variedade de patologias humanas, incluindo o Síndrome do Choque Tóxico (*Toxic Shock Syndrome*, TSS) e Pneumonia Necrotizante. (32) (33) Já foram identificados mais de vinte superantigénios diferentes, sendo que os

mesmos incorporam enterotoxinas estafilocócicas (SEs), toxinas estafilocócicas enterotoxinas-tipo, e a toxina 1 do TSS, pelo que mais de 60% de isolados de *Staph. aureus* produzem, pelo menos, um destes superantigénios. (32)(33)

Os superantigénios são proteínas moleculares com tamanhos compreendidos entre 20 a 28 kDa e têm como capacidade ativar 5 a 30% das células T, comparativamente aos 0,001% resultantes da ação de um antigénio normal. (32)(33) Esta ativação suprema das células T induz uma libertação massiva de citocinas e quimiocinas, por parte destas células e das células apresentadoras de antigénios (APCs), o que resulta numa exacerbação da resposta imunitária do hospedeiro, como o caso do TSS. (32)(33) Os fatores clínicos característicos do TSS incluem pirexia ($\geq 38.9^{\circ}\text{C}$), *rash* cutâneo, descamação das palmas das mãos e pés, uma a duas semanas após o início da doença, hipotensão e disfunção múltipla de órgãos, o que pode ser potencialmente fatal. (32)(33)

iv. Citotoxinas

As citotoxinas são um grupo de toxinas que incluem citolisinas (toxinas α , β , γ e δ), leucocidinas (PVL, LuKD/E e LukM) e modulinas solúveis em fenol (PSMs). Apesar destas toxinas serem bastante distintas a nível estrutural e apresentarem diversos alvos específicos (i.e. eritrócitos, leucócitos e células epiteliais), a sua ação sobre as células hospedeiras é semelhante. (33) Estas toxinas possuem a capacidade de formar poros na membrana celular da célula-alvo pelo que, em baixas concentrações, induzem a apoptose, ao passo que em concentrações elevadas provocam a lise celular. (33)

v. Formação de Biofilmes

Os biofilmes são constituídos por uma agregação estrutural de bactérias, envolvidas numa matriz extracelular polimérica, que se pode aderir quer a uma superfície tecidual do hospedeiro, quer a um dispositivo médico invasivo como os cateteres, implantes ou válvulas prostéticas.(34)(35) Esta forma de colonizar o hospedeiro confere maior resistência aos antibióticos e também aos mecanismos de defesa imunitários do hospedeiro. (34) (35)

A capacidade para formar biofilmes, por parte de MRSA, é um importante mecanismo de virulência que pode causar tanto infeções menos graves, como infeções que podem pôr em risco a vida do doente. (34)

A formação de biofilmes em bactérias, incluindo *Staph. aureus*, decorre em quatro fases: inicialmente ocorre a adesão das bactérias a uma superfície do hospedeiro ou superfície abiótica, seguidamente decorre a formação de microcolónias naquela superfície, a respetiva maturação das microcolónias envoltas numa matrix de exopolissacarídeos e, por fim, a disrupção ou evasão das células do biofilme e dispersão das bactérias pelo organismo do hospedeiro ou pelo ambiente. (34) Na **Figura 3.1** é possível observar as fases da formação do biofilme já descritas.

Inicialmente, as bactérias na sua forma planctónica (livre ou em suspensão), aderem reversivelmente a uma superfície tecidual ou mecânica do hospedeiro através de forças *van der Waal*, interações estéricas e interações eletrostáticas (34). A superfície do hospedeiro é composta por proteínas de matriz, tais como o fibrinogénio, fibronectina e colagénio que conferem maiores condições para a adesão das bactérias à superfície. Após este processo, determinadas células bacterianas aderentes (ou sésseis) à superfície, tornam-se imóveis e através de interações hidrofóbicas e hidrófilas, tornam-se irreversivelmente aderentes à superfície do hospedeiro. Deste modo, estão criadas as condições para que as bactérias cresçam, proliferem e formem microcolónias. (34)

Uma vez formadas as microcolónias e em condições adequadas para o seu desenvolvimento, o biofilme entra na fase de maturação. Assim sendo, uma estrutura mais complexa é concebida através da formação de aquaporinas que auxiliam a entrada de nutrientes para o interior do biofilme. Contudo, devido às diferentes condições físico-químicas dentro do biofilme, tais como a disponibilidade de oxigénio, difusão de substratos e metabolitos secundários, densidade celular e pH, as bactérias de diferentes locais do biofilme podem demonstrar diferentes padrões de expressão genética. (34)

Na fase final de desenvolvimento deste mecanismo de virulência algumas células bacterianas podem dispersar-se do biofilme através da separação física ou por ação de eventos de sinalização que desencadeiam a hidrólise do exopolissacarídeo

(EPS). Este processo permite que *Staph. aureus* retorne ao estado planctónico, de forma a poder ocupar novas superfícies e iniciar um novo ciclo de colonização. (34)

É de realçar que o sistema de comunicação celular denominado por perceção de quórum (PQ) está envolvido em todas as fases de desenvolvimento do biofilme, apresentando um papel preponderante na comunicação célula-a-célula. Esta interação intercelular permite, através da produção de péptidos autoindutores, coordenar a regulação da expressão genética de acordo com a densidade populacional no local colonizado. (34)

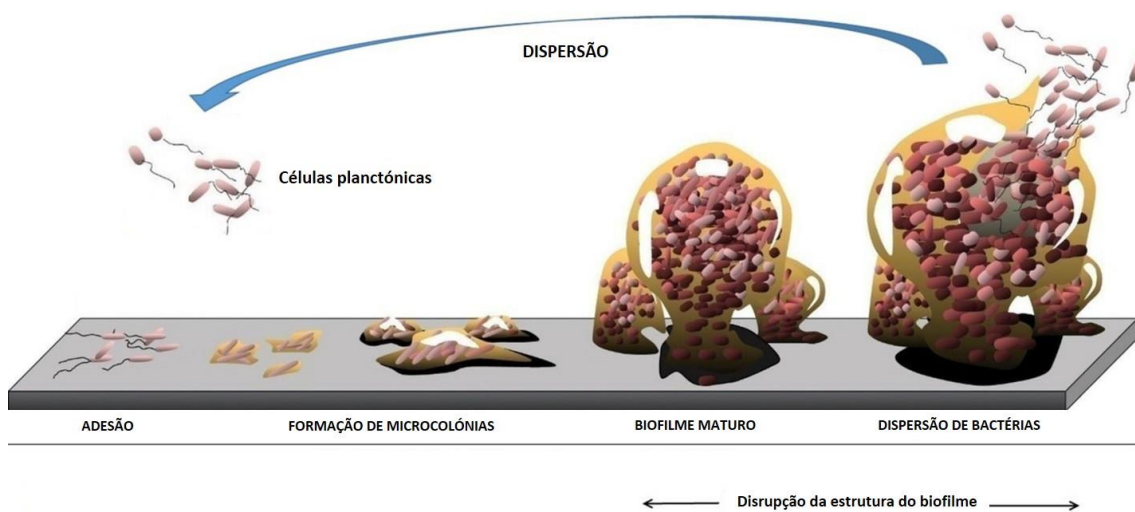


Figura 3.1 - Mecanismos de formação do biofilme por parte de *Staph. aureus*. Adaptado de Chung e Toh. (32)

3.3. Colonização e o processo de patogénese por MRSA

A bactéria *Staph. aureus* faz parte da microbiota do ser humano e, portanto, é considerada uma bactéria comensal. Esta colonização pode ocorrer em vários locais do corpo humano, pelo que os orifícios nasais externos, as narinas, constituem o reservatório mais frequente de *Staph. aureus*. Outros locais como a pele, o períneo e a faringe, também podem ser colonizados, ao passo que as axilas, a vagina e o trato gastrointestinal consistem em reservatórios menos comuns. (36)

De forma geral, entre 20% a 40% da população está colonizada por *Staph. aureus*, sendo que desta percentagem, cerca de 30% são portadores intermitentes. Os portadores intermitentes podem ser colonizados por diferentes estirpes por curtos

períodos de tempo, ao passo que os portadores persistentes são normalmente colonizados por uma única estirpe de *Staph. aureus* e possuem uma maior carga desta bactéria no respetivo reservatório o que, conseqüentemente, desencadeia um maior risco de desenvolver infeções associadas. (36) (37) Apesar desta elevada percentagem de população colonizada por *Staph. aureus*, estima-se que apenas 1% da população esteja colonizada por MRSA e que o desenvolvimento *de novo* de resistência em *Staph. aureus* seja pouco provável. (38)

Os níveis mais elevados de colonização estão associados a doentes com comorbilidades, tais como *Diabetes mellitus*, e doentes imunocomprometidos, tais como portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Para além destes fatores, também se consideram os doentes em hemodiálise, em internamento em unidades de cuidados continuados ou em lar/residência de idosos e doentes portadores de dispositivos médicos invasivos. (39)

Segundo um estudo de coorte retrospectivo desenvolvido por *Huang et al* no *Brigham and Women's Hospital*, em Boston, entre 1 de janeiro de 1991 e 31 de dezembro de 2003, foi possível constatar que a colonização por MRSA aumenta consideravelmente o risco de desenvolvimento de infeções provocadas por esta bactéria até um ano após a alta hospitalar. (40)

Neste estudo participaram 591 doentes, assegurados pela *Harvard Pilgrim Health Care*, em que foram detetadas culturas positivas para MRSA, sem que a infeção ou colonização, num período anterior, tenha sido observada. Da população em estudo, 22% (N=123) foi identificada entre 1991 e 1995, 31% (N=189) foi identificada entre 1996-1999 e 47% (N=279) entre 2000-2003. Com este estudo pretendeu-se determinar a proporção de doentes que estavam colonizados ou infetados no momento da deteção das culturas positivas para MRSA e a proporção de doentes que desenvolveram uma infeção no ano seguinte à primeira deteção. (40) De realçar que a diferença entre colonização e infeção se prende no facto de, no caso da colonização, a bactéria está presente no hospedeiro sem que existam manifestações clínicas, sintomas ou quaisquer sinais de infeção, pelo que o hospedeiro é usualmente descrito como um transportador. No caso de infeção, há colonização acompanhada de sinais e sintomas clínicos e verifica-se um aumento do número de leucócitos no sangue, pelo que o estado de infeção usualmente é prosseguido de tratamento.(41)

A idade média dos doentes na altura da deteção de MRSA foi de 62 anos, pelo que a maioria dos doentes estavam internados, e desses, 40% tiveram uma cultura positiva para MRSA apenas dois dias após a admissão no *Brigham and Women's Hospital*. (40)

Com a realização deste estudo constatou-se que dos 591 doentes com cultura positiva para MRSA, 23% (N=138) estava colonizado por MRSA e 77% (N=453) estava infetado na altura da realização do estudo de coorte. Entre os doentes colonizados, os principais reservatórios de MRSA incluíam expetoração (53%), narinas (24%) e feridas (9%), ao passo que as infeções mais frequentes compreendiam pneumonia (41%), infeções da pele e tecidos moles (19%) e cerca de 18% das infeções estavam associadas a bacteriemia. (40)

De forma geral, 33% dos doentes (N=196) desenvolveram 317 infeções no ano seguinte após a deteção da cultura positiva de MRSA, sendo que o tempo médio para o aparecimento da primeira infeção por MRSA foi de 68 dias. As infeções mais frequentemente detetadas foram pneumonias provocadas por MRSA, infeções da pele e tecidos moles e infeções da corrente sanguínea primárias, em que no geral, 26% estavam associadas com bacteriemia.(40)

Na **Tabela 3.1.** é possível observar as infeções mais frequentemente desenvolvidas na população em estudo, quer no período de hospitalização, quer durante o período de um ano após alta hospitalar.

