



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

MARIA KARIELLE SILVESTRE DA SILVA DAMASCENO

Resistência à linezolida em enterococos resistentes à vancomicina isolados no Brasil

MACEIÓ

2022

MARIA KARIELLE SILVESTRE DA SILVA DAMASCENO

Resistência à linezolida em enterococos resistentes à vancomicina isolados no Brasil

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Alagoas, para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Prof^a. Dra. Lara Mendes de Almeida

Maceió

2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

D155r Damasceno, Maria Karielle Silvestre da Silva.
Resistência à linezolida em enterococos resistentes à vancomicina isolados no Brasil / Maria Karielle Silvestre da Silva Damasceno. – 2022.
73 f. : il.

Orientadora: Lara Mendes de Almeida.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 52-68.
Anexos: f. 69-73.

1. Enterococos resistentes à vancomicina. 2. Linezolida, Resistência à. 3. Vancomicina. I. Título.

CDU: 615.282

Maria Karielle Silvestre da Silva Damasceno

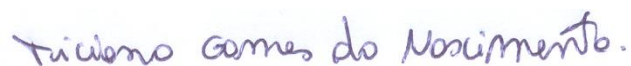
“Resistência à linezolida em enterococos resistentes à vancomicina isolados no Brasil”
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Graduação em
Farmácia da Universidade Federal de Alagoas e aprovado em: 31/01/2022

Orientador(a):



(Profa. Dra. Lara Mendes de Almeida) - Orientadora

Banca Examinadora:



(Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento) – ICF – 1° titular



(Msc. Rodrigo José Nunes Calumby) – Universidad Nacional de Rosario – 2° titular

(Profa. Dra. Camila Braga Dornellas) – ICF - Suplente

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me guiado durante toda a graduação, concedendo-me forças nos momentos em que pensei em desistir e trilhando um caminho repleto de oportunidades nesses cinco anos.

Aos meus pais, por terem me incentivado desde o início e me apoiado em todas as dificuldades que surgiram.

À professora Prof^ª. Dr^ª. Cristina Delgado, por me orientar ao longo da graduação concedendo a mim a oportunidade de integrar o Laboratório de Controle de Alimentos (LCQA) antes mesmo de ingressar na Universidade.

A minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Lara Mendes de Almeida, por ter acreditado em mim desde o primeiro contato, depositando sua confiança e dedicação, seus ensinamentos foram imprescindíveis para o desenvolvimento deste trabalho, enriquecendo a minha experiência acadêmica de maneira única.

Ao presente que recebi no fim da graduação, minha filha Gabrielle que chegou para me ensinar tanto sobre o amor, me trouxe alegria e força para seguir.

Ao meu amigo, namorado e esposo José Haldo que seguiu ao meu lado durante essa jornada me auxiliando e motivando, sendo o meu alento e a fonte de amor necessária.

Aos meus familiares pela compreensão a ausência exigida durante esta caminhada.

As minhas tias, Valdilene, Irailde e Vanuzia Simões por me ajudarem durante toda a graduação a realizar esse sonho.

A minha tia Joelma Simões por ter sido minha inspiração desde a infância.

As minhas tias Jeane e Lidiane Simões por serem meu exemplo de generosidade, bondade e companheirismo. Sendo minhas aliadas e ajudando-me em qualquer situação.

Aos meus primos, pelo exemplo de companheirismo e união e em especial a minha Maria Luiza por tamanha doçura, necessária para recarregar minhas energias.

Aos meus amigos de graduação, Giselle, Júlio, Michelle e Wesleyani por dividirem comigo os momentos difíceis e compartilharem sorrisos durante os bons momentos, trazendo conforto e leveza ao cotidiano.

A todos do LCQA, Rafael, Rodrigo, Karine, Jacilene, Jackson, Eurico, Luzia e em especial ao responsável técnico Cantídio Francisco (*in memoriam*) por sua generosidade, por todo ensinamento, paciência e confiança no meu trabalho.

***“Nunca deixe que lhe digam que não
vale a pena acreditar no sonho que se tem
ou que os seus planos nunca vão dar certo
ou que você nunca vai ser alguém...
Quem acredita sempre alcança! ”
(Renato Russo)***

RESUMO

O desenvolvimento de formas de resistência a antimicrobianos em bactérias é um fenômeno biológico natural que foi acentuado a partir da introdução desses fármacos nas medicinas humana e veterinária e, também, por seu uso indiscriminado em larga escala como promotores de crescimento em animais de produção. Essa pesquisa teve como objetivos investigar a emergência da resistência à oxazolidinona linezolida em cepas de enterococos resistentes ao glicopeptídeo vancomicina (LVRE, *Linezolid-Resistant Vancomycin-Resistant Enterococci*) e analisar a epidemiologia dessas cepas multirresistentes no Brasil. A busca de artigos foi realizada com o auxílio da plataforma PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>). Os trabalhos relatando cepas VRE (*Vancomycin-Resistant Enterococci*) no Brasil datam a partir de 2001 com referência ao primeiro caso em 1996, e esses relatam a resistência apenas em *Enterococcus faecalis* e em *Enterococcus faecium*. Relatos de cepas LVRE são ainda escassos no país e foram registrados, apesar da crescente emergência de VRE precedentemente, apenas em 2014 e 2016 em cepas clínicas de *E. faecalis* (ST525 e ST526) e *E. faecium* (ST412 e ST987) de origem humana no estado de SP. Com base nos artigos publicados, *E. faecalis* ST525 e ST526 foram registrados até o momento apenas em ambientes hospitalares no Brasil, nas regiões sudeste e nordeste. Já a circulação de *E. faecium* ST412 se mostra amplamente distribuída tanto no Brasil como em outros países, especialmente em ambientes hospitalares. O ST987 foi identificado inicialmente no Brasil e poucos são ainda os registros dessa nova linhagem no mundo; contudo o ST987 é relacionado geneticamente aos ST316 e ST78, responsáveis por surtos de infecções em hospitais na China. Dado o exposto, vale mencionar a necessidade de monitoramento microbiológico e medidas preventivas para reduzir a disseminação de cepas VRE em hospitais, na agropecuária, e no meio ambiente, o que conseqüentemente retardaria a emergência de cepas LVRE.

Palavras-chave: VRE, linezolida, vancomicina, resistência, Brasil.

ABSTRACT

The development of antimicrobial resistance in bacteria is a natural biological phenomenon that has been accentuated since the introduction of these drugs in human and veterinary medicine and, also, by their indiscriminate wholesale use as growth promoters in food-producing animals. This research aims to investigate the emergence of oxazolidinone linezolid resistance in enterococci strains resistant to the glycopeptide vancomycin (LVRE, *Linezolid-Resistant Vancomycin-Resistant Enterococci*) and to analyze the epidemiology of these multidrug-resistant strains in Brazil. The search for articles was performed using the PubMed platform (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>). Studies reporting vancomycin-resistant enterococci (VRE) strains in Brazil date from 2001, with reference to the first VRE case in 1996, and they report vancomycin resistance only in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Reports of VLRE strains were found to be scarce in the country and were recorded, despite the previous increasing emergence of VRE, only in 2014 and 2016 in clinical strains of *E. faecalis* (ST525 and ST526) and *E. faecium* (ST412 and ST987) of human origin in the state of SP. Based on the data published, *E. faecalis* ST525 and ST526 have been recorded up until now only in healthcare settings in Brazil, in the southeast and northeast regions. On the other hand, the circulation of *E. faecium* ST412 is widely distributed both in Brazil and in other countries, especially in hospital environments. ST987 was initially identified in Brazil and there are still few records of this new lineage in the world; however, ST987 is genetically related to the ST316 and ST78 lineages, which are responsible for hospital infection outbreaks in China. Given this context, it is worth mentioning the need for microbiological monitoring and preventive measures to reduce the VRE spread in hospitals, livestock and in the environment, which would consequently delay the emergence of LVRE strains.

Key words: VRE, linezolid, vancomycin, resistance, Brazil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sítio de ligação da linezolida na subunidade 50S do ribossomo bacteriano.	25
Figura 2- Estrutura química da classe das oxazolidinonas	25
Figura 3- Estrutura química da linezolida	26
Figura 4- Estrutura química do pró-fármaco fosfato de tedizolid	27
Figura 5- Estrutura química da tedizolida	27
Figura 6- Modelos moleculares de tedizolida e linezolida no centro peptidiltransferase (<i>PTC</i> , <i>peptidyl transferase center</i>)..	27
Figura 7- Cristalografia da ligação da linezolida à subunidade 50S de <i>Haloarcula marismortui</i>	29
Figura 8- Representação cristalográfica da conformação adotada por resíduos de C2487 (<i>Escherichia coli</i> 2452) e U2539 (<i>Escherichia coli</i> 2504) decorrente da ligação da linezolida no PTC.	29
Figura 9 – Estrutura química da vancomicina	34
Figura 10- Complexo clonal (CC) do ST525 gerado por <i>E-burst</i>	46
Figura 11- Complexo clonal (CC) do ST412 gerado por <i>E-burst</i>	49
Figura 12- Complexo clonal (CC) do ST987 gerado por <i>E-burst</i>	50

ABREVIATURAS E SIGLAS

ABSSSI - *Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infection*

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CDC - *Centers for Disease Control*

cfr (*chloranphenicol-florfenicol resistance*) gene

CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CP-E - *Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae*

D-Ala-D-Ala - D-alanil-D-alanina

DNA – *Deoxyribonucleic Acid*

ESBL - *Extended Spectrum β -lactamases*

ESKAPE - Acrônimo para as bactérias: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.

FDA - *Food and Drug Administration*

fMet-tRNA - RNAt-metionina formilada

IRAS - Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

LCS - Líquido Cerebrospinal

LEADER - *Linezolid Experience and Accurate Determination of Resistance program*

LVRE - *Linezolid-Resistant Vancomycin-Resistant Enterococci*

MLST - *Multilocus Sequence Typing*

MRCoNS - *Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci*

MRS - *Methicillin-Resistant Staphylococcus*

MRSA - *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

MSSA - *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus*

OMS - Organização Mundial da Saúde

PBP - *Penicillin Binding Protein*

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PFGE - *Pulsed-Field Gel Electrophoresis*

pH - potencial hidrogeniônico

PRSP - *Penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae*

PTC - *Peptidyl Transferase Center*

RNAm – RNA mensageiro

RNAr – RNA ribossômico

RNA_t – RNA transportador

S_{CoN} - *Staphylococcus* Coagulase-Negativos

ST - *Sequence Type*

U.S - United States

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

VRE - *Vancomycin-Resistant Enterococci*

ZAAPS - Zyvox® *Annual Appraisal of Potency and Spectrum program*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. METODOLOGIA.....	16
4. DESENVOLVIMENTO.....	17
4.1 IRAS	17
4.2. RESISTÊNCIA BACTERIANA	20
4.3 OXAZOLIDINONAS: MECANISMOS DE AÇÃO EM BACTÉRIAS	22
4.3.1 ALVOS PARA A AÇÃO BACTERIANA E A SÍNTESE PROTEICA.....	23
4.3.2 AÇÃO DAS OXAZOLIDINONAS NO RIBOSSOMO BACTERIANO.....	24
4.4 DIFERENÇAS FARMACOLÓGICAS ENTRE LINEZOLIDA E TEDZOLIDA	25
4.4.1 ESTRUTURA QUÍMICA	25
4.4.2 MECANISMO DE AÇÃO	28
4.4.3 USO CLÍNICO	30
4.5 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ÀS OXAZOLIDINONAS DESENVOLVIDOS POR BACTÉRIAS	31
4.6 VANCOMICINA	33
4.6.1 FARMACOCINÉTICA DA VANCOMICINA	34
4.6.2 MECANISMO DE AÇÃO	35
4.6.3 USO CLÍNICO	35
4.7 ENTEROCOCOS: CARACTERÍSTICAS GERAIS E A BASE MOLECULAR DA RESISTÊNCIA À VANCOMICINA.....	35
4.8 ANÁLISE FILOGENÉTICA BASEADA EM MLST DAS CEPAS LVRE IDENTIFICADAS NO BRASIL.....	40
4.8.1 MLST	40
4.8.2 BREVE HISTÓRICO DA OCORRÊNCIA DE CEPAS VRE NO BRASIL.....	40
4.8.3 CEPAS VRE COM RESISTÊNCIA SIMULTÂNEA À LINEZOLIDA (LVRE) NO BRASIL 42	
4.8.4 EPIDEMIOLOGIA BASEADA EM MLST DAS CEPAS LVRE IDENTIFICADAS NO BRASIL.....	44
5. CONCLUSÕES	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
7. ANEXOS - RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS NACIONAIS E INTERNACIONAIS.....	69

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 25% das mortes ocorridas no mundo são causadas por infecções. Devido à dificuldade em se relacionar um microrganismo a determinada doença, o diagnóstico tardio e até mesmo a incerteza diagnóstica levam à utilização de terapias errôneas, o que ocasiona uma terapêutica ineficaz e uma utilização desnecessária de medicamentos (Wannmacher, 2004). A resistência bacteriana geralmente ocorre quando cepas de microrganismos se multiplicam na presença de concentrações relativamente altas de antimicrobianos, acima das doses terapêuticas habituais. O desenvolvimento de resistência é um fenômeno biológico natural que foi acentuado a partir da introdução de antibióticos na prática clínica devido ao uso indiscriminado e desnecessário desses agentes; as taxas de resistência variam localmente de acordo com o consumo pontual, sendo assim, um grave problema mundial (Wannmacher, 2004).