Tabela 3.1. - Fontes de infeção provocadas por *Staph. aureus* resistente à metilicina, durante o ano seguinte à deteção de doentes colonizados. Adaptado de Huang *et al.* (38)

NÚMERO (%) DE INFEÇÕES			
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	PERÍODO DE HOSPITALIZAÇÃO	PERÍODO PÓS-ALTA HOSPITALAR	TOTAL
Pneumonia	54 (42%)	55 (29%)	109 (34%)
Infeções da Pele e Tecidos Moles	25 (19%)	59 (31%)	84 (27%)
Infeções da Corrente sanguínea primária	28 (22%)	28 (15%)	56 (18%)
Infeções do Local Cirúrgico	9 (7%)	9 (5%)	18 (6%)
Infeções nos Ossos e Articulações	2 (2%)	15 (8%)	17 (5%)
Infeções do Trato Urinário	1 (1%)	9 (5%)	10 (3%)

Infeções do Trato Gastrointestinal	3 (2%)	4 (2%)	7 (2%)
Outras*	10 (8%)	6 (3%)	16 (5%)
Bacteriemia associada	33 (25%)	49 (26%)	82 (26%)
TOTAL	132 (100%)	185 (100%)	317 (100%)

*Inclui 6 infeções otológicas, oftálmicas e do trato respiratório superior, 6 infeções do trato respiratório inferior, 3 infeções do sistema cardiovascular e 1 infeção do sistema nervoso central

No prazo de um ano após a aquisição de MRSA, cerca de 46% dos doentes (269/591) faleceram, dos quais cerca de 20% (54/269) foi devido a infeções provocadas por MRSA. Este facto traduz-se num risco de óbito de 9,1% para doentes portadores de MRSA neste estudo de coorte. (40)

Os resultados deste estudo estão concordantes com outros estudos desenvolvidos, por exemplo por *Davis et al* (42) no *San Antonio Military Medical Center*, em Texas, que concluiu que a colonização nasal por MRSA, quer detetada aquando da admissão do doente no hospital, quer adquirida no período de hospitalização, aumenta o risco de adquirir uma infeção por MRSA (42) e mais recentemente, por *Balm et al*(43) que desenvolveu um estudo de coorte retrospectivo com 909 doentes no *National University Hospital*, em Singapura, entre 1 de julho de 2007 e 30 de junho de 2011, concluindo que aproximadamente 15% dos doentes que foram colonizados por MRSA, desenvolveram uma infeção subsequente. (43)

3.4. Transmissão interindividual de MRSA

A colonização por MRSA está diretamente associada à transmissão e esta à possibilidade de provocar infeção noutra indivíduo. A transmissão interindividual de MRSA pode ocorrer de várias formas: através do contato direto entre pessoas colonizadas, de forma indireta pela utilização de equipamentos ou superfícies contaminadas e, por fim, de forma intraindividual em doentes MRSA positivos, através da propagação da bactéria do reservatório para outra zona do corpo suscetível de ser infetada. (44)

Os profissionais de saúde são a interface entre o meio hospitalar e a comunidade e, por esse facto, podem servir como agentes de contaminação cruzada de MRSA. A transmissão nosocomial de MRSA, por profissionais de saúde, é a principal

forma de transmissão nos países desenvolvidos, pelo que a colonização nasal média de MRSA é de 4,6%.(45) Para além disso, estima-se que aproximadamente 5% dos profissionais de saúde colonizados por MRSA desenvolvam infeções associadas e, por isso, são importantes na transmissão de MRSA, no entanto mais frequentemente atuam como vetores ao invés de serem a principal fonte de transmissão de MRSA. (46)(47)

O mais importante modo de transmissão de MRSA é através da contaminação das mãos, em alternativa também pode ocorrer por dispersão no ar em associação com uma infeção respiratória do trato superior. Os profissionais de saúde colonizados são usualmente transmissores transientes, o que significa que se consegue eliminar a colonização com uma simples lavagem de mãos, no entanto podem tornar-se persistentes se tiverem alguma dermite crónica ou sinusite, pelo que estes fatores podem desencadear uma transmissão mais prolongada de MRSA. (47)

Deste modo, deve considerar-se a descontaminação e higienização das mãos como a principal medida de controlo da propagação de MRSA, assim como a utilização de barreiras de proteção individual (máscaras, luvas), descontaminação ambiental e a realização e cumprimento de protocolos preventivos e assim contribuir para a redução das infeções associadas aos cuidados de saúde. (48)(49)

3.5. MRSA adquirido em meio hospitalar e MRSA adquirido na comunidade

Atualmente, distinguem-se duas categorias de MRSA, conforme o local onde foi adquirida a infeção. Deste modo, reconhecem-se as infeções associadas à comunidade (*community-associated* MRSA [CA-MRSA]) e associadas ao meio hospitalar (*hospital-associated* MRSA [HA-MRSA]), pelo que ambas apresentam diferenças a nível epidemiológico, bacteriológico e clínico. (50)(51)

Em meio hospitalar, as principais patologias provocadas são infeções da corrente sanguínea associadas ao cateter intravenoso, pneumonia associada ao ventilador, infeções do local cirúrgico e, mais recentemente, endocardite infecciosa, ao passo que na comunidade, as principais infeções provocadas são infeções da pele e tecidos moles e pneumonia necrotizante. (51)

O surgimento e reconhecimento de CA-MRSA como um preocupante patógeno ocorreu nos últimos quinze a vinte anos, pelo que estas estirpes demonstram uma maior virulência, assim como uma melhor capacidade de colonizar diversas partes do corpo humano e sobreviver em superfícies ambientais e, por isso, são mais facilmente transmissíveis de pessoa para pessoa. (51)

Em 2000, o CDC sugeriu uma definição para as infeções adquiridas por CA-MRSA, de forma a distingui-las das infeções adquiridas por HA-MRSA, baseada em evidências clínicas e fatores de risco. Esta definição defende que apenas se a infeção for adquirida na comunidade ou, em caso de doentes hospitalizados, se a mesma for detetada num prazo de 48 horas após a hospitalização, assim como se não se verificar no doente, um ou mais destes critérios: hemodiálise, internamento nos seis meses anteriores, presença de dispositivos invasivos, internamento em unidades de cuidados continuados ou lar/residência de idosos, ou colonização prévia por MRSA, é que se pode considerar que estamos perante uma infeção provocada por CA-MRSA. Contudo, hoje em dia, pelo facto de o reservatório hospitalar se estar a deslocar para a comunidade e vice-versa, aliado ao surgimento de infeções provocadas por CA-MRSA em meio hospitalar, como o caso do clone USA300, tornam difícil a distinção entre estes dois tipos de MRSA. (50)(51)

Nos Estados Unidos da América o método de tipagem molecular, eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE¹¹), é dos mais utilizados para identificar a evolução molecular de isolados de *Staph. aureus*, pelo que é descrito como um sistema de identificação das várias estirpes. Através deste método, entre os dez complexos clonais mais comuns de *Staph. aureus*, foi possível identificar as estirpes USA100, USA200, USA500, USA600 e USA800. Dentro destas, a estirpe USA800 é a mais predominante nas infeções associadas ao meio hospitalar (HA-MRSA), ao passo que as estirpes USA300 e USA400 são mais prevalentes em infeções associadas à comunidade (CA-MRSA), apesar de já terem sido reportadas infeções da corrente sanguínea, em ambiente hospitalar. (52)

¹¹ **PFGE** é um método de classificação genética utilizado para avaliar a recente evolução de um grupo de estirpes bacterianas. No caso de *Staph aureus*, o método baseia-se numa análise de fragmentos de DNA genómico bacteriano, pelo que posteriormente são comparados entre si e agrupados de acordo com um coeficiente de semelhança de 80%. O CDC desenvolveu uma base de dados, baseada em PFGE, na qual utiliza a designação "USA" para distinguir as diferentes estirpes. (52)

De forma geral, em termos moleculares, a maioria das estirpes HA-MRSA contém no seu genoma a *SCCmec* do tipo I, II ou III, enquanto que as estirpes CA-MRSA possuem a *SCCmec* do tipo IV, menos frequentemente a *SCCmec* do tipo V. Estas cassetes cromossómicas estafilocócicas são mais pequenas do que as que pertencem às estirpes hospitalares, sugerindo-se que sejam mais facilmente transmissíveis entre as estirpes de *Staphylococcus*, no entanto têm falta de outros elementos de resistência antibiótica, existentes nas estirpes hospitalares. Para além destas diferenças, a maioria das estirpes da comunidade produz a toxina PVL, contrariamente às estirpes hospitalares, e possuem uma taxa de crescimento mais elevada. (52) (53)

A **Figura 3.2.** representa, de forma sintetizada, a provável evolução das estirpes CA-MRSA e HA-MRSA a partir da estirpe MSSA.

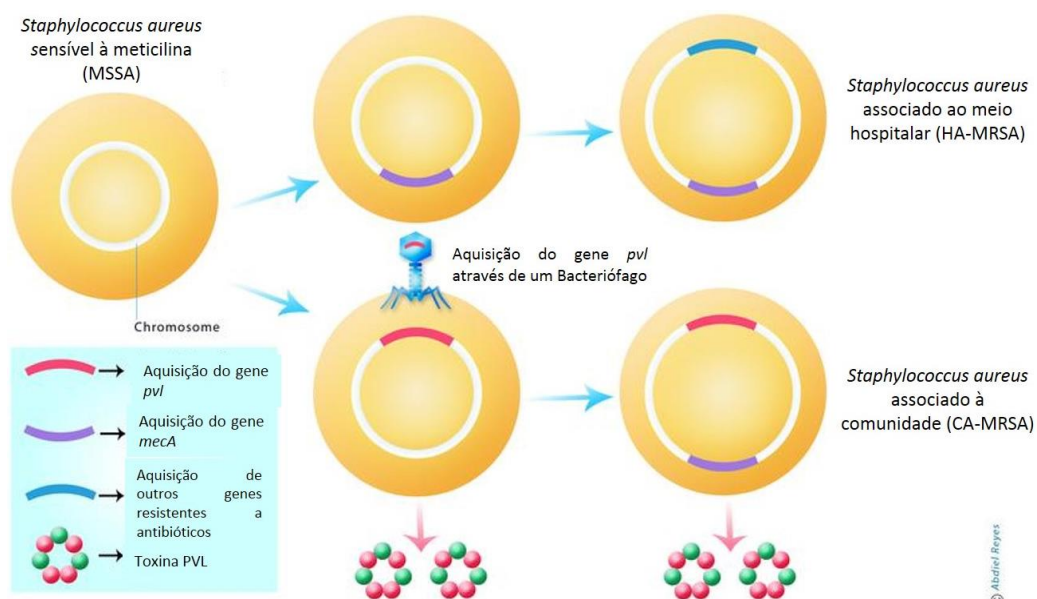


Figura 3.2 - Modelo da origem das estirpes CA-MRSA e HA-MRSA. Adaptado de Robinson (112)

O perfil de resistência a antibióticos difere entre as estirpes CA-MRSA e as estirpes HA-MRSA, devido aos determinantes genéticos adquiridos. Como já referido anteriormente, o facto de a *SCCmec* das estirpes da comunidade ter um tamanho mais reduzido, explica o facto de a estirpe CA-MRSA ser suscetível a mais classes de antibióticos face à estirpe HA-MRSA. Deste modo, a estirpe CA-MRSA embora seja resistente aos antibióticos β -lactâmicos e, por vezes, à eritromicina, é sensível à maioria das classes de antibióticos. Contrariamente, a estirpe HA-MRSA é resistente à grande maioria das classes de antibióticos, no entanto apresenta sensibilidade à

vancomicina, linezolid, quinupristina-dalfopristina, daptomicina, tigeciclina, ceftarolina e televancina. (54) (55)

No **Quadro 3.3.** estão representadas as principais diferenças bacteriológicas entre as estirpes da comunidade e as estirpes hospitalares.

Quadro 3.3 - Principais diferenças entre as estirpes CA-MRSA e HA-MRSA. Adaptado de Gillen (54)

	CA-MRSA	HA-MRSA
Genótipos mais comuns	USA300/400	USA100/200
Resistência antimicrobiana	Perfil de resistência baixo	Perfil de resistência elevado
SCCmec	IV-V	I-III
Toxina PVL	+	-
β-lactamase	90% das estirpes	-
Coagulase	+	+
Principais Manifestações Clínicas	Infeções da pele e tecidos moles e pneumonia necrotizante	Infeções da corrente sanguínea associadas ao cateter intravenoso, pneumonia associada ao ventilador, infeções do local cirúrgico e endocardite infecciosa.

3.6. Orientações Clínicas no tratamento de infeções provocadas por MRSA

A bactéria MRSA pode provocar diversas infeções, das quais se destacam infeções da pele e tecidos moles (IPTMs), pneumonia, bacteriemia, endocardite, osteomielite, infeções de próteses articulares e infeções associadas a cateteres venosos. (56)(57)

Durante a última década, diversos artigos, diretrizes e declarações de consenso têm surgido de forma a possibilitar orientações quer para o diagnóstico, quer para o tratamento de infeções provocadas por MRSA. (58) Dentro destas, as que mais se destacam são as *guidelines* para o tratamento de infeções por *Staphylococcus aureus* meticilina resistente em adultos e crianças publicadas pela *Infectious Diseases Society of America*(59) nos Estados Unidos da América e na Europa as mesmas foram desenvolvidas por alguns países, destacando-se as desenvolvidas no Reino Unido(60).

Entre os diversos países da Europa não existe uma opinião uniformizada a nível terapêutico, para o tratamento de infeções provocadas por MRSA e, de forma a colmatar esta lacuna, a *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* publicou um consenso em que agregou diversos aspetos relacionados com a prevenção, controlo e medidas para o tratamento das infeções por MRSA(61), assim como uma revisão sobre os antibióticos disponíveis e mais utilizados (62). Contudo, mesmo com estas diretrizes publicadas, diversas questões continuam por resolver, tais como a abordagem terapêutica mais apropriada para o tratamento de infeções *minor* e *major* provocadas por MRSA, qual a via de administração e duração do tratamento mais adequados, de acordo com o tipo de infeção, e além destes fatores, um vasto número de aspetos clínicos não apresentam evidência científica publicada. (58)

O sucesso do tratamento de infeções provocadas por MRSA está dependente de várias condicionantes e de adequadas decisões clínicas sob o local e gravidade da infeção, a sensibilidade bacteriana demonstrada a um determinado antibiótico, a remoção de possíveis fontes de infeção, tais como dispositivos invasivos, a possível indicação para cirurgia e/ou terapêutica antibacteriana e, neste último caso, a duração da mesma e qual o antibiótico mais apropriado. (58)

De forma geral, as infeções da pele e tecidos moles moderadas podem ser tratadas com antibioterapia oral, como trimetoprim-sulfametoxazol, clindamicina, doxiciclina/minociclina ou linezolidina em ambulatório e, no caso de infeções mais severas e invasivas, a terapêutica antimicrobiana deve ser parental e em ambiente hospitalar.(63)

Apesar das atuais recomendações ainda incluírem o antibiótico vancomicina como a principal escolha no tratamento empírico de infeções graves e invasivas provocadas por MRSA, atualmente existem outros antibióticos alternativos com resultados

semelhantes face à vancomicina. A título de exemplo, esses estudos incluem o uso do antibiótico linezolida em pneumonia e infeções graves da pele e de estruturas da pele e do antibiótico daptomicina para bacteremia, endocardite, igualmente para infeções da pele e de estruturas da pele e infeções das articulações ósseas. (63)

Para além destes fatores, o facto de ultimamente se ter verificado um aumento de falhas clínicas com o antibiótico vancomicina, muito devido ao aumento da CIM para a mesma, desencadeou um interesse adicional em aplicar alternativas terapêuticas para o tratamento de infeções provocadas por MRSA, destacando-se os antibióticos ceftarolina, ceftobripole, dalbavancina, oritavancina e tedizolida. (63)

i. Terapêutica Empírica

Vancomicina

O antibiótico vancomicina pertence à família de antibióticos glicopeptídeos e atua por inibição da síntese da parede celular da bactéria, por interferir com a síntese de peptidoglicanos, já referido anteriormente. (19)

O antibiótico vancomicina é eficaz contra bactérias Gram-positivas e tem demonstrado eficácia contra estirpes resistentes de MRSA, pelo que, atualmente, é o antibiótico de primeira-linha para o tratamento de infeções invasivas provocadas por MRSA. (63)(64) No entanto, a sua eficácia tem sido questionada uma vez que a sua atividade bactericida é lenta, tem ocorrido uma emergência de estirpes resistentes e tem-se verificado um processo de “MIC creep” entre estirpes suscetíveis à vancomicina. (65)

O fenómeno de “MIC creep” consiste numa redução gradual da suscetibilidade de *Staph. aureus* à vancomicina, que se tem verificado na última década, e embora as estirpes MRSA com resistência intermédia (MIC: 4-8µg/mL) ou resistente à vancomicina (MIC ≥ 16µg/mL) ainda permaneça um fenómeno raro, têm sido reportados casos de estirpes MRSA com valores MIC de vancomicina muito próximos do limite de suscetibilidade estipulado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), MIC=2µg/mL. Para além disso, a combinação entre este facto e a fraca resposta à terapêutica com vancomicina nos doentes infetados com *Staph. aureus*, cuja MIC está na extremidade superior do intervalo de suscetibilidade (MIC ≤2µg/mL), tornam o uso continuado da vancomicina problemático. (65)(66)

Uma das desvantagens da vancomicina é que a sua ação bactericida *in vitro* é mais lenta do que os antibióticos β -lactâmicos (67) e a penetração nos tecidos é variável e depende do grau de inflamação, ou seja, está relacionado com a permeabilidade capilar (68). Em particular, tem fraca penetração no tecido ósseo (69), fluido de revestimento epitelial do pulmão (70) e no líquido cefalorraquidiano (71).

Em termos farmacocinéticos, o consenso publicado em 2009 pela *American Society of Health-System Pharmacists*, pela *Infectious Diseases Society of America* e pela *Society of Infectious Diseases Pharmacists*, defende que a concentração plasmática mínima em qualquer altura da terapêutica com vancomicina, deve estar acima de 10 $\mu\text{g/mL}$, de forma a prevenir o aparecimento de resistências. Deste modo, os atuais valores de referência das concentrações plasmáticas mínimas de vancomicina, devem estar entre o intervalo de 15-20 $\mu\text{g/mL}$, de modo a aumentar a penetração nos tecidos alvo e também melhorar os resultados clínicos em infeções graves, tais como bacteriemias, endocardites, osteomielites, meningites e pneumonias nosocomiais. (72)

A utilização prolongada da vancomicina esteve relacionada, essencialmente, a nefrotoxicidade e ototoxicidade, apesar de atualmente estes efeitos adversos serem raros devido às atuais formulações disponíveis. (73) Contudo, o efeito adverso mais frequentemente observado consiste numa reação anafilática, mediada pela libertação de histamina, como a síndrome do homem vermelho. (68) Esta síndrome caracteriza-se por prurido, *rash* eritematoso que envolve a face, o pescoço e a parte superior do tronco e, ocasionalmente, pode provocar fenómenos de hipotensão. Esta reação pode ser prevenida com uma lenta perfusão contínua com vancomicina, entre 60 a 120 minutos, e administração prévia de anti-histamínicos. (68)

Clindamicina

A Clindamicina é um antibiótico pertencente ao grupo das lincosamidas que possui uma atividade bacteriostática e uma excelente penetração nos tecidos. O seu mecanismo de ação ocorre por ligação à subunidade ribossomal 50S da bactéria, interferindo com a reação de transpetpidação, resultando na terminação precoce da cadeia polipeptídica, e deste modo inibindo a síntese proteica. Para além disso, o seu

modo de ação é único, uma vez que tem a capacidade de inibir a produção de toxinas por parte da bactéria. (63)

Pelo facto da sua atividade ser bacteriostática, a sua utilização não está recomendada em infeções endovasculares e, além disso, o seu uso empírico em infeções severas deve ser feito de forma cautelosa, uma vez que as elevadas taxas de resistência à clindamicina, já conhecidas, podem desencadear falha terapêutica. (63) *In vitro*, a sensibilidade à clindamicina é maior nas estirpes CA-MRSA do que nas estirpes HA-MRSA. (74)

Daptomicina

A Daptomicina é um antibiótico pertencente à classe dos lipopeptídeos com uma forte atividade bactericida contra bactérias Gram-positivas. (75) O seu mecanismo de ação envolve a ligação deste agente à membrana bacteriana, provocando a sua despolarização rápida e a consequente morte da célula bacteriana por interrupção das funções metabólicas. (76)(77)

Este antibiótico pode ser considerado uma alternativa à vancomicina no tratamento de infeções invasivas provocadas por MRSA e tem-se verificado que o seu efeito não é inferior ao tratamento *standard* em bacteremia, endocardite, infeções da pele e estruturas da pele, assim como em infeções osteoarticulares. (63) Em contrapartida, a prévia exposição prolongada à vancomicina associado a valores MIC elevados, têm estado associados ao aumento dos valores MIC da daptomicina, sugerindo uma provável resistência cruzada. (75)(78) Relativamente ao tratamento de pneumonia, a daptomicina não é recomendada, uma vez que a sua atividade é inibida pelo surfactante pulmonar. (79)

Linezolida

O antibiótico linezolida é uma oxazolidinona sintética que inibe seletivamente a síntese das proteínas bacterianas através da ligação à subunidade 50S do ribossoma bacteriano, de forma a evitar a formação do complexo 70S de iniciação funcional, componente este indispensável para o processo de tradução. (80)

Das suas características destacam-se a sua biodisponibilidade elevada, a sua eficiente penetração nos tecidos e, por isso, a sua utilização foi aprovada no

tratamento de pneumonia em ambiente hospitalar e infecções complicadas da pele e dos tecidos moles, incluindo as provocadas por MRSA. (63)

Tem sido referido que a linezolida não apresenta ação inferior em comparação com a vancomicina em doentes hospitalizados com suspeita de infecções por MRSA e, além disso, o seu perfil de segurança é bastante similar em pneumonias em ambiente hospitalar. (63)

O seu uso a longo prazo pode trazer alguns inconvenientes, tais como toxicidade hematológica, associado frequentemente a trombocitopenia, e menos a anemia, neutropenia, neuropatia ótica e periférica e acidose láctica. Embora a mielossupressão geralmente seja reversível, o mesmo não acontece com a neuropatia ótica e periférica, que é irreversível ou parcialmente reversível.(63)(81) Pelo facto de ser um fraco inibidor da enzima monoaminoxidase (MAO), faz com que possa desencadear um síndrome serotoninérgico em doentes que estejam sob medicação com inibidores seletivos da recaptção da serotonina ou inibidores da enzima MAO. (63)

Doxiciclina

O antibiótico doxiciclina, assim como o antibiótico minociclina, pertencem à família de antibióticos tetraciclina.(63) Esta classe de antibióticos atua por se ligar reversivelmente à subunidade 30S ribossomal bacteriana de forma a impedir a ligação do tRNA-aminoacil ao seu sítio ativo no complexo mRNA-ribossoma. Este processo faz com que a síntese proteica seja inibida e o seu efeito bacteriostático exercido. (82) Pelo facto da sua atividade ser bacteriostática, a sua utilização não está indicada em casos de bacteremia e em casos de infecções mais invasivas o seu uso também não é recomendado devido à falta de evidência científica. (63)