As infecções bacterianas, em sua maioria, ocorrem em ambientes hospitalares, onde o paciente infectado por esses microrganismos possui um estado vulnerável e comumente é submetido a procedimentos invasivos que permitem a sua proliferação. As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são adquiridas nas unidades hospitalares e podem ser manifestadas durante a internação ou após a alta hospitalar. Apesar de serem adquiridas em qualquer setor da unidade hospitalar, as IRAS são extremamente preocupantes em pacientes internos nas unidades de terapia intensiva (UTI) devido à vulnerabilidade dos mesmos à aquisição de infecções e à resposta imunológica comprometida que apresentam. Devido a essa vulnerabilidade e intervenções/procedimentos médicos realizados, em muitos casos utilizam-se antimicrobianos de amplo espectro, que favorecem a seleção de microrganismos multirresistentes. Segundo a Sociedade Brasileira de Microbiologia (SBM), cerca de 700 mil óbitos por bactérias multirresistentes são registrados anualmente, as estimativas são de que até 2050 ocorram em torno de 10 milhões de mortes por ano (Souza, 2019).

De acordo com Franco et al. (2015), existem alguns fatores que contribuem para o alto índice do uso de antimicrobianos, entre eles: a) no Brasil, estima-se um número grande de farmácias e drogarias, em torno de 82.204 estabelecimentos, um número difícil de ser controlado pelos órgãos fiscalizadores e onde pode ocorrer a venda de antibióticos sem receita médica; b) dúvidas no diagnóstico entre infecções virais ou bacterianas, bem como indicação errada quanto à dosagem e o tempo de tratamento, o que põe em risco a saúde do paciente e aumenta o risco do desenvolvimento da resistência bacteriana; e c) falta de programas governamentais de orientação quanto ao uso racional destes medicamentos. O profissional farmacêutico

envolve-se diretamente no controle do uso indiscriminado, pois está presente na dispensação dos medicamentos e possui o papel de orientar quanto ao uso correto e conferir as prescrições. O controle requer um trabalho conjunto da equipe multidisciplinar uma vez que é necessário a anamnese correta para uma prescrição com indicação correta, a dispensação adequada, a administração com dosagem, horário e duração de tratamento precisa, além da conscientização de toda equipe e orientações pertinentes aos pacientes.

O uso de antimicrobianos é imprescindível tanto no âmbito hospitalar quanto no âmbito veterinário, contudo, o uso intensivo na produção animal, de forma profilática e/ou terapêutica no tratamento de infecções bacterianas, ou mesmo como promotores de crescimento (aditivo de ração), é descrito como uma das principais causas de aquisição de resistência em enteropatógenos (Phillips et al., 2004; Picão et al., 2010 & Picão et al., 2009). O uso indiscriminado e muitas vezes imprudente na veterinária é um fator de risco adicional para a pressão seletiva e o surgimento de microrganismos multirresistentes. A maioria dos patógenos animais multirresistentes pode colonizar e/ou infectar humanos por contato direto ou indireto através do meio ambiente (Costa, Loureiro & Matos, 2013). Diante disso, a OMS reconhece a multirresistência bacteriana aos antimicrobianos como um problema de saúde pública essencial e importante, uma vez que a saúde humana está intimamente ligada à saúde dos animais e do meio ambiente em que vivem (Robinson et al. 2016). Os desafios enfrentados em infecções adquiridas por animais estão associados à higiene do paciente, à lambadura de feridas e aos programas de controle de infecções menos difundidos (Klevens et al., 2007; Stull & Weese, 2015). Como na medicina humana, os principais patógenos associados às infecções hospitalares em medicina veterinária são: *Staphylococcus* resistentes à meticilina (*Methicillin-resistant staphylococci*, MRS), *Enterococcus* resistentes à vancomicina (*Vancomycin-resistant enterococci*, VRE), bem como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* produtores de cefalosporinases e/ou de beta-lactamases de espectro estendido (*Extended Spectrum β -lactamases*, ESBL) e produtores de carbapenemases (*carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*, CP-E) (Müller et al. 2014, Wieler et al. 2015, Stull & Weese 2015). Alguns pontos são considerados cruciais na contaminação e disseminação desses microrganismos, como celulares, computadores, maçanetas, interruptores, materiais médicos (estetoscópios e termômetros) e, principalmente, a higiene pessoal dos funcionários que com as falhas na desinfecção aumentam as chances de infecções e possíveis contaminações homem-animal, visto que, esses microrganismos podem colonizar e infectar homens e animais.

Os microrganismos multirresistentes são um desafio para os profissionais de saúde, uma vez que, dificultam a escolha da antibioticoterapia e com frequência concebem mecanismos

que diminuem ou anulam a ação dos antibióticos. Dentre esses microrganismos, devem ser destacados os que integram o grupo ESKAPE, abreviação para as bactérias: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.* (Lin et al., 2018; Pletzer et al., 2018 & Boucher et al., 2009) *apud* (Esposito, 2018). Em 2017, a OMS publicou uma lista global de bactérias resistentes a antibióticos que devem ter prioridade na investigação de novos fármacos.

Poucos antimicrobianos estão disponíveis para o tratamento de infecções causadas por certas bactérias Gram-positivas multirresistentes como, por exemplo, *S. aureus* resistentes à meticilina (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*, MRSA), estafilococos coagulase-negativos resistentes à meticilina (*Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci*, MRCoNS), *Enterococcus faecalis* e *E. faecium* resistentes à vancomicina (*Vancomycin-Resistant Enterococci*, VRE) e *Streptococcus pneumoniae* resistentes à penicilina. Dentre essas poucas opções terapêuticas, as oxazolidinonas são consideradas uma das mais importantes. Vem ocorrendo, entretanto, um crescente aumento no número de relatos de cepas bacterianas resistentes a essa classe de antimicrobianos (Santos, 2004). Esse problema se agrava ainda mais quando essa resistência ocorre em cepas que também apresentam resistência à vancomicina, um importante glicopeptídeo utilizado no combate das infecções causadas por esses patógenos multirresistentes (Tavares, 2000).

Enterococos são bactérias que constituem a microbiota intestinal humana e de várias espécies animais. Por essa razão, essas bactérias são constantemente submetidas à pressão seletiva do uso de antimicrobianos tanto em hospitais como em ambientes de criação de animais de produção, onde existe um uso contínuo e intenso desses fármacos. São bactérias reconhecidas por sua promiscuidade genética, pois são extremamente habilidosas para adquirir e transferir segmentos de ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic Acid*, DNA) contendo genes de resistência a antimicrobianos, o que favorece a disseminação e a transmissão dessas resistências entre humanos e animais (Xavier, Bernal & Titze-de-Almeida, 2006).

Considerando esse contexto, essa pesquisa teve como propósito investigar a disseminação atual e a epidemiologia de cepas de enterococos que apresentam resistência tanto à linezolidina (oxazolidinona) e à vancomicina (glicopeptídeo), dois importantes antimicrobianos utilizados na prática clínica humana. A compreensão da natureza das formas de resistência a essas classes é fundamental para o desenvolvimento de estratégias que preservem a sua eficácia.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Mapear a emergência da resistência à linezolida em cepas VRE (*Linezolid-Resistant Vancomycin-Resistant Enterococci*, LRVRE) e analisar o curso evolutivo dessas cepas enterocócicas no Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Apresentar os mecanismos de atuação das oxazolidinonas em bactérias;
- Caracterizar as formas de resistência às oxazolidinonas descritas até o momento;
- Apresentar os mecanismos de atuação da vancomicina em bactérias;
- Caracterizar as formas de resistência à vancomicina descritas até o momento;
- Investigar a ocorrência e a disseminação de cepas LVRE no Brasil;
- Analisar a filogenia dessas linhagens LVRE por meio de *Multilocus Sequence Typing* (MLST).

3. METODOLOGIA

A revisão de literatura realizada nessa pesquisa se baseou na análise de artigos científicos disponíveis na base de dados PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando-se como filtros de seleção os termos: *linezolid*, *vancomycin*, *enterococci*, *enterococcus*, *resistance* e *Brazil*. Para a busca no PubMed foi determinado como período inicial das buscas o ano 2000, uma vez que a introdução da linezolida na prática clínica se deu nesse ano. A pesquisa bibliográfica para esse estudo foi de 2000 a junho de 2021. Todos os artigos disponibilizados dentro das especificações mencionadas acima foram incluídos para leitura e análise.

O desenvolvimento dessa pesquisa, com base nos dados disponíveis nos artigos selecionados, se deu com o intuito de responder às seguintes questões:

- Em quais espécies enterocócicas tem se observado a coexistência das resistências à vancomicina e à linezolida no Brasil?
- Há evidências de surtos e/ou disseminação de cepas LVRE em diferentes estados brasileiros? Em quais tipos de amostras estão sendo identificadas essas cepas?
- A ocorrência de LVRE está restrita a linhagens geneticamente relacionadas ou se expandindo em diferentes complexos clonais (CC) determinados por MLST em nosso país?

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 IRAS

De acordo com Carvalho e Marques (1999), desde 1869 iniciou-se a primeira observação de casos de IRAS, através do médico escocês James Simpson. Por conta disso, foi criado o termo hospitalismo que se referia aos inerentes riscos hospitalares. Contudo, a vigilância hospitalar avançou no período de 1950 a 1960, nos Estados Unidos (EUA) devido à participação do Centro de Controle de Doenças (*Centers for Disease Control - CDC*) em investigações epidemiológicas de surtos de cepas emergentes de *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina em maternidades, UTI e berçários. Dessa forma, em 1958, a Associação Americana de Hospitais, indicou que todos os hospitais dos U.S. desenvolvessem programas de Controle de Infecção, com a intenção de controlar as IRAS (Ribeiro, 2015).

A infecção hospitalar é uma infecção relacionada à hospitalização ou a procedimentos hospitalares e pode ocorrer após a admissão hospitalar do paciente, durante a internação ou após a alta (BRASIL, 1998). O termo “infecções hospitalares” caiu em desuso, sendo substituído por “Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde” (IRAS), sendo este um termo abrangente que engloba infecções relacionadas à assistência em qualquer âmbito. As IRASs são definidas pelo CDC como uma condição resultante de uma reação adversa à presença de um agente infeccioso adquirido após a admissão nos serviços de saúde, sejam elas resultantes de intervenções diretas ou do contato com o ambiente hospitalar (Oliveira, Silva & Lacera, 2016; Guest et al., 2020). Dentre as infecções hospitalares, as IRAS constituem uma importante causa de mortes em decorrência de doenças específicas associadas às pessoas submetidas a procedimentos clínicos invasivos, como procedimentos cirúrgicos, ventilação mecânica e cateterismos.

No Brasil, a Portaria 2.616/98 do Ministério da Saúde considera as IRASs como risco significativo à saúde dos usuários dos serviços, sendo necessárias medidas de qualificação de assistência hospitalar para a sua prevenção e controle, e define-as como qualquer infecção adquirida após a admissão do paciente no serviço de saúde, manifestadas após 48 horas da admissão ou antes desse período quando relacionada a procedimentos invasivos (Brasil, 1998). Sendo assim, um problema de saúde pública relevante que acarreta altos índices de complicações hospitalares e mortalidade, intimamente associando-se aos fatores que dependem da gravidade da doença que motivou a internação (como imunocomprometidos e outras condições graves), ao tipo de procedimento e ao uso prolongado e/ou inadequado de dispositivos invasivos. A ausência de equipe especializada no controle de infecção e condições

de higiene insatisfatórias, o sítio da infecção e a escolha da antibioticoterapia também constituem fatores importantes e predisponíveis para o aparecimento desses eventos adversos. Para o diagnóstico, utilizam-se critérios que se relacionam com o surgimento das manifestações clínicas e a comprovação laboratorial obtida a partir da realização de exames microbiológicos, sorológicos ou histopatológicos após 72 horas de internação do paciente, podendo ainda o paciente expressar manifestações em um período de tempo menor quando a infecção é resultante de procedimentos invasivos (OMS, 2008).

As IRAS podem classificar-se mediante o sítio de infecção, sendo predominantes em infecções do trato respiratório, infecções do trato urinário, infecções do sítio cirúrgico, sepse clínica, infecções gastrointestinais e menos frequente em infecções da corrente sanguínea. As maiores ocorrências de IRAS são observadas frequentemente em pacientes nos serviços de terapia intensiva, oncologia, cirurgia e nos extremos da idade (Machado et al., 2001). O ambiente hospitalar constitui um importante meio de disseminação de microrganismos, infecções adquiridas nesse meio possuem uma grande diversidade de microrganismos que colonizam determinados sítios com mais facilidade. Estudos demonstram que bactérias Gram-positivas são mais comumente encontradas, dentre essas destacam-se *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCoN), *Enterococcus* spp., e *S. pneumoniae* (Tavares, 2000). Com relação aos microrganismos Gram-negativos fermentadores do grupo das enterobactérias são preocupantes alguns patógenos, como *K. pneumoniae*, *E. coli* e *Enterobacter* spp., assim como alguns bacilos Gram-negativos não fermentadores, particularmente, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *Stenotrophomonas* spp. (Brasil, 2007; Lisboa et al., 2007).

A forma de controle disponível das IRAS consiste no tratamento com antibióticos. As bactérias costumam responder às mudanças do microambiente no qual estão inseridas, logo o uso contínuo de antimicrobianos pode aumentar a probabilidade de desenvolvimento de formas resistentes, principalmente em casos de uso indiscriminado de certos antimicrobianos, o que promove o aumento da pressão seletiva e culmina na seleção de microrganismos resistentes e multirresistentes. O aparecimento dessas formas de resistência possui relação com o quadro imunológico apresentado pelo paciente, o tipo de bactéria e o sítio de infecção, o antimicrobiano escolhido e seu mecanismo de ação, apresentando-se, portanto, como uma dificuldade gradativa no tratamento das IRAS ao passo que surgem mais fácil e rapidamente novas formas de resistência, enquanto o desenvolvimento de novos fármacos ocorre de forma mais lenta. O paciente que adquire infecções no âmbito hospitalar possui maior risco de morbimortalidade e deve-se considerar, ainda, o prolongamento no período de internação incidindo diretamente na elevação dos custos com a assistência ao paciente, bem como, o favorecimento e a seleção de

cepas resistentes aos antibióticos e sua consequente disseminação, que constituem fatores que afetam negativamente a qualidade dos serviços de saúde (Santos, 2004).

Desde 1999, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão encarregado por ações nacionais de prevenção e controle de IRAS em serviços de saúde elaborando um programa nacional vigente durante um quadriênio (Brasil, 2021), que norteia as ações das coordenações Distritais/Estaduais/Municipais de controle de IRAS, promovendo a implementação e o fortalecimento do programa de prevenção em todos os níveis de gestão e assistência através de ações estratégicas nacionais como elaboração e publicação de materiais técnicos, implementação de guias de recomendação, desenvolvimento de estratégias para a implantação e monitoramento dos protocolos de prevenção, prevenindo a disseminação de microrganismos multirresistentes (Brasil, 2021).

De acordo com Neves & Bulgareli (2019), nos EUA os custos com as IRAS são estimados entre US\$ 17-29 bilhões por ano. Em média, cada infecção adquirida demanda um custo de US\$ 15.000 dólares ao hospital, esse valor pode chegar a US\$ 40.000 dólares a depender do tipo de infecção, o que se apresenta como um custo significativo para a instituição de saúde. O CDC aponta que apesar dos avanços significativos quanto à prevenção de infecções associadas à assistência médica, em um determinado dia, aproximadamente 31 pacientes de um hospital adquirem pelo menos uma infecção associada aos cuidados de saúde, e que, apenas nos EUA os custos diretos com IRAS para os hospitais variam de US\$ 35,7 a 45 bilhões anuais, já na Europa o impacto econômico anual pode chegar a € 7 bilhões (CDC, 2020). No Brasil, Kiffer et al. (2015) realizaram um estudo que estimou os custos de ocupação-dia total e médio por paciente com IRAS ou sem IRAS e concluíram que o custo diário do paciente com IRAS foi 55% superior ao de um paciente sem IRAS. O custo para a aquisição de antimicrobianos representa em torno de 20% a 60% dos gastos na maioria dos hospitais. Além dos fatores mencionados que aumentam os custos da internação, vale salientar que o paciente que adquire IRAS, em grande parte dos casos, é acometido por infecções multirresistentes que requerem o uso de antibióticos de última geração, de valor elevado, ou a associação de mais de um medicamento, o que aumenta os custos finais para o hospital (Macedo et al., 2005).

Os custos com IRAS possuem um grande impacto dentro do âmbito hospitalar e atingem não somente as instituições, mas principalmente os pacientes, os familiares e ainda os profissionais de saúde, empresas correlacionadas e planos de saúde, com danos financeiros e/ou psicológicos. Esses custos podem se dividir em: diretos, indiretos e intangíveis. Os custos diretos são oriundos do aumento do tempo de internação, o aumento na demora em admitir novos pacientes por conta do bloqueio de leitos, gastos com consultas e uso de equipamentos

para diagnóstico e afins, além dos custos com materiais e exames (culturas, antibiogramas, radiografias, testes laboratoriais), gastos adicionais com antibioticoterapia tradicional e com medicamentos mais potentes e conseqüentemente mais caros, os custos com a equipe de saúde em geral, com desinfecções e descontaminações, além de eventuais processos judiciais e indenizações financeiras. Os custos indiretos abrangem a diminuição da produtividade no trabalho em decorrência do tempo de afastamento e eventuais sequelas decorrentes da aquisição de infecção, a interrupção no trabalho com o óbito do paciente por IRAS, a perda de renda por um membro da composição familiar, o aumento da morbidade e mortalidade, o tempo demandado da família para cuidados com o paciente e custos com viagens e visitas. Já os custos intangíveis são, como o próprio termo sugere, intangíveis, engloba as alterações psicológicas, a dor e a imagem negativa para o hospital (Neves & Bulgareli, 2019).

Vale ressaltar que grande parte das IRAS é evitável quando se executam medidas eficientes de controle e prevenção, quando os serviços de saúde e suas equipes são treinados e possuem conhecimento acerca das infecções e sua respectiva gravidade, aumenta-se a adesão às medidas de controle e prevenção, podendo ser reduzido em aproximadamente 70% o risco de desenvolvimento de algumas infecções como, por exemplo, as infecções da corrente sanguínea (CDC, 2020).

4.2. RESISTÊNCIA BACTERIANA

De acordo com Vatopoulos et al. (1996), a utilização de antimicrobianos de forma indiscriminada para o controle das infecções, esconde o risco de seleção de microrganismos resistentes, muitos dos quais não serão mais controlados, se causarem futuras infecções. A resistência aos antibióticos é inevitável e irreversível, trata-se de uma consequência natural da adaptação do microrganismo à exposição aos antibióticos, porém o uso intenso de antibióticos na medicina, na agricultura e na produção de alimentos para animais tem causado um aumento na resistência em todo mundo.

O estudo de Panlilio et al. (1992) apontam que, no Brasil, o panorama da resistência bacteriana é preocupante, pois tem sido observado o crescente surgimento de novas amostras de bactérias resistentes nos hospitais brasileiros, o que vêm causando grande preocupação entre os profissionais de saúde. O mesmo afirma que a utilização dos antibacterianos está ligada diretamente a este aumento da incidência da resistência bacteriana, ou seja, o uso inadequado de antibióticos aumenta o risco de seleção de cepas bacterianas resistentes. A chamada “Era dos antibióticos” começou a partir de 1928 com o descobrimento da penicilina por Alexander Fleming, nas décadas seguintes, houve um aumento exponencial na criação de novas classes

desses agentes, principalmente em países desenvolvidos (Riverón et al., 2003). Segundo Silveira et al. (2006), após a Segunda Guerra Mundial, o uso extensivo de penicilina desencadeou o surgimento das primeiras cepas de bactérias Gram positivas resistentes a esse antimicrobiano, denominadas como PRSP (*Penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae*). Tavares (2000) define a resistência bacteriana aos antimicrobianos como um fenômeno genético, relacionado à existência de genes contidos no microrganismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos que impedem a ação dos agentes antimicrobianos. Riverón et al. (2003) apontam que a taxa do surgimento de novos antibióticos não é igual à rapidez com que os microrganismos multirresistentes surgem, ou seja, em breve pode não haver novos agentes para o tratamento de doentes com sepsia grave.

A resistência bacteriana pode ocorrer por vários mecanismos, que podem ser intrínsecos a uma determinada espécie ou gênero ou adquiridos de forma horizontal. A resistência intrínseca ocorre de forma natural, como parte de um processo de evolução bacteriana, já a resistência adquirida ocorre por meio da pressão seletiva exercida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, podendo resultar em mutações genéticas ou trocas de genes de resistência entre as espécies bacterianas (Macedo, 2016). O uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar é reconhecidamente um importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência aos antimicrobianos (Brasil, 2013).

A resistência bacteriana pode ser de dois tipos, natural e adquirida. A natural corresponde a uma característica da espécie, ou seja, são naturalmente resistentes a certo tipo de antibiótico, é um processo decorrente da ausência de estruturas de atuação de antimicrobianos ou a impermeabilidade, por parte de estruturas periféricas das bactérias. A adquirida é caracterizada por mecanismos genéticos diversos, tais como a produção de enzimas inativadoras, interferência com entrada e acúmulo de droga na bactéria, alteração do receptor para ação da droga e via metabólica alternativa (Silveira et al., 2006; Tavares, 2000; Riverón et al., 2003)

Os principais mecanismos de resistência bacteriana são:

Produção de enzimas: A degradação do antimicrobiano por enzimas é o mecanismo de resistência bacteriano mais frequente e importante. As β -lactamases hidrolisam a ligação amida do anel beta-lactâmico, e assim destroem o local onde os antimicrobianos β -lactâmicos ligam-se às proteínas de ligação à penicilina (*Penicillin Binding Protein*, PBPs) bacterianas e através do qual exercem seu efeito antibacteriano. Essas enzimas são codificadas em sítios

extracromossômicos através de plasmídeos, transposons ou cromossomos, podendo ser produzidas de modo constitutivo ou induzida (Riverón et al., 2003).

Entrada e saída do fármaco: O bombeamento ativo de antimicrobianos do meio intracelular para o extracelular do microrganismo, isto é, o seu efluxo ativo, produz uma resistência bacteriana a determinados antimicrobianos. Um exemplo é a resistência às tetraciclina, codificada por plasmídeos em *Escherichia coli*, que é resultado deste efluxo ativo (Riverón et al., 2003).

Alteração da permeabilidade: A permeabilidade limitada constitui uma propriedade da membrana celular externa de lipopolissacarídeo das bactérias Gram negativas. A permeabilidade dessa membrana reside na presença de proteínas especiais, as porinas, que estabelecem canais específicos pelos quais as substâncias podem passar para o espaço periplasmático e, em seguida, para o interior da célula. A permeabilidade limitada é responsável pela resistência intrínseca dos bacilos Gram negativos à penicilina, eritromicina, clindamicina e vancomicina e pela resistência de *Pseudomonas aeruginosa* ao trimetoprim (Riverón et al., 2003).

Alteração do sítio de ação: A alteração do local alvo onde atua determinado antimicrobiano, de modo a impedir a ocorrência de qualquer efeito inibitório ou bactericida, constitui um dos mais importantes mecanismos de resistência. As bactérias podem adquirir um gene que codifica um novo produto resistente ao antibiótico, substituindo o alvo original, como ocorre no *Staphylococcus aureus* (Riverón et al., 2003).

Para Santos (2004), o problema da resistência bacteriana é algo muito sério no ambiente hospitalar, principalmente em clínicas de terapias intensivas, onde os microrganismos multirresistentes estão se tornando cada vez mais comuns, e com mecanismos engenhosos de sistemas de inativação das drogas. Medidas de controle e prevenção são necessárias e englobam o uso correto dos antibióticos e educação dos profissionais da saúde para evitar a disseminação de tais microrganismos.

4.3 OXAZOLIDINONAS: MECANISMOS DE AÇÃO EM BACTÉRIAS

De acordo com Rang & Dale (2016) as oxazolidinonas foram inicialmente denominadas como “a primeira classe de agentes antibacterianos a chegar ao mercado em várias décadas”, inibindo a síntese de proteínas por meio de um mecanismo inovador. As oxazolidinonas constituem uma nova classe de antimicrobianos potencialmente ativos contra cepas de patógenos Gram-positivos resistentes aos β -lactâmicos e glicopeptídeos. Linezolida foi a primeira oxazolidinona a ser desenvolvida (Moellering, 2003), sendo aprovada em 2000 pelo

Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de infecções causadas por cepas de MRSA, MRCoNS, VRE, e *S. pneumoniae* resistentes à penicilina (Diekema & Jones, 2001). Em 2014, tedizolid ou fosfato de torezolid TR-701/DA-7218 (Im et al., 2001) também foi aprovada pelo FDA e tem, desde então, demonstrado excelente atuação contra cepas resistentes à linezolida. A maior eficácia dessa segunda oxazolidinona deve-se à incorporação de um novo anel (anel D) que aumenta sua solubilidade em água, a um grupo fosfato adicionado ao anel oxazolidinona e a um grupo hidroximetil em substituição à acetamida presente na molécula da linezolida (Locke et al., 2014). Tedzolid tem sido considerada bastante eficaz como opção terapêutica para casos graves de infecções de pele (ABSSSI, *acute bacterial skin and skin structure infection*) causadas por *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes* (Fala, 2015). Outras oxazolidinonas como a radezolid, os compostos anti-tuberculose sutezolid e AZD5847, e o composto anti-*Clostridium difficile* cadazolid se encontram atualmente em fase de avaliação clínica.