Tanto a doxiciclina como a minociclina são fármacos bem absorvidos a nível gastrointestinal, detêm uma penetração tecidual bastante eficiente e demonstram atividade antiestafilocócica favorável, incluindo estirpes de MRSA. (63) Embora o seu uso na terapêutica empírica de infecções por MRSA ainda ser pouco aplicado, geralmente são utilizados como terapêutica oral nas infecções da pele e de estruturas da pele, tendo em conta a sua adequada biodisponibilidade. (63)

Trimetoprim-Sulfametoxazol (TMP-SMX)

O Trimetoprim-Sulfametoxazol (TMP-SMX), também conhecido por cotrimoxazol, consiste numa combinação entre dois agentes antimicrobianos que atuam sinergicamente sobre uma vasta variedade de bactérias. Os dois componentes desta associação atuam sequencialmente com a finalidade de inibir os sistemas enzimáticos envolvidos na síntese do ácido tetrahidrofólico (THF) bacteriano, que está relacionado com a síntese de aminoácidos e ácidos nucleicos. (83)

A associação dos antibióticos TMP-SMX tem demonstrado uma eficiente atividade *in vitro* contra estirpes MRSA, pelo que pode ser utilizado como terapêutica empírica em ambulatório, devido à sua biodisponibilidade oral, para infeções da pele e de estruturas da pele quando se suspeita que uma estirpe MRSA seja o agente causador. No que diz respeito a infeções invasivas a sua utilização não está recomendada devido à falta de evidência clínica. (63)

O **Quadro 3.4** resume os principais antibióticos utilizados no tratamento empírico de infeções provocadas por MRSA, bem como as possíveis alternativas terapêuticas e alguns aspetos relativos ao tratamento. (63)

Quadro 2.4 - Terapêutica antimicrobiana empírica, e possíveis alternativas, para o tratamento das principais infeções provocadas por *Staph. aureus* resistente à metilina. Adaptado de VanEperen *et al* (63)

LOCAL DA INFEÇÃO	TERAPÊUTICA EMPÍRICA	ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS	OBSERVAÇÕES
Bacteriemia e Endocardite Infecciosa	Vancomicina	Daptomicina Teicoplanina Daptomicina+Ceftarolina (efeito sinérgico)	<u>Evitar:</u> Clindamicina TMP-SMX Tigeciclina
Infeções da pele e tecidos moles com abcessos <5cm	Incisão e drenagem		

Infeções da pele e tecidos moles moderadas	Clindamicina* Doxiciclina/Minociclina Linezolida		*Uso limitado devido ao potencial de resistência
Infeções da pele e tecidos moles severas ou complicadas	Vancomicina	Daptomicina Linezolida Telavancina*	*O seu uso está indicado apenas quando outras opções terapêuticas falharam, devido ao seu dúbio perfil de segurança
Pneumonia	Vancomicina Linezolida	Televancina*	*O seu uso está indicado apenas quando outras opções terapêuticas falharam, devido ao seu dúbio perfil de segurança. <u>Evitar:</u> Daptomicina Tigeciclina
Infeções dos ossos e articulações	Vancomicina	Daptomicina Vancomicina+Rifampicina Linezolida <u>Considerar:</u> TMP-SMX Clindamicina Fluorquinolonas* Doxiciclina/Minociclina	* Não usar em monoterapia.

4. SISTEMAS DE VIGILÂNCIA E NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS

4.1. Sistemas de Vigilância

vi. Europa: *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*

A *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net) é uma vasta rede europeia, constituída por Sistemas Nacionais de Vigilância, que fornece dados de referência europeus sobre resistências antimicrobianas. (84)

Os resultados publicados contribuem para uma maior sensibilização do público em geral, assim como para a promoção da compreensão científica das resistências antimicrobianas, de forma a demonstrar a devida importância a nível de Saúde Pública. Os resultados dos isolados bacterianos publicados pela EARS-Net são recolhidos a partir de aproximadamente 900 laboratórios clínicos e microbiológicos que, por sua vez, colaboram com cerca de 1400 hospitais na União Europeia. (84)

Esta rede é coordenada e financiada pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* que se designa por uma Agência Europeia sediada em Estocolmo, Suécia, cuja missão é identificar, avaliar e comunicar as atuais, bem como as doenças infecciosas emergentes que apresentem uma ameaça para a Saúde Pública. (85)

vii. Portugal: Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência a Antimicrobianos (PPCIRA)

O Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA), criado pelo Despacho nº2902/2013 de 22 de fevereiro, é um dos nove programas de saúde prioritários da Direção-Geral da Saúde (DGS), tendo resultado da fusão do Programa Nacional de Controlo da Infeção com o Programa Nacional de Prevenção da Resistência Antimicrobiana. (86)

O PPCIRA tem como objetivo geral “a redução da taxa de infeções associadas aos cuidados de saúde, hospitalares e da comunidade, assim como a redução da taxa de microrganismos com resistência aos antimicrobianos e promoção da vigilância

contínua da infeção hospitalar, do consumo de antibióticos e da incidência de microrganismos multirresistentes”. (28)

Esta Rede Nacional colabora com diversos serviços e organismos do Ministério da Saúde, nomeadamente a DGS, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P., o INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., a Administração Central do Sistema de Saúde I.P. e a nível europeu com a rede de vigilância epidemiológica europeia de resistência aos antimicrobianos, EARS-Net, enviando anualmente dados representativos da realidade portuguesa. (28)

A estrutura de gestão do PPCIRA é determinada e regulada pelo Despacho nº15423/2013, funcionando no âmbito do Departamento da Qualidade na Saúde (DQS) da DGS até às unidades de saúde, sejam unidades locais de saúde (ULS), centros hospitalares, hospitais, agrupamentos de centros de saúde (ACES) ou unidades de cuidados continuados (UCC). (28) Na **Figura 4.1** pode-se observar o organograma organizacional do PPCIRA.

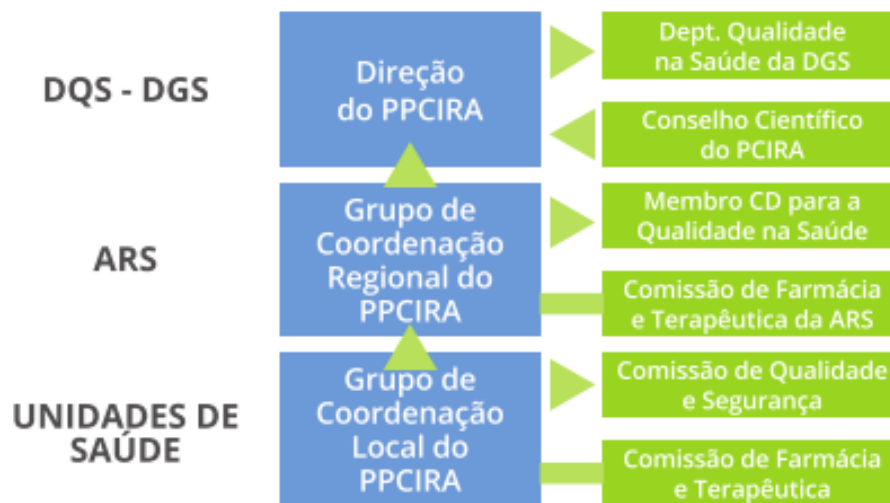


Figura 4.1 - Estrutura de gestão do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências Antimicrobianas. Adaptado de Fernandes *et al* (26)

Em cada Administração Regional de Saúde (ARS) e nas Secretarias Regionais de Saúde das Regiões Autónomas, existe um Grupo de Coordenação Regional do PPCIRA que engloba uma equipa multidisciplinar de médicos e enfermeiros, representantes dos cuidados hospitalares, dos cuidados de saúde primários e dos cuidados continuados. (28)

Por sua vez, em cada unidade de saúde deve existir um Grupo de Coordenação Local do PPCIRA cuja competência é “supervisionar as práticas locais de prevenção e

controlo de infeção e de uso de antimicrobianos, garantir o cumprimento obrigatório dos programas de vigilância epidemiológica, nomeadamente a vigilância e notificação de microrganismos-problema e garantir o retorno da informação sobre vigilância epidemiológica às unidades clínicas, de forma a promover e corrigir as práticas de prevenção e controlo de infeção e de uso de antibióticos”. (28)

O PPCIRA desenvolve um conjunto de programas de vigilância epidemiológica (VE) dirigida não só a IACS específicas, tais como infeções da corrente sanguínea e infeções do local cirúrgico, mas também a populações de maior risco, tais como as Unidades de Cuidados Intensivos de adultos e neonatais. Para além disso, o PPCIRA realiza estudos de prevalência e incidência de infeções e uso de antimicrobianos nos hospitais e Unidades de Cuidados Continuados (UCC), geralmente com uma periodicidade de cinco anos. (87)

A análise de IACS é abordada por estudos de incidência e prevalência, sendo que os primeiros permitem identificar os principais fatores de risco e articular com as relações causais, de modo a determinar possíveis estratégias de intervenção, ao passo que os estudos de prevalência possibilitam uma visão global da situação em estudo, não permitindo fazer as ligações às causas dos problemas identificados, mas sim determinar prioridades para os estudos de incidência. (87)

A título de exemplo apresenta-se a VE das infeções nosocomiais da corrente sanguínea (INCS) que decorre desde 2002. Este programa de VE é o que detém um maior número de participações, pelo que em 2013 participaram 49 hospitais, correspondendo a uma população de aproximadamente 330 mil doentes admitidos nos hospitais e com um registo de 2823 episódios.(87) A respetiva análise foi publicada no relatório “Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos em números – 2014”. (87)

A partir desta análise foi possível decretar uma tendência decrescente num dos principais indicadores definidos pelo PPCIRA, nomeadamente em relação à proporção de MRSA no total de isolados de *Staph. aureus*, comprovando a tendência decrescente reportada na EARS-Net, e à densidade de incidência das INCS por MRSA e por *Staph. aureus*. (87)

Na **Tabela 4.1.** está representada a proporção de MRSA no total de isolados de *Staph. aureus* e a respetiva incidência de INCS por *Staph. aureus* e por MRSA, relativos aos anos de 2012 e 2013.

Tabela 4.1 - Proporção de MRSA no total de *Staph. aureus* e densidade de incidência de INCS por *Staph. aureus* e por MRSA no ano 2012 e 2013. Adaptado de Paiva *et al* (87)

Ano	Nº de Episódios de INCS a <i>Staph. aureus</i>	Incidência de INCS a <i>Staph. aureus</i>	Nº de Episódios de INCS por MRSA	Incidência de INCS por MRSA	Proporção de MRSA no total de isolados de <i>Staph. aureus</i> %
2012	584	0,272	355	0,165	60,78
2013	606	0,265	358	0,156	59,07

Segundo o Despacho nº3844-A/2016 publicado a 15 de março de 2016 em Diário da República (88), um dos indicadores que constituem o “Índice de Qualidade PPCIRA” corresponde à “Taxa de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) no total de *Staph. aureus* isolados de amostras invasivas (sangue e liquor)” pelo que se perspetiva uma redução de 5% ao ano durante o triénio 2017-2019. (88)

Em 2015 entrou em vigor a norma da DGS número 018/2014 que incide sobre a prevenção e controlo de colonização e infeção por *Staph. aureus* resistente à meticilina nos hospitais e Unidades de Cuidados Continuados Intensivos (UCCI). (28)(89) Esta norma destina-se a ser um instrumento orientador de boas práticas, a ser utilizado pelos profissionais e serviços de saúde, com o objetivo principal de reduzir as taxas de infeção por este agente patogéneo. A norma estabelece novos paradigmas de atuação nesta área específica, baseada na evidência científica disponível, com implicações a vários níveis do funcionamento das unidades de saúde. (28)(89)