Esta classe de antimicrobianos não está aprovada para uso em medicina veterinária em todo o mundo, no entanto, a vigilância ativa de enterococos resistentes às oxazolidinonas e a detecção de genes de resistência transferíveis em animais de produção aumentaram nos últimos anos (Wang et al., 2015; Elghaieb et al., 2019 & Lei et al., 2019). As oxazolidinonas são utilizadas como um dos últimos recursos no âmbito hospitalar. A resistência a essa classe de antibióticos constitui um grande problema de saúde pública e embora grande parte dos patógenos Gram-positivos ainda sejam sensíveis a ação desta classe, desde que foi introduzida para uso clínico em 2000, diversos mecanismos de resistência à linezolida já foram descritos.

4.3.1 ALVOS PARA A AÇÃO BACTERIANA E A SÍNTESE PROTEICA

As proteínas microbianas são os principais alvos dos medicamentos, uma vez que são componentes essenciais das reações bioquímicas necessárias aos microrganismos. Dessa forma, impedir ou atrapalhar esses processos fisiológicos permitem a destruição da bactéria. De acordo com Brunton et al. (2012), os processos bioquímicos comumente inibidos em bactérias incluem a síntese das paredes celulares das bactérias, as sínteses da membrana celular e das subunidades ribossômicas 30S e 50S, e ainda o metabolismo dos ácidos nucleicos. Apesar de a síntese proteica ser comum às células procarióticas e eucarióticas, os antimicrobianos possuem toxicidade seletiva decorrente da distinção entre as estruturas dos ribossomos procarióticos e eucarióticos; enquanto eucariotos possuem ribossomos 80S, procariotos têm ribossomos 70S, sendo esses últimos formados pelas subunidades 50S e 30S, e essa diferença elucidada a toxicidade seletiva dos antimicrobianos que agem na síntese de proteínas. A abreviatura S

significa unidade Svedberg, que descreve a taxa de sedimentação relativa em uma centrífuga de alta velocidade (Tortora, Funke, Case, 2012). O ribossomo bacteriano tem coeficiente de sedimentação de 70S e é constituído de uma subunidade 30S e uma 50S. A subunidade 30S contém a molécula de RNAr com 16S e 21 proteínas diferentes, enquanto a subunidade 50S contém RNAr 16S, RNAr 23S, RNAr 5S e 34 proteínas diferentes. É o RNAr, em vez dos componentes proteicos do ribossomo, o elemento responsável por atividades chave do ribossomo: decodificação do RNAm, ligação dos aminoácidos uns aos outros e translocação do processo de translação. No ribossomo 70S há dois sítios que se ligam aos RNAt durante a translação: o sítio P ou peptidil, que contém a cadeia peptídica em crescimento, e o sítio A ou aminoacil, também conhecido como sítio aceptor, que se liga às moléculas de RNAt que chegam, transportando os diversos aminoácidos. Existe também um sítio E ou de saída (*Exit*), que se liga aos RNAt utilizados durante a translação antes de serem ejetados do ribossomo (Golan et al., 2014).

A translação, como a transcrição, pode ser dividida em três etapas. Durante a iniciação os componentes do sistema de translação são montados. Primeiro, o RNAm une-se à subunidade 30S do ribossomo bacteriano e uma molécula específica de RNAt ligada à metionina formilada, o primeiro aminoácido codificado por todo RNAm bacteriano. A molécula de RNAt-metionina formilada (fMet-tRNA) liga-se ao seu códon 5 de iniciação (AUG) no RNAm. A seguir, a subunidade 50S une-se à subunidade 30S para formar o ribossomo 70S completo (Golan et al., 2014).

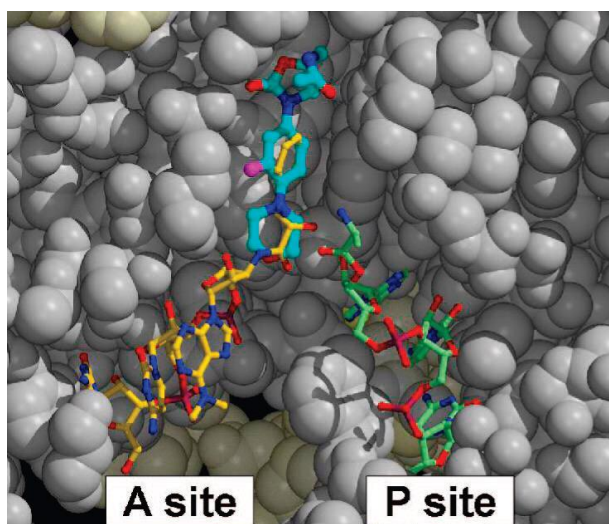
4.3.2 AÇÃO DAS OXAZOLIDINONAS NO RIBOSSOMO BACTERIANO

Durante o processo de translação a síntese de proteínas é iniciada com a leitura de um RNAm pelo ribossomo, que se liga à subunidade 30S do ribossomo. Prontamente o RNAt liga-se ao complexo formado pelo RNAm-subunidade 30S e assim a subunidade 50S se liga ao complexo RNAt-RNAm-subunidade 30S, formando a subunidade 70S, sendo esta, o complexo de inicialização, onde ocorrerá a decodificação do RNAm e conseqüentemente a síntese da nova proteína através do processo de tradução do material genético.

As oxazolidinonas agem inibindo a síntese proteica bacteriana em um estágio inicial, apresentando assim um mecanismo de ação completamente diferente dos demais antimicrobianos, elas atuam bloqueando a formação do complexo de iniciação, ou seja, o processo de translação bacteriana (Kaiser et al., 2007). Os medicamentos dessa classe possuem efeito bacteriostático. A linezolida tem como sítio de ligação a subunidade 50S do ribossomo bacteriano, bloqueando a ligação do aminoacil-RNAt ao sítio A do centro peptidil-transferase

(PTC, *peptidyl transferase center*) (Figura 1). A presença da linezolida no sítio A pode também afetar indiretamente o posicionamento de fMet-tRNA no sítio P, provavelmente por induzir uma alteração na conformação do nucleotídeo U2585, com o qual o fármaco estabelece pontos de ligação. Como U2585 é essencial para o correto posicionamento de fMet-tRNA no sítio P, essa nova conformação impede a formação do complexo de iniciação, o que acentua a ação inibitória da linezolida (Ippolito et al., 2008). As formas de atuação da tedizolida ainda não foram totalmente elucidadas, mas sabe-se que seu sítio de ligação no ribossomo bacteriano é similar ao da linezolida. O anel adicional D de tedizolid provavelmente liga-se a outros nucleotídeos no PTC, o que poderia explicar a melhor eficácia dessa nova oxazolidinona em relação à linezolida (Im et al., 2011).

Figura 1- Sítio de ligação da linezolida na subunidade 50S do ribossomo bacteriano.



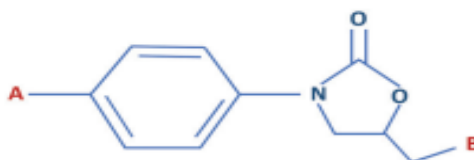
Fonte: Extraído de Ippolito et al., 2008.

4.4 DIFERENÇAS FARMACOLÓGICAS ENTRE LINEZOLIDA E TEDZOLIDA

4.4.1 ESTRUTURA QUÍMICA

As oxazolidinonas são substâncias químicas formadas por compostos cíclicos, em sua composição encontra-se um grupo carbonila e átomos de oxigênio e nitrogênio (Figura 2).

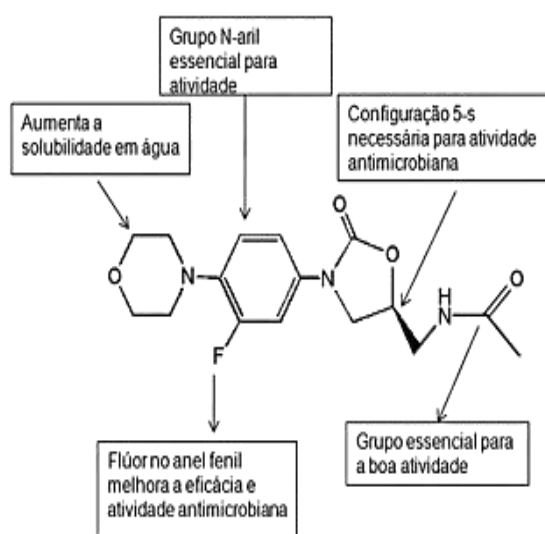
Figura 2- Estrutura química da classe das oxazolidinonas



Fonte: Extraído de Machado et al., 2019.

Diante disso, o primeiro fármaco representante desta classe, a linezolida (Figura 3) possui essa estrutura básica com a inserção de um anel morfolínico, que confere uma melhor solubilidade em água. Além disso, é inserido à estrutura básica um grupo metilaminoacilado que se relaciona diretamente com a atividade biológica da molécula; no anel fenil incorpora-se um substituinte amino que proporciona uma melhor ação microbiana e no anel aromático incorpora-se um átomo de flúor, que além de aumentar a atividade antimicrobiana também proporciona uma boa absorção por via oral.

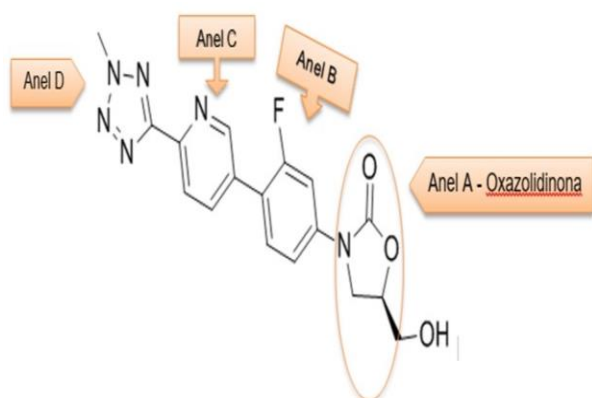
Figura 3- Estrutura química da linezolida



Fonte: Extraído de Machado et al., 2019.

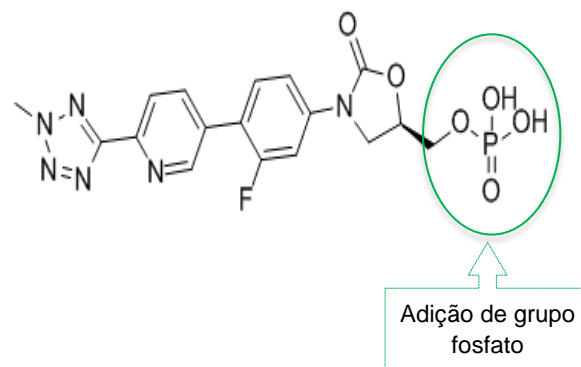
A molécula de tedizolida (Figura 4) possui uma estrutura química semelhante à linezolida, contudo, a inserção de um anel D substituído que viabiliza uma maior interação por meio de ligações de hidrogênio entre o fármaco e o ribossomo bacteriano, além de um grupo de hidroximetila substituindo a acetamida da linezolida, são substituições cruciais para a atividade clínica acentuada frente a alguns patógenos resistentes à linezolida. A adição do fosfato do pró-fármaco (Figura 5) permite uma maior solubilidade aquosa e biodisponibilidade da droga, sendo assim, as modificações realizadas em síntese permitem a administração em doses inferiores e a obtenção de uma maior eficácia no tratamento com a tedizolida.

Figura 5- Estrutura química da tedizolida



Fonte: Autor, 2021.

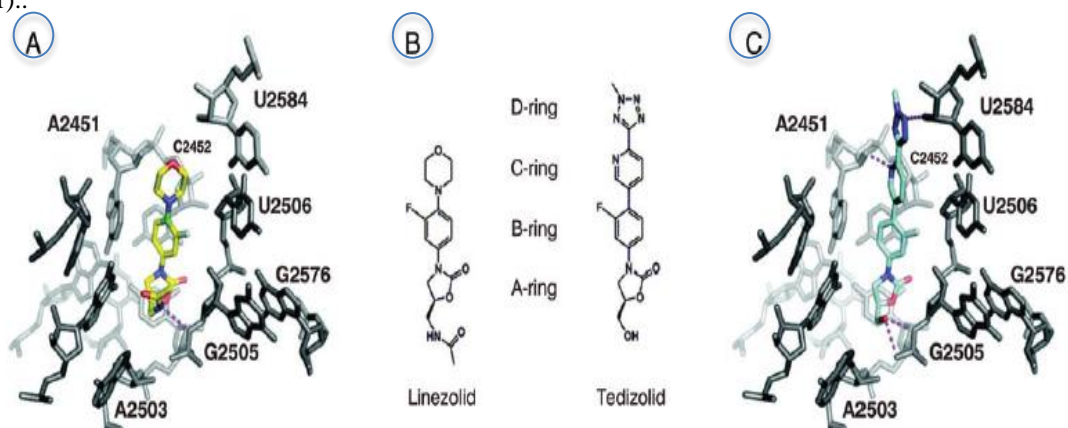
Figura 4- Estrutura química do pró-fármaco fosfato de tedizolid



Fonte: Autor, 2021.