4.2. Agentes antiestafilocócicos aprovados recentemente

Atualmente, a vancomicina é o fármaco antimicrobiano mais prescrito para o tratamento de infeções provocadas por MRSA, contudo a sua administração requer um acesso intravenoso prolongado, uma monitorização frequente dos níveis plasmáticos da mesma e, além disso, apresenta limitações, em termos de tolerabilidade, em alguns doentes. (90)

Cada vez mais se tem verificado um aumento no número de estirpes de MRSA com reduzida suscetibilidade à vancomicina, assim como estirpes VISA e VRSA, verificando-se uma diminuição na eficácia terapêutica com este antibiótico. Além disso, estirpes com reduzida suscetibilidade a outras opções terapêuticas, tais como os antibióticos linezolid e daptomicina, também já foram reportadas. (90)

A preocupação com as limitações terapêuticas da vancomicina, devido à evolução da resistência e reduzida atividade bactericida, levou à necessidade de se desenvolver novos agentes antiestafilocócicos. Adicionalmente, o facto de as estirpes CA-MRSA se estarem a tornar um fenótipo predominante nas infeções provocadas por MRSA cujo tratamento, maioritariamente, ocorre em regime de ambulatório, fez aumentar o interesse no desenvolvimento de agentes antimicrobianos com tempo de semivida longo, de forma a que pudessem ser usados convenientemente em ambulatório no tratamento de infeções por MRSA. (90)

i. **Dalbavancina (Dalvance® EUA, Xydalba® UE)**

O antibiótico dalbavancina esteve em desenvolvimento durante cerca de 15 anos, pelo que foi originalmente desenvolvido pela *Marion Merrell Dow*. Em 1999 foi utilizado para investigação clínica pela *Biosearch Italia* que, em parceria com a *Versicor Pharmaceuticals, Inc.*, iniciaram em 2000 os ensaios clínicos nos Estados Unidos da América. Em 2003 estas duas empresas fundiram-se, originando a *Vicuron Pharmaceuticals*, que realizou grande parte dos primeiros ensaios clínicos, pelo que em 2005 a mesma foi adquirida pela *Pfizer Inc.* Em 2009, a *Durata Therapeutics* adquiriu a *Vicuron*, assim como os direitos sob o antibiótico dalbavancina, no entanto desde novembro de 2014 que as supracitadas pertencem à *Actavis*. (91)

O antibiótico dalbavancina é um lipoglicopéptido semissintético de segunda-geração derivado do composto A-40926, um glicopéptido tipo-teicoplanina. (92)(93)

Tal como outros glicopéptidos, o seu mecanismo de ação resulta na formação de um complexo com o terminal-C do resíduo D-Ala-D-Ala de cadeias de peptidoglicanos em desenvolvimento, inibindo desta forma a biossíntese da parede celular bacteriana. Para além desta ação bactericida, o antibiótico dalbavancina demonstra a capacidade de formar dímeros e de se ancorar, através da sua cadeia lipofílica, à membrana celular bacteriana e assim aumentar a afinidade para o seu alvo

terapêutico. *In vitro*, ficou demonstrado que o antibiótico dalbavancina possui uma atividade bactericida mais potente do que a vancomicina e teicoplanina contra diversas bactérias Gram-positivas, entre elas a bactéria MRSA. (94)

O antibiótico dalbavancina possui um perfil farmacocinético favorável uma vez que, além de não ser substrato, indutor ou inibidor das enzimas do citocromo P450, possui um tempo de semivida de 5 a 7 dias, o que permite a administração intravenosa de uma dose única semanal. Os efeitos secundários mais frequentes, de gravidade ligeira a moderada, incluem náuseas, diarreia e cefaleias. (94)

O antibiótico dalbavancina foi comparado com a vancomicina e a linezolida, que pode ser administrado pela via oral, em três principais ensaios clínicos de fase III. Estes ensaios clínicos incluíram um total aproximado de 2000 doentes com infeções agudas da pele e estruturas da pele (do inglês ABSSSI)¹², tais como celulite, abscessos cutâneos e outras infeções relacionadas, incluindo as causadas por MRSA. (95) Os doentes que iniciaram o tratamento com vancomicina tinham a opção de mudar para a linezolida ao fim de 3 dias de tratamento. Em todos os estudos, o principal parâmetro de eficácia foi o número de doentes em que a infeção ficou curada após o início do tratamento, pelo que se demonstrou eficácia semelhante da dalbavancina face à vancomicina e linezolida. (95)

A 23 de maio de 2014, a FDA aprovou o uso do antibiótico dalbavancina, Dalvance®, para o tratamento de ABSSSI em adultos, causadas por estirpes bacterianas de *Staph. aureus* (incluindo MRSA e MSSA) e *Streptococcus pyogenes*. (96)

A nível europeu, o Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) concluiu que os benefícios da utilização da dalbavancina, Xydalba®, seriam superiores aos riscos associados, assim como o seu perfil de segurança ser comparável aos restantes antibióticos pertencentes à classe de glicopéptidos atualmente utilizados. Além disso, nos ensaios clínicos realizados, não se verificaram casos de nefrotoxicidade ou ototoxicidade, típicos da classe de antibióticos glicopéptidos. (97) Assim sendo, a 19 de fevereiro de 2015, a Comissão Europeia

¹² **ABSSSI** são infeções bacterianas da pele com uma lesão $\geq 75\text{cm}^2$ que incluem celulite ou erisipela, abscessos cutâneos *major* e infeções de feridas cutâneas. (111)

concedeu uma Autorização de Introdução no Mercado para o medicamento Xydalba®, válida para toda a União Europeia. (97)

O Xydalba® deve ser administrado uma vez por semana, pelo que a dose recomendada é de 1500 mg administrados numa única perfusão ou de 1000 mg na primeira semana, seguidos de 500 mg uma semana depois. A duração da perfusão deve ser de 30 minutos e em doentes com insuficiência renal grave, a dose deve ser ajustada. (95)(97)

Atualmente estão a ser realizados ensaios clínicos de fase III, utilizando a dose terapêutica de dalbavancina recomendada em ABSSSI, em pneumonia adquirida na comunidade e também na população pediátrica, o que posteriormente vai acrescentar evidência ao seu uso terapêutico. Contudo, estudos adicionais são necessários para determinar o papel da dalbavancina no tratamento de infeções bacterianas dos ossos e articulações, pneumonia adquirida em meio hospitalar, endocardite e infeções do sistema nervoso central. (91)

Para além disso, demonstra-se necessário desenvolver análises de custo/eficácia de forma a suportar o uso da dalbavancina ao invés de opções menos dispendiosas, uma vez que o seu uso permite o tratamento em ambulatório, podendo reduzir os custos de hospitalizações.(91)

A farmacovigilância é muito importante, uma vez que este fármaco possui um tempo de semivida muito longo, e estudos adicionais comparativos com a oritavancina devem ser efetuados, uma vez que estes dois antibióticos possuem um espetro de atividade semelhante, bem como um tempo de semivida longo.(91)

ii. Oritavancina (Orbactiv®)

Da mesma forma que o antibiótico dalbavancina, o antibiótico oritavancina também apresenta uma vasta história desde a sua descoberta até à sua utilização clínica. O antibiótico oritavancina foi inicialmente descoberto e desenvolvido pela *Eli Lilly and Company* na década de 90 e apresenta-se como um derivado semissintético do glicopéptidos do tipo I, cloroeremomicina. (93)

Em 2001 a indústria farmacêutica *InterMune, Inc.* adquiriu os direitos da oritavancina e, posteriormente em 2005, a *Targanta Therapeutics* obteve os mesmos.

Seguidamente, dois ensaios clínicos de fase III foram concluídos com sucesso e os resultados divulgados em 2001 e 2003, no entanto a FDA rejeitou a aprovação desse novo fármaco em dezembro de 2008, devido à falta de evidência científica em termos de eficácia e segurança. Em 2009, a *Targanta Therapeutics* foi adquirida pela *The Medicines Company* que desenvolveu mais dois ensaios clínicos de fase III para ABSSSI (SOLO I e SOLO II), provocadas por bactérias Gram-positivas. (93)

O antibiótico oritavancina, anteriormente referenciado por LY333328, é um análogo da vancomicina que pertence ao grupo dos lipoglicopéptidos, assim como a dalbavancina e televancina. As suas alterações estruturais, relativamente à vancomicina, potenciam a sua ação contra as bactérias Gram-positivas e, além disso, a sua capacidade para formar dímeros promove a ligação da oritavancina à parede celular bacteriana. De forma semelhante à dalbavancina, estes dímeros conseguem ancorar-se à membrana celular da bactéria através da sua cadeia hidrofóbica, e, assim, aumentar a sua eficácia terapêutica. (93)(98)

Contrariamente à vancomicina, a oritavancina exerce o seu efeito bactericida de forma rápida e a sua ação é dependente da concentração da mesma no organismo. A sua ação bactericida decorre por diversos mecanismos, sendo eles o bloqueio das reações de transglicosilação na síntese de peptidoglicanos, inibição das reações de transpeptidação (*cross-linking*) e alterações no potencial de membrana, ocorrendo despolarização e o conseqüente aumento da permeabilidade da membrana celular bacteriana. (93) (98)

Em termos farmacocinéticos, o antibiótico oritavancina é pouco absorvido a nível do trato gastrointestinal e, por isso, necessita de ser administrado por via intravenosa de forma a atingir concentrações sistémicas terapêuticas. (93) O seu tempo de semivida é superior a 10 dias e os seus principais efeitos secundários são náuseas, cefaleias e reações de hipersensibilidade. Os efeitos secundários que podem conduzir à suspensão do tratamento são a ocorrência de celulite e osteomielite. (93)(99)

A dose recomendada de oritavancina é de uma perfusão única de 1200 mg durante um período de 3 horas, pelo que não necessita de uma manutenção do acesso venoso ou inserção de cateter venoso central, o que se pressupõe ser uma vantagem, visto que diminui o risco de aquisição de infeções relacionadas. Contudo, o elevado

custo de aquisição deste antibiótico pode limitar a sua utilização na terapêutica de ABSSSI. (90)

A 6 de agosto de 2014 a FDA aprovou o Orbactiv®, oritavancina, para o tratamento de ABSSSI causadas por *Staph. aureus* suscetíveis ao mesmo, por *Streptococcus* spp. e *Enterococcus faecalis*. (100) Na Europa, o Comité de Medicamentos de Uso Humano da Agência Europeia de Medicamentos concluiu que os benefícios do Orbactiv® são superiores aos seus riscos, tendo recomendado a sua aprovação para utilização na União Europeia. Assim sendo, a 19 de março de 2015, a Comissão Europeia concedeu uma Autorização de Introdução no Mercado, válida para toda a União Europeia para o tratamento de infeções da pele e de estruturas da pele. (99)

iii. Tedizolida (Sivextro®)

O composto fosfato de tedizolida, pertencente à *Cubist Pharmaceuticals*, é um pro-fármaco do antibiótico tedizolida, que pertence à classe de antibióticos oxazolidinonas de segunda-geração.(101)

In vivo, este pro-fármaco é convertido por fosfatases do plasma sanguíneo no composto microbiologicamente ativo, tedizolida. A atividade antibacteriana do antibiótico tedizolida ocorre por ligação à subunidade 50S do ribossoma bacteriano, o que provoca a inibição dos mecanismos de tradução e, conseqüentemente, da síntese proteica bacteriana.(101)(102) A sua atividade antibacteriana verifica-se, maioritariamente, em bactérias Gram-positivas tais como MRSA, MSSA, *Streptococcus pyogenes*, *Strep. agalactiae*, outros enterococos e também em estafilococos coagulase-negativos.(102)

O composto fosfato de tedizolida está disponível em duas formas farmacêuticas: pó liofilizado, utilizado para reconstituição e posterior administração intravenosa, e em comprimidos para administração *per os*.(101) A dose diária recomendada em adultos com idade superior a 18 anos é de 200 mg que pode ser administrada quer por via oral, quer por via parental, durante 6 dias. Os ajustes de doses não são necessários em doentes com função hepática ou renal comprometida, nem em doentes em hemodiálise. (101)(102) Os efeitos secundários mais

frequentemente associados são náuseas, cefaleias, diarreia e emése, de gravidade ligeira a moderada.(102)

O antibiótico tidezolida foi comparado com o linezolida em dois ensaios clínicos, ESTABLISH-1 e ESTABLISH-2, que incluíram um total de 1333 doentes com ABSSSI, tais como celulite, abcessos cutâneos e infeções de feridas, incluindo infeções provocadas por MRSA. Em ambos os estudos, um grupo de doentes recebeu uma dose diária de 200 mg durante 6 dias de tratamento com o tidezolida, o qual foi comparado com outro grupo de doentes que recebeu um tratamento de 600 mg de linezolida, administrado duas vezes por dia, durante 10 dias. Após a realização destes dois ensaios clínicos, concluiu-se que a utilização do tidezolida foi tão eficaz como a administração de linezolida no tratamento da infeção.(101)

As suas principais vantagens face a outras alternativas terapêuticas mais utilizadas são o seu tempo de semivida mais longo, que permite a administração de uma dose única diária e o seu perfil de segurança preferível face ao antibiótico linezolida. (102)

A 20 de junho de 2014 a FDA aprovou o Sivextro[®], fosfato de tidezolida, para o tratamento de ABSSSI em adultos(103) e a 23 de março de 2015, a Comissão Europeia concedeu uma Autorização de Introdução no Mercado válida para toda a União Europeia para o medicamento Sivextro[®] após a recomendação pelo Comité de Medicamentos de Uso Humano da Agência Europeia de Medicamentos.(103)

iv. Ceftobiprole (Zevtera[®], Mabelio[®])

O antibiótico ceftobiprole foi desenvolvido pela empresa *Basilea Pharmaceutica Ltd.* e atualmente a sua utilização foi aprovada em treze países europeus para o tratamento de pneumonia adquirida na comunidade (CAP) e pneumonia adquirida em meio hospitalar (HAP) em adultos, excluindo a pneumonia associada a ventilador (PAV). (104)

O percurso até atingir a aprovação foi um pouco atribulado, uma vez que inicialmente o seu uso foi recusado tanto pela FDA como pela EMA, quando os ensaios clínicos estavam a ser desenvolvidos pela *Basilea Pharmaceutica Ltd.* e *Johnson & Johnson*. Seguidamente, a *Basilea Pharmaceutica Ltd.* adquiriu novamente os direitos sobre o antibiótico ceftobiprole e iniciou novos ensaios clínicos que levaram à

aprovação do Zevtera[®]/Mabelio[®] em diversos países da Europa, em Julho de 2014, tais como na Alemanha, Itália, Reino Unido, França, Áustria e Suíça, para o tratamento de HAP e CAP. (104)

O composto medocaril ceftobiprole é um pro-fármaco do antibiótico ceftobiprole, uma cefalosporina de nova geração, que apresenta atividade contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo MRSA e VRSA. (104)

O seu mecanismo de ação é semelhante ao das outras cefalosporinas, pelo que o antibiótico ceftobiprole liga-se às PBP_s, interferindo com a síntese da parede celular bacteriana e, deste modo, exercendo a sua atividade bactericida por inibir o crescimento bacteriano. Além disso, o antibiótico ceftobiprole possui maior afinidade para as PBP_{2a} de MRSA do que outras cefalosporinas utilizadas. (104)

Os efeitos adversos mais comuns detetados aquando da realização dos ensaios clínicos de fase III, em doentes com HAP e CAP, incluem náuseas, disgeusia, diarreia, reações no local de perfusão, emése, aumento do número de enzimas hepáticas e hiponatremia. (104) O antibiótico ceftobiprole não é inibidor das enzimas do citocromo P450 e, como tal, a possibilidade de ocorrerem interações medicamentosas é baixa, valorizando o seu perfil de segurança. Contudo, a utilização deste fármaco está contraindicada em doentes com hipersensibilidade, isto é quando já foram detetadas reações anafiláticas a outros agentes antibacterianos β -lactâmicos. (104)

4.3. Terapêuticas alternativas em desenvolvimento

A escassez na descoberta de novas classes de antibióticos, possivelmente eficazes no tratamento de infeções provocadas por MRSA, assim como o aumento da ocorrência de resistências antimicrobianas aos mesmos, desencadeou a necessidade de se desenvolverem novas estratégias que garantam a eficácia no tratamento de infeções provocadas por MRSA. Estas opções terapêuticas distintas variam desde o desenvolvimento de vacinas e péptidos antimicrobianos até à utilização de bacteriófagos e estratégias profiláticas. (92)

O estudo de Foxley et al. (2016) descreve o desenvolvimento de uma polietilenoimina ramificada (BPEI) cujo alvo terapêutico é o ácido teicóico na parede celular da célula bacteriana, componente essencial para a manutenção das PBP_{2a}.

Com esta ação, pretende-se restaurar a suscetibilidade das estirpes de MRSA a antibióticos β -lactâmicos e assim produzir um efeito sinérgico entre os antibióticos β -lactâmicos e o polímero BPEI. (105)

Outro estudo recente (106) demonstra que estirpes de *Staph. lugdunensis* que são bactérias comensais e cujo reservatório é nasal, produzem um composto, lugdunina, que se pressupõe ser uma tiazolidina com péptidos cíclicos que inibe a colonização por *Staph. aureus*. O composto lugdunina é um agente bactericida contra diversos agentes patogénicos, tendo mostrado eficácia em modelos animais e sem desencadear mecanismos de resistência em *Staph. aureus*.

Ao longo do desenvolvimento deste estudo, ficou demonstrado que a colonização nasal por *Staph. lugdunensis* estava associada com uma redução significativa das taxas de colonização por *Staph. aureus*, sugerindo que o composto lugdunina ou as bactérias comensais produtoras de lugdunina possam ser uma mais valia na prevenção de infeções por *Staph. aureus*.(106)

5. AÇÕES FUTURAS PARA CONTROLAR O DESENVOLVIMENTO DE RESISTÊNCIAS

O atual desenvolvimento de novos antibióticos, terapêuticas alternativas e melhores meios de diagnóstico são cruciais para o combate das atuais e as resistências antimicrobianas emergentes, contudo o número de antibióticos em *pipeline*, assim como outros compostos com atividade antibacteriana é limitado. Desde 2000 que apenas cinco novas classes de antibióticos foram introduzidas no mercado, resultando numa redução de 34,8% de patentes de antibióticos submetidos entre 2007 e 2012. (107)

Uma visão global quer a nível da Europa, quer a nível dos Estados Unidos da América, demonstra que pelo menos 19 compostos com atividade antibacteriana, incluindo antibióticos e terapêuticas alternativas, encontram-se em ensaios clínicos de fase I, 27 em ensaios clínicos de fase II e 6 em ensaios clínicos de fase III. Apesar do total destes 52 compostos em *pipeline*, apenas um é um antibiótico sistémico com um novo mecanismo de ação, limitado ao género de bactérias *Pseudomonas*. (107) (108)

Os antibióticos são uma categoria especial de medicamentos antimicrobianos que sustentam a medicina moderna e caso a sua eficácia seja condicionada, os principais procedimentos cirúrgicos estarão em risco assim como tratamentos que afetam o sistema imunitário, como a quimioterapia, e doentes entubados e internados nas unidades de cuidados intensivos. (108)

Atualmente, as resistências antimicrobianas provocam cerca de 700 mil óbitos por ano. Contudo, estima-se que até 2050 estejam em risco dez milhões de vidas por ano e que essa subida abrupta atinga um custo económico associado de 100 triliões de dólares se, entretanto, não forem encontradas soluções proativas para combater ou reduzir o aumento da resistência a antibióticos. (107)(108)

Na **Figura 5.1.** está representado um esquema com a distribuição das causas de óbitos associadas a resistências antimicrobianas comparativamente a outras causas mais comuns. (108)

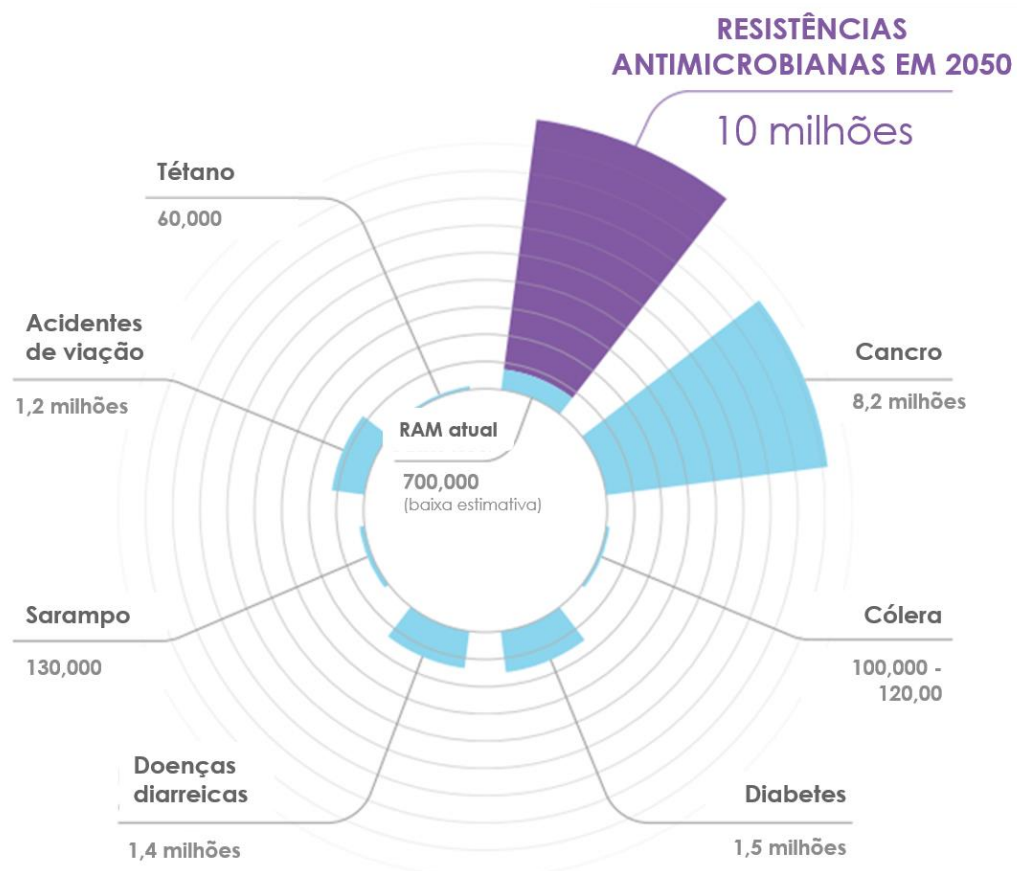


Figura 5.1 - Número de óbitos associados a Resistências Antimicrobianas em comparação com outras causas de óbito. Adaptado de O'Neill (108)

De forma a travar o aumento global de infeções resistentes a antibióticos importa primeiro resolver o problema de procura/oferta, uma vez que a oferta de novos antibióticos é insuficiente para acompanhar o aumento das resistências, pois os antibióticos mais antigos são amplamente usados e as bactérias evoluem para criar resistência aos mesmos. Por outro lado, é necessário mudar radicalmente a forma como os antibióticos são prescritos e consumidos, de forma a preservar a sua utilidade e reduzir a urgência da procura de novos antibióticos. Para isso é necessário atuar sobre os principais setores que impulsionam o consumo de antibióticos tais como os sistemas de cuidados de saúde, a indústria farmacêutica, a agricultura e a indústria de produção de alimentos. (108)

A nível do setor privado, as indústrias farmacêuticas têm desinvestido na sua investigação em antibióticos, em prol de outras áreas de maior interesse económico, como a oncologia. Em 2014 existiam cerca de 800 novos fármacos em *pipeline* na área da oncologia, dos quais cerca de 80% seriam potencialmente primordiais no seu modo de ação, comparativamente aos 50 antibióticos, ou menos, que estão, atualmente, em desenvolvimento. Além disso, a taxa de novos registos em oncologia desde 2010 tem sido duas vezes maior do que desde 2000 a 2011, demonstrando o impacto do significativo foco, por parte da indústria farmacêutica, em áreas mais lucrativas. (108)

Seguidamente serão descritas algumas medidas sugeridas por *Jim O'Neill*, um prestigiado economista britânico que, sob autorização do Primeiro Ministro Britânico *David Cameron*, desenvolveu o *Tackling Drug-resistance infections globally: Final report and recommendations*, que foi publicado em maio de 2016. (108) Estas medidas têm como finalidade apresentar soluções para reduzir o impacto das resistências antimicrobianas quer atualmente, quer futuramente, nomeadamente:

- 1. Desenvolvimento de campanhas de sensibilização pública a nível global:** é necessário melhorar a sensibilização face às resistências antimicrobianas, de modo a que os médicos e veterinários não prescrevam antibióticos quando não são fundamentais, os doentes não os procurem desnecessariamente e os decisores políticos garantam a implementação de políticas de combate às resistências.