O fosfato de tedzolid (anteriormente fosfato de torezolid, TR-701, DA-7218) é o pró-fármaco inativo biologicamente da porção ativa de tedzolid (TR-700, anteriormente torezolida, DA-7157), que demonstrou uma potente atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de bactérias aeróbias e anaeróbias Gram-positivas, principalmente frente a *S. aureus* sensível à meticilina (*Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus*, MSSA), MRSA, SCoNs, VRE, *S. pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus agalatae* (Kanafani & Corey, 2012). O local de ligação, PTC, é semelhante para tedizolid e linezolida, embora o anel D de tedizolid possa envolver locais adicionais no ribossomo, sendo provavelmente responsável pela maior potência da tedizolid (figura 6) (Locke et al., 2014).

Figura 6- Modelos moleculares de tedizolid e linezolida no centro peptidiltransferase (PTC, peptidyl transferase center)..



Fonte: adaptado de Locke et al., 2014.

4.4.2 MECANISMO DE AÇÃO

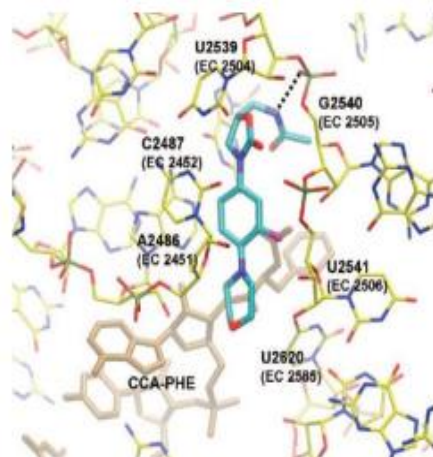
A linezolida é um antibiótico de ação bacteriostática contra patógenos Gram-positivos aeróbicos, incluindo MRSA e VRE. Ademais, tal antimicrobiano pode agir de forma bactericida contra alguns patógenos, como os estreptococos, e age por meio da inibição da síntese de proteínas.

O local preciso de atuação e o mecanismo de ação dessa nova classe de antimicrobianos sintéticos foram motivos de discussão no final da década de 1990, especialmente em relação à etapa da síntese protéica que poderia ser afetada pelas oxazolidinonas (Lin et al. 1997; Swaney et al. 1998). Em 1999, o mapeamento de resíduos do operon RNAr de mutantes *Halobacterium halobium* selecionados com linezolida permitiu a identificação de sete mutações que afetam seis posições de uma região central do domínio V do gene RNAr 23S, sugerindo que esse segmento do RNAr seria o sítio de ligação primário da linezolida nos ribossomos procarióticos. O fato de esse sítio ser parte do PTC da subunidade ribossômica 50S permitiu aos autores inferir que a linezolida inibe a incorporação de fMet-tRNA no complexo de pré-iniciação, constituído pelo RNAt, subunidade 30S do ribossomo e pelo RNAm. Além disso, a análise dos efeitos da linezolida sobre a atividade da peptidil-transferase dos ribossomos de *H. halobium* excluiu a hipótese de que a linezolida e, provavelmente outras oxazolidinonas, poderiam inibir a tradução por interferência direta na catálise da ligação peptídica, como ocorre com outros inibidores da síntese protéica (Kloss et al. 1999) *apud* (Almeida, 2012).

Ainda no estudo de Ippolito et al. (2008), observou-se que a ligação da linezolida promove mudanças no PTC. Ao realizar uma análise da linezolida ligada à subunidade 50S de *Haloarcula marismortui* através de cristalografia, foi possibilitado a compreensão da ação da linezolida no ribossomo bacteriano (Figura 7). A linezolida promove um giro dos resíduos C2487 (*E. coli* 2452) e U2539 (*E. coli* 2504) em direção ao lúmen do sítio ativo, permitindo a formação de importantes interações (Figura 8). C2487 (*E. coli* 2452) oscila em direção à linezolida aparentemente para otimizar sua interação com o anel fluorofenil, que completa a interação dos anéis aromáticos, incluindo os nucleotídeos C2487, A2488 e G2489 (*E. coli* 2452, 2453, 2454). A rotação de U2539 (*E. coli* 2504), também induzida pela ligação da linezolida, resulta na acomodação desta base com o anel oxazolidinona. Este movimento altera a posição do grupo fosfato da base G2540 (*E. coli* 2505), permitindo a formação de pontes de hidrogênio com a acetamida da linezolida (Almeida, 2012). Por se sobrepor à parte aminoacil de um RNAt ligado ao sítio A, provavelmente a linezolida possa competir com substratos que se ligam a esse sítio.

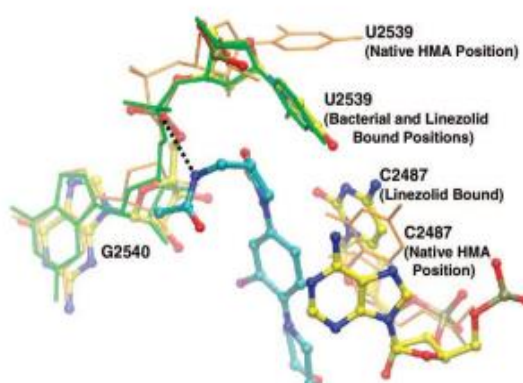
No entanto, essa forma particular de ligação ao sítio A não explica o modo como a linezolida poderia bloquear a ligação de fMet-tRNA^{fMet} com o sítio P durante a etapa de iniciação da síntese proteica, como proposto por outros autores (Swaney et al. 1998) *apud* (Almeida, 2012). Para essa outra forma de interferência da linezolida, Wilson et al. (2008) sugeriram uma atuação indireta do antimicrobiano na ligação de fMet-tRNA ao sítio P. A presença da linezolida no sítio A afetaria a ligação ou o posicionamento do peptidil iniciador, provavelmente, induzindo uma alteração na conformação do nucleotídeo U2585 com o qual ela estabelece pontos de ligação (anel C). Como U2585 é essencial para o correto posicionamento do P-tRNA no sítio P, essa nova conformação não seria produtiva para a formação da ligação peptídica, acentuando a ação inibitória da linezolida (Almeida, 2012).

Figura 7- Cristalografia da ligação da linezolida à subunidade 50S de *Haloarcula marismortui*.



Fonte: extraído de Ippolito et al., 2008.

Figura 8- Representação cristalográfica da conformação adotada por resíduos de C2487 (*Escherichia coli* 2452) e U2539 (*Escherichia coli* 2504) decorrente da ligação da linezolida no PTC.



Fonte: extraído de Ippolito et al., 2008.

A linezolida não é muito eficaz contra bactérias Gram-negativas aeróbias, anaeróbias e atípicas, entretanto, é, também, ativa contra *Corynebacterium*, *Listeria spp.*, *Clostridium difficile* e *Mycobacterium tuberculosis*. Nesse contexto, tanto a linezolida quanto a tedizolid possuem o mesmo mecanismo de ação, no qual essas drogas se ligam ao RNAr 23S da subunidade 50S, impedindo a formação do complexo 70S (o complexo de iniciação) e a tradução durante a primeira etapa da síntese proteica das bactérias. Já a tedizolid parece manter atividade *in vitro* contra *S. aureus* resistentes a linezolida, estafilococos coagulase-negativos e enterococos, em particular, estafilococos que abrigam a gene de resistência *cfr* (*chloramphenicol-forfenicol resistance*). Desse modo, o espectro de ação é parecido ao da linezolida, embora a tedizolid tenha apresentado aumento da atividade contra todas as espécies de estafilococos, incluindo MRSA, enterococos, incluindo VRE, e estreptococos (Machado et al., 2019).

4.4.3 USO CLÍNICO

A linezolida é indicada em casos de infecções causadas por bactérias Gram-positivas e de infecções decorrentes de microrganismos resistentes a drogas mais comumente utilizadas ou em pacientes alérgicos aos beta-lactâmicos. Desse modo, é utilizada no tratamento da pneumonia pneumocócica grave da comunidade em pacientes alérgicos a penicilinas, nas infecções pulmonares, da pele e do tecido subcutâneo causadas por MRSA e em infecções por enterococos (infecção urinária, infecção intra-abdominal e sepse), principalmente nas decorrentes de linhagens resistentes à ampicilina ou à vancomicina. Ademais, esse fármaco se mostrou efetivo ao ser associado ao aztreonam no combate à pneumonia hospitalar, com um índice de cura de 66%. A tedizolid tem ampla atividade contra bactérias Gram-positivas, incluindo ação contra organismos resistentes. Essa droga foi aprovada para o tratamento de infecções agudas da pele causadas por *S. aureus*, incluindo MRSA e MSSA, *S. pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* grupo anginoso, incluindo *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus constellatus*, e *E. faecalis*. Além disso, apresenta atividade *in vitro* contra outras bactérias Gram-positivas, organismos tipicamente causadores de ABSSSIs, como SCoN, estreptococos menos comuns, *Corynebacterium jeikeium* e *E. faecium* (incluindo VRE). Ademais, tem atividade *in vitro* contra alguns organismos atípicos, micobactérias e alguns organismos anaeróbios (Machado et al., 2019).

4.5 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ÀS OXAZOLIDINONAS DESENVOLVIDOS POR BACTÉRIAS

De acordo com Machado et al. (2019), a ocorrência espontânea de resistência às oxazolidinonas é relativamente baixa, porém estão se tornando mais frequentes. Uma das formas de resistência é a presença de mutações do sítio de ligação da linezolida no RNAr 23S (Katzung, Masters, Trevor, 2014). Programas de monitoramento de resistência a antimicrobianos têm mostrado excelente atuação da linezolida contra patógenos Gram-positivos. De acordo com o *Linezolid Experience and Accurate Determination of Resistance* (LEADER) – programa de monitoramento da resistência à linezolida nos Estados Unidos – o número de isolados bacterianos não sensíveis ou resistentes permanece pouco significativo desde a aprovação dessa oxazolidinona para o uso clínico. A eficácia da linezolida também vem sendo reforçada pelo Zyvox® *Annual Appraisal of Potency and Spectrum program* (ZAAPS) – outro programa de monitoramento, que inclui cerca de trinta países localizados em cinco continentes (Mendes et al., 2014).

Por outro lado, em menos de duas décadas – tanto no âmbito da medicina humana como da veterinária – uma ampla variedade de mecanismos de resistência à linezolida foi detectada em diferentes espécies de bactérias Gram-positivas:

- Mutações na região central do domínio V do gene RNAr 23S (Gales et al., 2006; Kelly et al., 2008 & Liakopoulos et al., 2009);
- Mutações nos genes *rplC* e *rplD*, codificadores, respectivamente, das proteínas ribossômicas L3 e L4 (Locke et al., 2009; Mendes et al., 2010 & Almeida et al., 2013);
- Metilação do gene RNAr 23S na posição A2503 promovida pela metiltransferase Cfr, codificada pelo gene *cfr* (Kehrenberg et al., 2005; Long et al., 2006; Kehrenberg, Aarestrup & Schwarz, 2007), e mais recentemente;
- a Expressão dos genes *optrA* e *poxtA*, codificadores de proteínas (ABC)-F recentemente reconhecidas por atuar por meio de proteção ribossômica, e não efluxo (Wang et al., 2015; Cai et al., 2014 & He et al., 2016).

Mutações no domínio V do gene RNAr 23S, especialmente a transversão G2576T, são a causa mais frequente da resistência à linezolida e, geralmente, a seleção de cepas mutantes está associada ao uso prolongado do antimicrobiano. A presença de múltiplas cópias do gene RNAr 23S no cromossomo de *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foi, no início dos anos 2000, uma razão de otimismo em relação à eficácia da linezolida porque seriam requeridas mutações nessas múltiplas cópias para a expressão da resistência, então acreditou-se que a seleção de mutantes resistentes seria um processo raro. Uma curta

experiência clínica, entretanto, mostrou que a emergência de cópias mutadas do gene RNAr 23S em bactérias Gram-positivas poderia ser favorecida em ambientes hospitalares em poucos dias de exposição do patógeno ao antimicrobiano.

Vários relatos de casos clínicos nos anos 2000 mostraram uma relação entre o número de cópias mutadas do gene RNAr 23S e os níveis de CIM de linezolida apresentados por bactérias Gram-positivas resistentes ao fármaco (Liakopoulos & Neocleous, 2009; Liakopoulos et al., 2010 & Kosowska-Shick et al., 2010). A presença de mutações específicas, como G2576T, em mais de 50% do total do número de cópias do gene RNAr 23S geralmente estava associada a níveis de CIM de linezolida acima dos *breakpoints* de resistência determinados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), enquanto um menor número de cópias mutadas era associado a menores níveis de resistência.

Outro grave problema que começou a ser identificado a partir dos anos 2000 e que requer monitoramento foi a disseminação do gene *cfr* (*chloranphenicol-florfenicol resistance*) tanto em bactérias Gram-positivas como Gram-negativas em ambientes hospitalares e em animais de produção. Inicialmente o gene *cfr* foi associado à resistência aos fenicóis (Schwarz, Werckenthin & Kehrenberg, 2000), o que gerou sua denominação. Entretanto, a metiltransferase *cfr* promove a metilação do nucleotídeo A2503 no gene RNAr 23S, conferindo resistência a cinco importantes classes de antimicrobianos (fenicóis, lincosamidas, pleuromutilinas, estreptogramina A e oxazolidinonas) e, ainda, redução de sensibilidade aos macrolídeos com anel lactônico de 16 membros (Long et al., 2006). Ou seja, uma ampla variedade de antimicrobianos utilizados tanto na medicina humana como na veterinária pode selecionar esse gene codificador de múltipla resistência.

Geralmente o gene *cfr* é encontrado em plasmídeos, embora casos de sua ocorrência no cromossomo bacteriano já tenham sido relatados (Toh et al., 2007). A ocorrência do gene *cfr*, desde seu primeiro relato em um isolado de *Staphylococcus sciuri* de origem bovina na Alemanha em 2000 (Schwarz, Werckenthin & Kehrenberg, 2000), parecia estar restrita a linhagens de *Staphylococcus* spp. provenientes de animais (Shen, Wang & Schwarz, 2000). No entanto, a identificação de uma cepa clínica MRSA *cfr*-positiva isolada de um paciente internado em um hospital na Colômbia em 2007 (Toh et al., 2007), mostrou quase uma década depois que o curso do gene não estava limitado a isolados provenientes de hospedeiros animais. Desde então, um número significativo de linhagens de *Staphylococcus* de origem humana portadoras de *cfr* começou a ser relatado (Mendes et al., 2010; Mendes et al., 2012; Diaz et al., 2012). Hoje, o curso do gene *cfr* se estende a outros gêneros como *Bacillus*, *Micrococcus*, *Jeotgalicoccus*, *Proteus* e *Escherichia*, sendo nesses casos todos os isolados de origem suína

(Shen, Wang & Schwarz, 2013). Em *Enterococcus* spp., relatos da presença de *cfr* datam de 2009 e são, ainda, escassos, e quase todos de isolados de origem animal na China (Shen, Wang & Schwarz, 2000).

Proteínas pertencentes à família ABC-F são compostas por um único polipeptídeo que contém dois domínios ABC conectados por cerca de aproximadamente 80 aminoácidos. A subfamília ABC-F está presente tanto em eucariotos como em bactérias, e vem sendo associada a vários processos biológicos, como reparo de DNA, controle da tradução, além da resistência a antibióticos por meio da síntese de proteínas bacterianas. Tais proteínas são comuns em bactérias Gram-positivas. O grupo ABC-F confere resistência às classes de antimicrobianos que têm como alvo a subunidade maior (50S) do ribossomo bacteriano, entre eles: cetolídeos, lincosamidas, macrolídeos, oxazolidinonas, fenicóis, pleuromutilinas e estreptograminas dos grupos A e B (Sharkey & O'Neill, 2018).

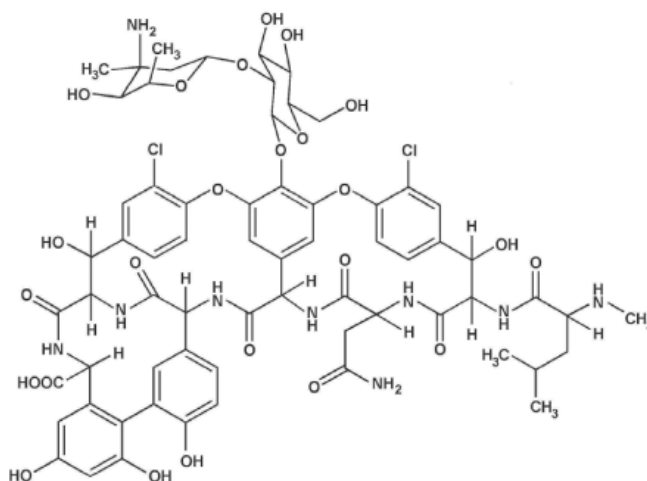
Durante algumas décadas discutiu-se a forma de atuação das proteínas da família ARE ABC-F. Supostamente tais proteínas conferiam resistência aos antimicrobianos por meio do mecanismo de efluxo, caracterizado por exportar os antibióticos para fora da célula. No entanto, surgiram evidências de que as proteínas ABC-F causam resistência por meio de um mecanismo de proteção ribossômica. Sua atuação consiste na proteção do alvo, um mecanismo em que uma proteína de resistência se associa fisicamente com o alvo do antibiótico, ou seja, se liga ao ribossomo bacteriano para efetuar a liberação de antibióticos direcionados ao seus respectivos alvos (Sharkey & O'Neill, 2018). Sendo assim, os genes *optrA* e *poxA* codificam proteínas da família ARE ABC-F, conferindo, portanto, resistência por meio de proteção ribossômica e não por mecanismo de efluxo. O gene *optrA* confere resistência às oxazolidinonas, inclusive as de segunda geração (tedizolida) e aos fenicóis, enquanto *poxA* confere resistência não só às oxazolidinonas e fenicóis, mas também às tetraciclina. Em 2019 foi relatado pela primeira vez a coexistência dos genes *poxA* e *optrA* em um isolado bacteriano (Hao, W., 2019)

4.6 VANCOMICINA

A vancomicina e a teicoplanina são antibióticos da classe dos glicopeptídeos, classe que exibe espectro de ação limitado, amplamente utilizada frente a cocos Gram-positivos. A vancomicina foi isolada pelo grupo Eli Lilly pela primeira vez em 1956 e seu nome originou-se da expressão inglesa “*to vanquish*” relacionando-se com aniquilar ou destruir (Silveira et al., 2006). O mecanismo de ação consiste na inibição da síntese da parede celular bacteriana, por meio da ligação terminal com as unidades precursoras da parede celular, D-alanil-D-alanila.

A vancomicina originou-se de um actinomiceto (bactéria filamentosa ramificada, *Amycolatopsis orientalis*), e consiste em um glicopeptídeo tricíclico (figura 9) modificado, sendo utilizado como alternativa em casos que não é possível a utilização de penicilina e β -lactâmicos no tratamento de infecções causadas por cocos Gram positivos (Moellering Jr, 1992). A sua produção começou no fim da década de 50 principalmente para o tratamento de infecções causadas por estafilococos, porém, só foi amplamente implantada no final da década de 70 por conta de cepas MRSA. De acordo com Acosta (2011), a vancomicina está disponível nas apresentações de cápsula e intravenosa. A cápsula é geralmente utilizada para o tratamento de algumas colites, já que a sua forma oral é mal absorvida pelo aparelho gastrointestinal. A apresentação intravenosa (ausente de etapa de absorção), na forma de pó estéril para solução, é indicada para o tratamento de infecções sistêmicas.

Figura 9 – Estrutura química da Vancomicina



Fonte: extraído de Vila et al. (2007).

4.6.1 FARMACOCINÉTICA DA VANCOMICINA

Absorção: O fármaco, na administração oral, é pouco absorvido. Na via parenteral, a vancomicina deve ser administrada como terapia intravenosa, porém, nunca por terapia intramuscular (Macdougall & Chambers, 2012).

Distribuição: A vancomicina nos adultos é administrada em dose única de 1g, em uma infusão de 1-2 h e produz concentrações plasmáticas de 15-30 $\mu\text{g/mL}$ uma hora após o término da administração. O fármaco se encontra distribuído em vários líquidos do corpo, como líquido cefalorraquidiano (LCS) em caso de inflamação das meninges. A vancomicina liga-se em torno de 30% às proteínas plasmáticas (Macdougall & Chambers, 2012).

Eliminação: Após uma dose injetada de vancomicina, cerca de 90% é excretada através de filtração glomerular, possuindo uma meia vida de eliminação sérica de aproximadamente 6 h. Em caso de comprometimento renal do paciente o fármaco pode acumular no local, necessitando um ajuste na dose. Com o método de hemodiálise de alto fluxo, o fármaco pode ser depurado do plasma com rapidez (Macdougall & Chambers, 2012).

O aumento do uso da vancomicina para o tratamento de infecções por MRSA pode estar diretamente relacionado aos surtos de VRE (Harbath et al. 2002). Segundo Uttley (1989), 35 anos após a utilização da vancomicina, houve relato do isolamento de cepas VRE na Inglaterra, em 1986.

4.6.2 MECANISMO DE AÇÃO

A vancomicina age impedindo a síntese da parede celular bacteriana pela complexação com o resíduo dipeptídico terminal D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala). A complexação impede que o substrato esteja disponível para a ação da transpeptidase. Os glicopeptídeos, em geral, atuam com efeito bactericida nos cocos e bacilos Gram-positivos. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a síntese da parede celular durante sua multiplicação, resultando em lise osmótica. Para exercer seu poder inibitório, a vancomicina age como antagonista competitivo da polimerização da cadeia peptidoglicana, responsável pela constituição da parede celular microbiana (Tavares, 2014).

4.6.3 USO CLÍNICO

Faz-se o uso da vancomicina em quadros de pacientes com infecções graves causadas por estafilococos, em pacientes com hipersensibilidade às penicilinas e cefalosporinas, ou ainda, em pacientes com infecções causadas por estafilococos resistentes à oxacilina e à meticilina. É de vasta utilização em quadros de osteomielites, sepses, pneumonias, celulites, abscessos, endocardites e meningoencefalites.

4.7 ENTEROCOCOS: CARACTERÍSTICAS GERAIS E A BASE MOLECULAR DA RESISTÊNCIA À VANCOMICINA

Enterococos são bactérias que habitam o trato intestinal de seres humanos e de várias espécies animais. São considerados prováveis membros da microbiota intestinal do último antepassado comum de mamíferos, répteis, pássaros e insetos no período Devoniano (Gilmore, Lebreton & Van Schaik, 2013) e encontram-se hoje amplamente distribuídos no ambiente bem adaptados a diferentes hospedeiros. São bactérias Gram-positivas não formadoras de esporos

classificadas inicialmente como pertencentes ao gênero *Streptococcus*. O gênero *Enterococcus* foi oficialmente reconhecido apenas em 1984, com base em divergências na sequência do gene RNAr 16S em relação às espécies estreptocócicas. Enterococos são bactérias auxotróficas para muitos aminoácidos, vitaminas e micronutrientes, porém são capazes de sobreviver e crescer em uma ampla gama de temperaturas e pH (potencial hidrogeniônico), e, também, em condições hipertônicas e hipotônicas. Podem ainda sobreviver em sedimentos, solos, na superfície de vegetações aquática e terrestre, e em águas doce e marinha (Byappanahalli et al., 2012; Sinton et al., 2002). São bactérias particularmente bem posicionadas em ecossistemas microbianos complexos, em contato íntimo com uma grande diversidade de fontes de material genético (Gill et al., 2006), o que favorece sua reconhecida promiscuidade genética. As espécies de *Enterococcus* são classificadas morfológicamente como cocos Gram-positivos não esporulados, dispostos principalmente em cadeias curtas, geralmente diplococos, ou isolados. As principais espécies do gênero são *E. faecalis* e *E. faecium* por gerar colonização e infecções em humanos (Souza, Ribeiro & Primo, 2012). Durante muito tempo, espécies de *Enterococcus* eram consideradas bactérias sem importância clínica, pois são colonizantes naturais do trato gastrointestinal nos seres humanos e animais e apresentam reduzida virulência em comparação com outros microrganismos Gram-positivos (Fisher & Phillips, 2009). Porém, nos últimos anos algumas espécies enterocócicas têm emergido como patógenos hospitalares de relevância clínica e epidemiológica, devido ao uso generalizado de antimicrobianos de amplo espectro e dispositivos invasivos, como cateter (Yameen et al., 2013). As infecções por *Enterococcus* podem se desenvolver por um mecanismo de transmissão endógeno, que ocorre através da ação de isolados da própria microbiota normal do paciente, ou por um mecanismo exógeno através da troca de microrganismos de paciente/paciente ou profissional/paciente, e, ainda, pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados. Desta forma, alguns fatores relacionados com o microrganismo e do hospedeiro são importantes para que *Enterococcus* colonizantes da microbiota humana possam desempenhar um papel como patógeno potencial associado às IRAS.