- 2. Melhorar as condições de higiene e evitar a propagação da infecção:** a melhoria das condições de higiene e de saneamento básico foi decisiva no século XIX para combater doenças infecciosas, pelo que dois séculos mais tarde, este princípio ainda permanece válido. Alguns países em desenvolvimento terão de se centrar inicialmente na melhoria das condições básicas de saúde, alargando o acesso à água potável e ao saneamento, ao passo que países desenvolvidos deverão centrar-se na redução de infeções na prestação de cuidados de saúde, como a redução das infeções hospitalares.
- 3. Reduzir a utilização desnecessária de antibióticos na agricultura, assim como a sua propagação no meio ambiente:** existem circunstâncias em que os antibióticos são necessários na agricultura e na aquicultura, para manter o bem-estar dos animais e a segurança alimentar. No entanto, uma parte substancial da sua utilização não se destina ao tratamento de animais doentes, servindo apenas para a prevenção de infeções ou para incrementar o crescimento dos mesmos.
- 4. Melhorar a vigilância global da resistência a antibióticos nos seres humanos e nos animais:** a vigilância é uma das pedras angulares da gestão de doenças infecciosas, embora tenha sido desvalorizada e continue a ser pouco financiada no combate às resistências antimicrobianas. Contudo, na maioria dos países verifica-se o aumento do financiamento neste domínio, nomeadamente o Governo dos EUA através da *Global Health Security Agenda* (GHSA), ou Agenda Mundial de Segurança da Saúde, o Governo do Reino Unido com a constituição, no ano passado, do *Fleming Fund*, que ascende a 375 milhões de dólares , em resposta às primeiras recomendações formuladas por esta Avaliação, e a OMS com o desenvolvimento do *Global AMR Surveillance System* (GLASS), ou Sistema Mundial de Vigilância das Resistências Antimicrobianas.
- 5. Promover novos meios de diagnósticos rápidos para evitar a utilização desnecessária de antibióticos:** os diagnósticos rápidos podem transformar a forma como os antimicrobianos são utilizados nos seres humanos e nos animais. Os países ricos devem liderar o caminho para alterar esta situação:

devem tornar obrigatório, até 2020, que a prescrição de antibióticos tenha em conta os dados e a tecnologia de testes sempre que disponíveis e eficazes para ajudar o médico na sua avaliação da prescrição. Este fator irá também estimular o investimento, sendo uma garantia para os responsáveis pelo desenvolvimento de meios de diagnósticos de que os seus testes são eficazes e serão utilizados.

6. **Utilizar mais vacinas nos seres humanos e nos animais:** as vacinas podem prevenir infeções e consequentemente diminuir a procura de tratamentos terapêuticos, reduzindo a utilização de antimicrobianos e contribuindo para o combate do aumento da resistência a antimicrobianos.
7. **Melhorar os rendimentos, o número e o reconhecimento dos profissionais de saúde que trabalham com doenças infecciosas.**
8. **Criar um fundo de inovação global para a fase inicial e para a fase não-comercial da investigação:** há falta de investimento público e privado em investigação e desenvolvimento (I&D) para o combate às resistências antimicrobianas. A fim de apoiar a fase inicial da investigação, foi proposto um Fundo de Inovação Global (*Global Innovation Fund*) com dotação até 2 mil milhões de dólares durante cinco anos. Até à data já foram realizados progressos, sendo de destacar a criação do fundo de inovação do Reino Unido e da China direcionado no combate às resistências antimicrobianas, a intensificação de esforços nos EUA através da *Biomedical Advanced Research and Development Authority* (BARDA), a Europa através da Iniciativa sobre Medicamentos Inovadores (IMI) e os programas da Iniciativa de Programação Conjunta para a resistência antimicrobiana (IPC_RAM).
9. **Promover incentivos para desenvolver o investimento em novos medicamentos e na melhoria dos existentes:** para os antibióticos, o retorno comercial do investimento em I&D demonstrou-se pouco atrativo até à emergência da resistência generalizada a gerações anteriores de fármacos, tempo durante o qual o novo antibiótico poderá perder ou vir a perder rapidamente a proteção de patente. O mercado total de antibióticos é relativamente alargado: cerca de 40 mil milhões de dólares de vendas por ano, no entanto apenas cerca de quatro mil milhões de dólares são vendas

de antibióticos patenteados (aproximadamente o mesmo que as vendas anuais para um medicamento topo de venda para tratamento de cancro). Por este facto, as empresas não estão a investir neste mercado apesar de as necessidades clínicas serem muito elevadas.

10. Construir uma coligação global para a ação real – através do G20 e da Organização das Nações Unidas (ONU): uma ação global é necessária para alcançar progressos significativos a longo prazo. O problema das resistências antimicrobianas será discutido na Assembleia Geral da ONU no final deste ano, pelo que se espera que se tomem medidas tanto do lado da oferta como do lado da procura de medicamentos antimicrobianos, de forma a desencadear uma fase de mudança. O problema das resistências antimicrobianas também mantém a sua importância na agenda dos países do G7 e do G20 no presente ano de 2016. (108)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Davies, J, & Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2010;74(3):417–33.
2. Gelband H, Miller-Petrie M, Pant S, Gandra S, Levinson J, Barter D, et al. *The State of the World's Antibiotics 2015.* Washington, USA; 2015.
3. Centers for Disease Control and Prevention. *Antibiotic resistance threats in the United States, 2013.* 2013.
4. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). *The bacterial challenge : time to react.* Reproduction. 2009. 54 p.
5. Organization WH. *Antimicrobial resistance: Global Report on Surveillance.* Bulletin of the World Health Organization. 2014.
6. Zaffiri L, Gardner J, Toledo-Pereyra LH. History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins. *J Invest Surg.* 2012;25(2):67–77.
7. Forder A. A brief history of infection control. *Samj.* 2007;97(11):1161–4.
8. Fleming A, Wong J. *Giants in the Field of Microbiology Series and the Discovery of Penicillin.* 2003;10(00):124–6.
9. Pereira AL, Pita JR. Alexander Fleming (1881-1955). Da descoberta da penicilina (1928) ao prémio Nobel (1945). *Historia Santiago.* 2005;6:129–51.
10. Saga T, Yamaguchi K. History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Japan Med Assoc J.* 2009;52(2):103–8.
11. Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Infect Control.* 2006;34(5 SUPPL.):11–9.
12. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* American Society for Clinical Investigation; 2003 May 1;111(9):1265–73.
13. Schito GC. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(1):6.
14. Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: Activity and resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* American Society for Microbiology (ASM); 1999. p. 727–37.
15. Tenson T, Lovmar M, Ehrenberg M. The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *J Mol Biol.* 2003;330(5):1005–14.
16. Peacock SJ, Paterson GK. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem.* 2015;84:577–601.
17. Centers for Disease Control and Prevention. *Laboratory Detection of: Oxacillin/Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus** [Internet]. *Healthcare-associated Infections (HAIs).* 2010 [citado a 13 de agosto de 2016]. p. 1–3. Disponível em: https://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/lab_mrsa.html

18. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*. American Chemical Society; 2014. p. 1565–74.
19. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*. American Society for Microbiology (ASM); 2010. p. 99–139.
20. Waness A. Revisiting Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *J Glob Infect Dis*. 2010 Jan;2(1):49–56.
21. Gardete S, Aires-de-Sousa M, Faustino A, Ludovice AM, de Lencastre H. Identification of the first vancomycin intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* (VISA) isolate from a hospital in Portugal. *Microb Drug Resist*. 2008 Mar;14(1076-6294):1–6.
22. Weiss DS. Bacterial cell division and the septal ring. *Mol Microbiol*. 2004;54(3):588–97.
23. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Elsevier B.V.; 2012. p. 273–82.
24. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2008;46(S5):S344–9.
25. Köck R, Becker K, Cookson B, Harbarth S, Kluytmans J, Mielke M, et al. Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Euro Surveill*. 2014;19(29):23–49.
26. Kock R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance*. 2010;15(41):12–20.
27. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report: Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections 2014. 2015.
28. Fernandes PA, Silva MG, Cruz AP, Paiva JA, Nogueira PJ, Farinha CS, et al. Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos em números – 2015. Direção-Geral da Saúde (DGS). 2016.
29. Denyer S, Hodges N, Gorman S. Hugo and Russell’s *Pharmaceutical Microbiology*. Seventh ed. Denyer S, Hodges N, Gorman S, editors. Academic Medicine. Massachusetts, USA: Blackwell Science; 2004. 1-441 p.
30. Siegrist J. *Microbiology Focus 6.1 - The Role of Staphylococcus aureus*. 2014.
31. ITIS Standard Report Page: *Staphylococcus aureus* [Internet]. [citado a 21 de

- março de 2016]. Disponível em: http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369
32. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis. 2008 Jun 1;46 Suppl 5:S350–9.
 33. Lin Y-C, Peterson ML. New insights into the prevention of staphylococcal infections and toxic shock syndrome. Expert Rev Clin Pharmacol. 2010 Nov 1;3(6):753–67.
 34. Chung PY, Toh YS. Anti-biofilm agents: Recent breakthrough against multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*. Pathog Dis. 2014;70(3):231–9.
 35. Watkins RR, David MZ, Salata RA. Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol. 2012;61(PART 9):1179–93.
 36. Wertheim H, Melles D. The Role of Nasal Carriage in *Staphylococcus aureus* Infections. Lancet Infect Dis. 2005;5(December):751–62.
 37. Aureden K, Arias K, Burns LA, Creen C, Hickok J, Moody J, et al. Guide to the elimination of *Staphylococcus aureus* (MRSA) transmission in hospital settings. 2010. 1-65 p.
 38. Jernigan J, Kallen A. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infections. Division of Healthcare Quality Promotion, Centers for Disease Control and Prevention. 2013.
 39. Sydnor ERM, Perl TM. Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings. Clin Microbiol Rev. 2011;24(1):141–73.
 40. Huang SS, Hinrichsen VL, Datta R, Spurchise L, Miroshnik I, Nelson K, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection and hospitalization in high-risk patients in the year following detection. PLoS One. 2011;6(9).
 41. Department of Public Health Division of Epidemiology and Immunization. MULTIDRUG-RESISTANT ORGANISMS: Infection Control Guidelines for Long Term Care Facilities. Massachusetts; 2009.
 42. Davis K a, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. Clin Infect Dis. 2004;39(6):776–82.
 43. Balm MN, Lover A a, Salmon S, Tambyah P a, Fisher D a. Progression from new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation to infection: an observational study in a hospital cohort. BMC Infect Dis. BMC Infectious Diseases; 2013;13(1):491.
 44. Benson K, Cadwallader H, D’Abrera V, Darragh H, Elliot B. Infection Prevention and Control of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Western Australian Healthcare Facilities. Department of Health of The Government of Western Australia. 2013.