Além de sua relevância clínica e sua crescente prevalência, as espécies do gênero *Enterococcus* têm mostrado mecanismos importantes que conferem resistência aos antibióticos. Desta forma, são observados isolados intrinsecamente resistentes a uma grande quantidade de antibióticos, além de mecanismos adquiridos por processos de mutações e/ou aquisição de genes por conjugação utilizando plasmídeos (Arrias & Murray, 2013; Nachtigall et al., 2013). Esses mecanismos de resistência aos antibióticos levam à diminuição de sensibilidade aos aminoglicosídeos, penicilina, ampicilina e vancomicina e dificultam a escolha de uma opção

terapêutica mais eficaz para as infecções enterocócicas (Bender, Freitas & Barth, 2010). Outro aspecto importante relacionado aos mecanismos de resistências aos antimicrobianos, principalmente à vancomicina, adquiridos pelos enterococos, é a capacidade de transferência de genes resistentes para outras bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*, um patógeno bem mais prevalente e patogênico (Oliveira et al., 2006).

A ampla distribuição na natureza de espécies do gênero *Enterococcus* favoreceu, provavelmente por centenas de milhões de anos, a aquisição horizontal de determinantes de resistência a antimicrobianos ao longo de sua história evolutiva, com algumas formas de resistência se tornando intrínsecas em certas espécies. Os genes que conferem resistência aos aminoglicosídeos e ao glicopeptídeo vancomicina em enterococos, para citar um breve exemplo, estão associados a operons de resistência presentes em organismos produtores de antibióticos do solo. A relação entre antibióticos e o desenvolvimento de resistência como mecanismo de defesa é algo que já ocorre na natureza muito antes do homem começar a produzir esses fármacos. Substâncias com propriedades antibióticas são produzidas naturalmente por certos microrganismos, enquanto outros precisam se adaptar a essas substâncias em seus processos evolutivos. No entanto, a produção e liberação de centenas de milhões de toneladas de antibióticos no ambiente ao longo das últimas décadas, além do uso muitas vezes desnecessário ou inadequado desses fármacos, pode estar alterando o contexto genético de linhagens de bactérias comensais como os enterococos.

Como se sabe, o glicopeptídeo avoparcina foi amplamente utilizado como promotor de crescimento animal em vários países da Europa e na Austrália (Acar et al., 2000; Wegener, 1998) antes e durante o surgimento de cepas VRE em ambientes hospitalares. Sabe-se também que os genes de resistência a esse glicopeptídeo ocorrem em elementos genéticos móveis (Leclercq et al., 1988). O operon *VanA* que conhecemos hoje, prevalente ao lado de *VanB* em isolados hospitalares de *E. faecalis* e *E. faecium* em diferentes países, existe há pelo menos 30.000 anos (Davies, 1990). Outros operons geneticamente relacionados contendo genes de resistência à vancomicina também são observados nos genomas de *Enterococcus gallinarum* e *Enterococcus casseliflavus* (Palmer et al., 2012) indicando que tanto linhagens patogênicas em ambientes hospitalares como linhagens comensais de diferentes espécies animais tiveram razões para manter elementos de resistência à vancomicina ao longo de sua história evolutiva (Van Tyne & Gilmore, 2014). Após os primeiros casos de infecção por VRE relatados na Inglaterra (Uttley et al., 1988) e na França (Leclercq et al., 1988), constatou-se que as linhagens VRE isoladas da microbiota comensal dos europeus e de seus animais de produção (Devriese et al., 1996; Bates, 1997) eram similares, porém diferentes das linhagens de animais de

produção isoladas nos Estados Unidos (Coque et al., 1996; Thal et al., 1995) onde não houve o uso da avoparcina. Com a proibição, na Europa, da utilização desse glicopeptídeo na agricultura, houve reduções significativas na ocorrência de VRE associados a animais de produção em países europeus (Bager et al., 1999; Kempf et al., 2008) sugerindo a associação entre o uso da avoparcina e o fenótipo de resistência (Van Tyne & Gilmore, 2014). Por outro lado, apesar do isolamento geográfico, o problema da resistência à vancomicina por razões ainda não muito bem esclarecidas se deslocou para linhagens de enterococos que circulavam em hospitais nos Estados Unidos (Martone, 1998) e outros países (Bell et al., 1998; Kim & Song, 1998; McCracken et al., 2013.) e, devido à pressão seletiva constante dos glicopeptídeos nesses ambientes, linhagens VRE constituem até hoje um dos maiores problemas epidemiológicos e de resistência a antimicrobianos. A ocorrência de VRE também é motivo de preocupação e monitoramento no âmbito da veterinária, uma vez que o fenótipo *VanA* já foi documentado em animais de corte, carne e produtos derivados de carne (Robredo et al., 2000; Jung et al., 2007; Harada et al., 2012)

No Brasil, o primeiro relato de VRE (Costa et al., 1998) ocorreu cerca de uma década mais tarde em relação aos países onde esse problema emergiu originalmente. Entretanto, a ocorrência de VRE aumentou de 4,4% em 2003 para 12,2% em 2008 (Gales et al., 2009) e, em 2011, o número de relatos de VRE no Brasil foi o maior entre os países da América Latina, correspondendo a 27% (Jones et al., 2011). Recentemente, linhagens de *E. faecium vanA*-positivas foram identificadas em amostras de água superficial dos rios Tietê e Pinheiros no estado de São Paulo. Essas linhagens apresentaram alguns dos perfis epidemiológicos (STs, *Sequence Types*) de linhagens que circulam em ambientes hospitalares (Sacramento et al., 2016). A vancomicina interfere na síntese da parede celular bacteriana por inibir a liberação das unidades de formação do peptidoglicano (um dissacarídeo associado a um peptídeo) da molécula lipídica transportadora, o que impede a adição dessas unidades à extremidade do peptidoglicano em crescimento (Courvalin, 2006).

Os fenótipos de resistência VanA e VanB são os mais comuns em *Enterococcus spp.* VanA é caracterizado por altos níveis de resistência à vancomicina e à teicoplanina, enquanto VanB é caracterizado por diferentes níveis de resistência à vancomicina e sensibilidade à teicoplanina. VanA e VanB, fenótipos decorrentes da expressão, respectivamente, dos genes *vanA* e *vanB*, são de extrema relevância na clínica humana e, geralmente, estão associados a cepas de *E. faecalis* e *E. faecium*, enquanto o fenótipo VanC é intrínseco em *E. gallinarum* (*vanC1*) e *E. casseliflavus* (*vanC2*). Já os fenótipos codificados pelos genes *vanD*, *vanE* e *vanG* são identificados com menor frequência. O operon *vanA* é geralmente associado ao transposon

Tn1546 e é constituído por cinco genes envolvidos com a resistência aos glicopeptídeos (*vanHAXYZ*) e dois genes reguladores (*vanRS*). O gene *vanA* codifica uma ligase que catalisa a formação de D-Ala-D-Lac. Entretanto, é necessária a atuação prévia da desidrogenase codificada por *vanH*, que reduz o piruvato presente no meio à D-Lac. Enquanto isso, o gene *vanX*, que codifica uma D, D-dipeptidase capaz de hidrolisar o dipeptídeo D-Ala-D-Ala formado pela ligase natural (Ddl), se encarrega de eliminar os precursores “sensíveis” à vancomicina. Essa ação é reforçada pelo produto do gene *vanY*, uma D,D-carboxipeptidase, que elimina os terminais D-Ala que ainda restaram nos precursores. A variabilidade genética do Tn1546 é alta, o que pode resultar em diferentes formas de transmissão e na própria expressão do fenótipo VanA em cepas resistentes de origem humana, de animais e ambientais. O grupo dos diferentes fenótipos Van aumenta conforme novas incorporações específicas de D-Ala-D-Ser aos precursors do peptidoglicano são identificados (VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM e VanN) (Courvalin, 2006).

Algumas características do metabolismo são importantes para a diferenciação das espécies do gênero *Enterococcus*, embora não seja possível sua identificação somente pela caracterização fenotípica. Geralmente são realizados testes que verificam a produção da enzima catalase (negativo para as espécies de enterococos), crescimento em caldo de NaCl 6,5%, hidrólise da esculina e PYR (esses últimos positivos para as espécies do gênero). A capacidade hemolítica das cepas de enterococos é verificada em ágar contendo 5% de sangue, onde ocorre um padrão de β -hemólise neste substrato. Apesar de *E. faecium* e *E. faecalis* suportarem uma temperatura de 60° C por até 30 minutos, seu crescimento geralmente ocorre em uma variação de 10 a 45° C, sendo que a temperatura ótima de crescimento é 35° C (Fisher & Phillips, 2009; Yameen et al., 2013). Métodos automatizados são usualmente utilizados de acordo com a rotina laboratorial, sendo que possuem como vantagem com relação aos métodos manuais uma rapidez na liberação da identificação e do teste de sensibilidade aos antimicrobianos.

A aquisição de mecanismos de resistência aos antibióticos, a facilidade de adaptação ao ambiente para que ocorra a disseminação hospitalar, aliados com a presença de genes que codificam proteínas de adesão são mecanismos determinantes para o estabelecimento do microrganismo no ambiente hospitalar. Além disso, existem fatores intrínsecos que levam ao aumento da sua patogenicidade, como a presença de hemolisinas, bacteriocinas, proteases e aglutininas (Pérez, Martínez & Zhurbenko, 2010). Entre as condições do hospedeiro que favorecem a ação patogênica das espécies de *Enterococcus*, a imunossupressão em decorrência da ação mecânica pelo uso cateter e antibioticoterapia de amplo espectro favorece o desenvolvimento do processo infeccioso por estes agentes (Arias & Murray, 2013).

4.8 ANÁLISE FILOGENÉTICA BASEADA EM MLST DAS CEPAS LVRE IDENTIFICADAS NO BRASIL

4.8.1 MLST

Jolley et al (2004) definem MLST como um método de tipagem, baseado em sequenciamento, que ajuda na diferenciação de isolados microbianos por meio da comparação de sequências de fragmentos de genes altamente conservados (*housekeepings*) em uma determinada espécie. O *software* oferece um grande número de formas de consultar os bancos de dados e também proporciona decompor e exportar os resultados gerados. A técnica depende da amplificação e sequenciamento de fragmentos internos de vários genes *housekeepings* que estão presentes em diferentes locais em um cromossomo, ou dos dados de sequenciamento de genomas completos. A técnica de MLST tem como base o algoritmo *e-Burst*, uma ferramenta amplamente utilizada para estudar o parentesco de isolados e para gerar hipóteses sobre padrões de descendência evolutiva recente em bactérias. É usado para explorar e fornecer evidências das relações filogenéticas entre linhagens de relevância clínica, humana ou veterinária (Feil et al., 2004; Gilmore et al., 2014). MLST envolve, portanto, a obtenção de sequências de fragmentos internos de 5 a 7 genes *housekeepings* para cada espécie de um gênero específico. A combinação dos números desses genes, denominados como alelos, define o perfil alélico da cepa, e cada perfil alélico diferente é definido como um ST, o perfil epidemiológico de uma cepa. MLST é amplamente utilizada para epidemiologia molecular, pois permite que cepas estudadas por diferentes grupos, isoladas de diferentes hospedeiros e em diferentes localizações geográficas, sejam comparadas e relacionadas (Aanensen et al., 2005).

4.8.2 BREVE HISTÓRICO DA OCORRÊNCIA DE CEPAS VRE NO BRASIL

Os enterococos, comparativamente aos estafilococos, estreptococos e pneumococos, têm se tornado um desafio para os hospitais ao longo das últimas décadas. Infecções com considerável morbidade e mortalidade causadas por VRE são descritas em pacientes imunocomprometidos e pacientes de terapia intensiva (Freitas et al. 2006, Arias & Murray 2012). O surgimento de VRE em isolados clínicos iniciou-se em 1986, contudo, no Brasil, o primeiro VRE identificado foi o *E. faecium*, isolado em hemocultura de uma criança com anemia aplástica, na cidade de Curitiba, em 1996. A paciente tinha várias internações anteriores e uso prévio de antibióticos, evoluindo a óbito no 60º dia de internação (Dalla Costa et al. 1998). Neste primeiro *E. faecium* resistente à vancomicina descrito no Brasil foi identificado o fenótipo VanD-like, posteriormente classificado como VanD4 (Dalla Costa et al. 2000, Rossi 2011). Posteriormente, Zanella et al. (1999) descreveu um caso de *E. Faecium* com o fenótipo

VanA, isolado de um paciente com meningite em São Paulo, Brasil. Sendo este, o primeiro relato no estado. Desde o primeiro isolado no Brasil, as cepas VRE têm se tornado preocupação frequente devido ao potencial das mesmas de disseminação, observado pelo aumento nos casos descritos mesmo com o aumento do conhecimento e adoção de medidas preventivas. Os estudos descrevem o aparecimento de VRE no Brasil ao fim da década de 90 e observa-se um aumento de relatos de propagação de cepas intra e inter hospitalares nos últimos anos que demanda atenção.