45. Khanal R, Sah P, Lamichhane P, Lamsal A, Upadhaya S, Pahwa VK. Nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among health care workers at a tertiary care hospital in Western Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control*. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*; 2015;4:39.
46. Albrich WC, Harbarth S. Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA? *Lancet Infect Dis*. 2008;8(5):289–301.
47. Dulon M, Peters C, Schablon A, Nienhaus A. MRSA carriage among healthcare workers in non-outbreak settings in Europe and the United States: a systematic review. *BMC Infect Dis*. 2014;14(1):363.
48. Allegranzi B, Pittet D. Role of hand hygiene in healthcare-associated infection prevention. *J Hosp Infect*. Elsevier Ltd; 2009;73(4):305–15.
49. Calfee DP, Salgado CD, Classen D, Arias KM, Podgorny K, Anderson DJ, et al. Strategies to Prevent Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in AcuteCare Hospita. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(s1):S62–80.
50. David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jul;23(3):616–87.
51. Uhlemann A-C, Otto M, Lowy FD, DeLeo FR. Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol*. 2014 Jan;21:563–74.
52. Deleo FR, Chambers HF. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2464–74.
53. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*. Elsevier Ltd; 2006;368(9538):874–85.
54. Gillen AL, Conrad J, Cargill M. The Genesis and Emergence of *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA): An Example of Evolution in Action? *Answers Res J*. 2015;8:391–401.
55. Borlaug G, Davis J, Fox B. Community Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (CA-MRSA). *Guidelines for Clinical Management and Control of Transmission*. 2011. p. 12.
56. Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun;46 Suppl 5(Supplement_5):S344–9.
57. Dryden MS. Skin and soft tissue infection: microbiology and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 Jul;34(SUPPL. 1):S2–7.
58. Dryden M, Andrasevic AT, Bassetti M, Bouza E, Chastre J, Cornaglia G, et al. A European survey of antibiotic management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: Current clinical opinion and practice. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(SUPPL. 1):3–30.

59. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis*. 2011;52(3):1–38.
60. Gould FK, Brindle R, Chadwick PR, Fraise AP, Hill S, Nathwani D, et al. Guidelines (2008) for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(5):849–61.
61. Humphreys H, Grundmann H, Skov R, Lucet JC, Cauda R. Prevention and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *ClinMicrobiolInfect*. 2009;15(1469-0691):120–4.
62. Garau J, Bouza E, Chastre J, Gudiol F, Harbarth S. Management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Feb;15(1469-0691):125–36.
63. VanEperen AS, Segreti J. Empirical therapy in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: An Up-To-Date approach. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2016 Jun;351–9.
64. Van Hal SJ, Fowler VG. Is it time to replace vancomycin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections? *Clin Infect Dis*. Oxford University Press; 2013 Jun;56(12):1779–88.
65. Deresinski S. Counterpoint: Vancomycin and *Staphylococcus aureus*: An antibiotic enters obsolescence. *Clin Infect Dis*. 2007;44(12):1543–8.
66. Chang W, Ma X, Gao P, Lv X, Lu H, Chen F. Vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from 2006 to 2010 in a hospital in China. *Indian J Med Microbiol*. 2015;33(2):262–6.
67. LaPlante KL, Rybak MJ. Impact of high-inoculum *Staphylococcus aureus* on the activities of nafcillin, vancomycin, linezolid, and daptomycin, alone and in combination with gentamicin, in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother*. American Society for Microbiology (ASM); 2004 Dec;48(12):4665–72.
68. Kollef MH. Limitations of vancomycin in the management of resistant staphylococcal infections. *Clin Infect Dis*. Oxford University Press; 2007 Sep 15;45 Suppl 3(Supplement 3):S191–5.
69. Graziani AL, Lawson LA, Gibson GA, Steinberg MA, McGregor RR. Vancomycin concentrations in infected and noninfected human bone. *Antimicrob Agents Chemother*. American Society for Microbiology (ASM); 1988 Sep;32(9):1320–2.
70. Lamer C, De Beco V, Soler P, Calvat S, Fagon JY, Dombret - MC, et al. Analysis of vancomycin entry into pulmonary lining fluid by bronchoalveolar lavage in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. American Society for Microbiology (ASM); 1993 Feb;37(2):281–6.
71. Albanèse J, Léone M, Bruguerolle B, Ayem ML, Lacarelle B, Martin C.

- Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics of vancomycin administered by continuous infusion to mechanically ventilated patients in an intensive care unit. *Antimicrob Agents Chemother.* American Society for Microbiology (ASM); 2000 May;44(5):1356–8.
72. Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer JC, Moellering R, Craig W, Billeter M, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *American Journal of Health-System Pharmacy.* The Australian Association of Clinical Biochemists; 2009. p. 82–98.
73. Levine DP. *Vancomycin : A History.* Clin Infect Dis. Oxford University Press; 2006 Jan 1;42(Suppl 1):5–12.
74. Tsuji BT, Rybak MJ, Cheung CM, Amjad M, Kaatz GW. Community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a comparison of molecular epidemiology and antimicrobial activities of various agents. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007;58(1):41–7.
75. Boucher HW, Sakoulas G. Perspectives on Daptomycin resistance, with emphasis on resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2007;45(5):601–8.
76. Steenbergen JN, Alder J, Thorne GM, Tally FP. Daptomycin: A lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(3):283–8.
77. Humphries RM, Pollett S, Sakoulas G. A current perspective on daptomycin for the clinical microbiologist. *Clinical Microbiology Reviews.* American Society for Microbiology; 2013. p. 759–80.
78. Sakoulas G, Alder J, Thauvin-Eliopoulos C, Moellering RC, Eliopoulos GM. Induction of daptomycin heterogeneous susceptibility in *Staphylococcus aureus* by exposure to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* American Society for Microbiology (ASM); 2006 Apr;50(4):1581–5.
79. Silverman JA, Mortin LI, Vanpraagh ADG, Li T, Alder J. Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact. *J Infect Dis.* 2005;191(12):2149–52.
80. Bozdogan B, Appelbaum PC. Oxazolidinones: Activity, mode of action, and mechanism of resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2004. p. 113–9.
81. Bressler AM, Zimmer SM, Gilmore JL, Somani J. Peripheral neuropathy associated with prolonged use of linezolid. *Lancet Infect Dis.* 2004;4(8):528–31.
82. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001;65(2):232–60.

83. May DB. Trimethoprim-Sulfamethoxazole: An overview [Internet]. UpToDate. 2015 [citado a 15 de julho de 2016]. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/trimethoprim-sulfamethoxazole-an-overview>
84. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) [Internet]. About the network. 2016 [cited 2016 Aug 1]. Available from: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/about_network/Pages/about_network.aspx
85. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) [Internet]. About us. 2016. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/aboutus/Pages/aboutus.aspx>
86. Direção-Geral de Saúde. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA) [Internet]. Orientações Programáticas do PPCIRA. 2013 [cited 2016 Aug 9]. Available from: <https://www.dgs.pt/programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencia-aos-antimicrobianos.aspx>
87. Paiva JA, Pina E, Silva MG, Nogueira PJ, Farinha CS. Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos em números – 2014. 2014.
88. Despacho nº3844-A/2016 de 15 de março de 2016 do Diário da República. Diário da República, 2.ª série — N.º 52 2016.
89. Direção-Geral da Saúde. Prevenção e Controlo de Colonização e Infeção por *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) nos Hospitais e Unidades de Internamento de Cuidados Continuados Integrados. 2015.
90. Saravolatz LD, Stein GE. Oritavancin : A Long-Half-Life Lipoglycopeptide. Clin Infect Dis. 2015;61:627–32.
91. Ramdeen S, Boucher HW. Dalbavancin for the treatment of acute bacterial skin and skin structure infections. Expert Opin Pharmacother. NIH Public Access; 2015;16(13):2073–81.
92. Daniel A. Anti-infective drug development for MRSA. Methods Mol Biol. 2014;1085:311–31.
93. Butler MS, Hansford KA, Blaskovich MAT, Halai R, Cooper MA. Glycopeptide antibiotics: Back to the future. J Antibiot (Tokyo). 2014 Sep 13;67(9):631–44.
94. Chen AY, Zervos MJ, Vazquez JA. Dalbavancin: A novel antimicrobial. International Journal of Clinical Practice. Wiley-Blackwell; 2007. p. 853–63.
95. Leuthner KD, Buechler KA, Kogan D, Saguros A, Lee HS. Clinical efficacy of dalbavancin for the treatment of acute bacterial skin and skin structure infections (ABSSSI). Ther Clin Risk Manag. Dove Press; 2016;12:931–40.
96. U.S. Food and Drug Administration. Press Announcements - FDA approves Dalvance to treat skin infections [Internet]. FDA News Release. Office of the

- Commissioner; 2014 [citado a 27 de agosto de 2016]. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm398724.htm>
97. Agência Europeia de Medicamentos (EMA). Resumo do EPAR destinado ao público: Xydalba, dalbavancina. 2016.
 98. Zhanel GG, Schweizer F, Karlowsky JA. Oritavancin: Mechanism of action. *Clin Infect Dis*. 2012 Apr 15;54(SUPPL. 3):S214–9.
 99. Agência Europeia de Medicamentos (EMA). Resumo do EPAR destinado ao público: Orbactiv, oritavancina. 2016.
 100. U.S. Food and Drug Administration. Press Announcements - FDA approves Orbactiv to treat skin infections [Internet]. FDA News Release. 2014 [citado a 27 de agosto de 2016]. Disponível em: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm408475.htm>
 101. Fala L. Sivextro (Tedizolid Phosphate) Approved for the Treatment of Adults with Acute Bacterial Skin and Skin-Structure Infections. Am Heal drug benefits. Engage Healthcare Communications, LLC; 2015 Mar;8(Spec Feature):111–5.
 102. Wong E, Rab S. Tedizolid phosphate (sivextro): a second-generation oxazolidinone to treat acute bacterial skin and skin structure infections. *Pharm Ther*. 2014;39(1052-1372):555–79.
 103. European Medicines Agency (EMA). Resumo do EPAR destinado ao público: Sivextro, tedizolida. 2015.
 104. Liapikou A, Cilloniz C, Torres A. Ceftobiprole for the treatment of pneumonia: A European perspective. *Drug Des Devel Ther*. Dove Press; 4565;9(pp 4565-4572):4565–72.
 105. Foxley MA, Friedline AW, Jensen JM, Nimmo SL, Scull EM, King JB, et al. Efficacy of ampicillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* restored through synergy with branched poly(ethylenimine). *J Antibiot (Tokyo)*. 2016 May 18;1–8.
 106. Zipperer A, Konnerth MC, Laux C, Berscheid A, Janek D, Weidenmaier C, et al. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*. 2016 Jul 27;535(7613):511–6.
 107. Renwick MJ, Simpkin V, Mossialos E. International and European Initiatives Targeting Innovation in Antibiotic Drug Discovery and Development. 2016. p. 1–93.
 108. O’Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016.
 109. Sitterley G. BioFiles [Internet]. 2008 [citado a 29 de maio de 2016]. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biofiles/fibronectin.html>

110. Scientific T. Comparison of Antibody IgG Binding Proteins [Internet]. Protein Biology Resource Library. 2015 [citado a 15 de julho de 2016]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/antibody-igg-binding-proteins.html>
111. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Acute bacterial skin and skin structure infections: developing drugs for treatment. Center for Drug Evaluation and Research. 2013.
112. Robinson DA, Kearns AM, Holmes A, Morrison D, Grundmann H, Edwards G, et al. Re-emergence of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired meticillin-resistant clone. *Lancet*. 2005;365(9466):1256–8.