Em 2001, Reis e seus colaboradores relataram a presença de *E. faecium* e *E. faecalis* sensíveis à linezolida e resistentes à vancomicina, além de, teicoplanina e a associação de quinupristina-dalfopristina, com resultados de tipagem molecular sugestivos de disseminação inter hospitalar no Brasil, as cepas foram isoladas de pacientes do Hospital São Paulo, Hospital Oswaldo Cruz, Hospital do Servidor Público Estadual, Hospital Santa Marcelina, Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e Hospital de Clínicas do Paraná e os autores concluíram que a linezolida apresentou 100% de inibição nos pontos de quebra susceptíveis.

Já em 2007, Silva & Monteiro apresentaram o relato de caso de um paciente pediátrico (20 meses) com diagnóstico de hidrocefalia com derivação ventriculoperitoneal e história de longa internação e uso de antibióticos de amplo espectro, admitido na unidade de terapia intensiva pediátrica com diagnóstico de ventriculite. O paciente foi submetido a antibioticoterapia empírica com vancomicina e meropenem, a cultura do LCR evidenciou *E. faecium* resistente à vancomicina, tendo a esterilização do líquido cefalorraquidiano após o uso de linezolida intravenosa.

Jones et al. (2007) obtiveram 4.216 isolados Gram-positivos de 16 nações e os submeteram à análise de 6 grupos de organismos, incluindo *S. aureus* (54,0%), estafilococos coagulase-negativos (CoNS) (14,6%), enterococos (10,0%), *S. pneumoniae* (9,4%), estreptococos do grupo viridans (5,0%) e estreptococos beta-hemolíticos (7,0%). Linezolida reteve atividade potente contra *S. aureus*, casos raros de resistência à linezolida foram detectados em enterococos (2 isolados, China e Alemanha) e 1 *E. faecium* tinham mutações G2576T documentadas. No geral, a linezolida permaneceu ativa contra 99,88% das cepas testadas desta coleção global, apesar da endemicidade de enterococos resistentes à vancomicina (até 30,0%) em vários países.

Apesar do aumento significativo da resistência à vancomicina entre enterococos durante o período de estudo, ao analisarem a eficácia do tratamento em centros médicos, Gales e seus colaboradores (2009) constataram que a daptomicina e linezolida apresentaram excelente atividade *in vitro* contra organismos Gram-positivos contemporâneos coletados em hospitais

brasileiros, incluindo MRSA, VRE e outros organismos multirresistentes. Embora as taxas de resistência à vancomicina no Brasil estivessem relativamente baixas em comparação com as relatadas no mesmo período nos U.S., VRE surgiu e se disseminou rapidamente em alguns centros médicos brasileiros.

Em 2008 foram amostrados 6 diferentes grupos de patógenos em 24 países, e microrganismos linezolidina resistentes foram raramente documentados, apenas 0,13% no geral, sendo mais frequentes enterococos e SCoN. A atividade de linezolidina permaneceu uniforme e estável em todas as regiões geográficas amostradas nesse estudo (Jones et al., 2009).

Kobayashi et al. (2011) apresentaram uma investigação retrospectiva de dados de suscetibilidade *in vitro* quantitativa para uma variedade de antimicrobianos frente aos isolados de *Enterococcus* spp. e a avaliação da associação de resistência entre os agentes antimicrobianos apontados como escolha para o tratamento de infecções causadas por VRE, através do cálculo do risco relativo. Dos 156 isolados de enterococos, associação de resistência elevada foi mais pronunciada entre os isolados de VREs com antimicrobianos alternativos e primários para o tratamento de infecções causadas por estes patógenos, incluindo ampicilina (100%, RR = 7,2), estreptomicina (90,9%, RR = 4,9), rifampicina (91,7%, RR = 3,1) e linezolidina (50%, RR = 11,5), apesar da alta taxa de suscetibilidade a esta droga (94,9%).

Rosa et al., (2014) relataram isolados de *E. faecium* resistentes à vancomicina que apresentaram sensibilidade aos antibióticos linezolidina, daptomicina e quinupristina-dalfopristina; e a linezolidina foi o único agente antimicrobiano com atividade *in vitro* administrada à coorte (causa p/efeito).

Lisboa e seus colaboradores (2015) realizaram um estudo retrospectivo sobre o impacto do uso empírico de linezolidina na mortalidade em pacientes com hematologia colonizada por *Enterococcus* spp. (VRE) resistentes à vancomicina e transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). Ao avaliarem a relação da mortalidade hospitalar de pacientes hematológicos diagnosticados com infecções da corrente sanguínea por VRE, com usuários empíricos de linezolidina e não-linezolidina, constataram que não havia diferença significativa na análise de sobrevivência de Kaplan-Meier entre os pacientes.

4.8.3 CEPAS VRE COM RESISTÊNCIA SIMULTÂNEA À LINEZOLIDINA (LVRE) NO BRASIL

Foram realizadas buscas ativas na plataforma de pesquisa pubmed.com a fim de encontrar relatos de resistência simultânea à vancomicina e linezolidina em enterococos no Brasil. Devido aos resultados escassos, a pesquisa foi ampliada utilizando a plataforma

google.com com resultados que corroboram com a pesquisa inicial. Os relatos de resistência simultânea foram descritos a partir do ano de 2014 no Brasil, apesar da emergência de VRE precedentemente. Observou-se que a utilização da palavra-chave “*Linezolid*” direcionou os resultados para trabalhos que relataram a presença de VRE e que realizaram testes *in vitro* ou *in vivo* com o antibiótico, sendo assim, em concordância com o intuito da pesquisa.

Com a utilização de termos como (*Linezolid*, *Resistance*, *Vancomycin*, *Enterococcus* e *Enterococci*) foram encontrados 9 (100%) trabalhos com cepas VRE que utilizaram antibioticoterapia com linezolida, onde, apenas 2 (22,22%) não apresentaram eficácia no tratamento, sendo considerados dois isolados de LVRE encontrados em 2014 e 2016.

Ao analisarem uroculturas e hemoculturas durante o período compreendido entre agosto de 2009 a dezembro de 2011, obtidas de pacientes gravemente enfermos, internos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) e em tratamento com linezolida em um hospital brasileiro, Almeida et al. (2014) obtiveram cinco cepas de *E. faecalis* e uma cepa de *E. faecium* apresentando CIMs de (256 mg/L) e (8 a 64 mg/L) à vancomicina e linezolida respectivamente. Foram explanados os esquemas de tratamento adotados em cada paciente, onde o paciente 1 apresentou uma cepa de *E. faecalis* isolada de uma hemocultura e após 10 dias iniciou-se o tratamento com linezolida, esse regime foi alterado para ampicilina seguido do óbito após 5 dias. Os dados do paciente 2 não foram acessados. O paciente 3 recebeu linezolida por um período de 27 dias. Duas cepas de *E. faecalis* que eram indistinguíveis por eletroforese em gel de campo pulsado (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*, PFGE) foram isolados de duas hemoculturas deste paciente. A primeira cepa (37/245), resistente à linezolida, foi isolada no 27º dia do curso total de tratamento com esta droga, e a outra (38/443), com resistência intermediária ao linezolida, no dia 53. O paciente 4 recebeu linezolida por 30 dias. Oito dias após o final do tratamento, duas cepas de espécies diferentes em locais diferentes, uma cepa de *E. faecalis* de uma cultura de urina (40 /1258) e uma cepa de *S. hominis* de uma cultura de sangue, foram obtidos. O paciente 6 recebeu linezolida por um total de 32 dias de tratamento. A cepa de *E. faecium* 42/448 foi isolada 9 dias após o final do tratamento. O gene *vanA* foi identificado em todos os isolados. A mutação G2576T, que confere resistência à linezolida, foi identificada no gene 23S rRNA em todas as cepas resistentes à linezolida, e a digestão incompleta do domínio V com NheI sugeriu a presença de fragmentos com mutante G2576T do tipo selvagem sequências nessas cepas. O gene *cfr* não foi identificado em nenhum isolado. A análise de tipagem por MLST revelou que a resistência à linezolida ocorreu em duas novas sequências tipo (STs) de *E. faecalis* (ST525 e ST526) e em ST412 de *E. faecium*. Os autores alertam para a emergência de LRVRE e a destacam como uma questão preocupante.

O segundo relato de cepas LVRE no Brasil descreveu geneticamente um isolado de *E. faecium* resistente à vancomicina obtido da corrente sanguínea e com resistência simultânea à linezolida. O estudo objetivou rastrear a incidência de colonização e infecção por isolados VRE sensíveis à linezolida em uma unidade de transplante de medula óssea por um período de 10 anos. As técnicas utilizadas foram PCR para a determinação dos genes *vanA* e *vanB*, eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) e teste de sensibilidade antimicrobiana (vancomicina, teicoplanina, linezolida e aminoglicosídeos). Três isolados, incluindo o LVRE, foram selecionados para sequenciamento do genoma inteiro por Ion Torrent TM, com *E. faecium* CP006620-Aus0085 usado como referência. Oitenta e sete VRE sensíveis à linezolida foram analisados; todos foram *vanA* positivos e sensíveis à linezolida, exceto por um isolado de sangue de um paciente febril neutropênico colonizado por VRE sensível à linezolida que recebeu linezolida por 12 dias e desenvolveu uma infecção na corrente sanguínea por VRE resistente à linezolida com (CIM \geq 8 μ g/mL). A resistência à linezolida foi associada à mutação G2576T no gene 23S RNAr. A análise por PFGE demonstrou que os 87 isolados pertenciam a quatro grupos principais. No entanto, o isolado LVRE apresentou similaridade de apenas 50%. Três tipos de STs foram identificados: ST412 (o clone predominante, que era mais virulento em comparação com os outros isolados); ST478 (VRE sensível à linezolida); e um novo ST, ST987 (VRLRE), que apresentou a mutação G2576T.

4.8.4 EPIDEMIOLOGIA BASEADA EM MLST DAS CEPAS LVRE IDENTIFICADAS NO BRASIL

Dos trabalhos publicados no Brasil que reportam isolados de *Enterococcus* com resistência à vancomicina e linezolida simultaneamente, disponíveis na plataforma <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>, foram extraídos os STs encontrados em circulação no país e listados na tabela abaixo (tabela 1).

Tabela 1- Relação entre espécies e STs LVRE encontrados no Brasil

Espécie	ST	Referência
<i>E. faecalis</i>	ST525	Almeida et al., 2014
<i>E. faecalis</i>	ST526	Almeida et al., 2014
<i>E. faecium</i>	ST412	Almeida et al., 2014; Prado et al., 2015
<i>E. faecium</i>	ST987	Prado et al., 2015

Fonte: Autor, 2021

Após um levantamento dos dados disponíveis sobre os STs das cepas LVRE foi possível estabelecer as relações evolutivas entre essas linhagens e investigar a estrutura populacional dos CCs onde esse fenótipo está emergindo. Para determinar com precisão a relação genética de isolados de patógenos bacterianos foi necessário acessar o site <https://pubmlst.org/>.

As relações entre os isolados de espécies bacterianas foram exibidas com um algoritmo de agrupamento, *eBurst*, que identifica genótipos intimamente relacionados mostrando os padrões de descendência evolutiva dentro dos grupos, ou CCs (FEIL et al., 2004). Foram gerados diagramas para o ST525 de *E. faecalis*, e para os ST412 e ST987 de *E. faecium*; para o ST526 de *E. faecalis* *eBurst* não retornou resultado.

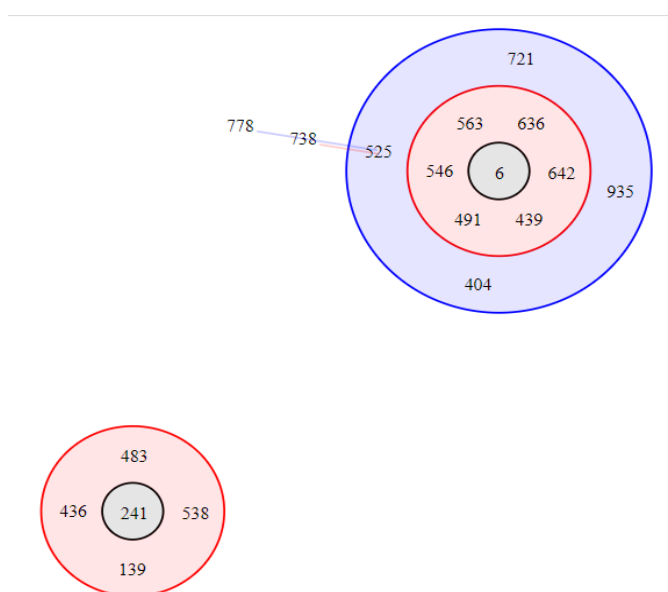
ST525 (*E. faecalis*)

O ST525 foi documentado apenas no Brasil, a princípio na região sudeste do país, onde relatou-se pela primeira vez a nova sequência de *E. faecalis* ST525 oriunda de urocultura e hemocultura em pacientes hospitalizados (Almeida et al., 2014). Posteriormente, o ST525 foi relatado em um estudo realizado com pacientes hospitalizados na cidade de Natal (nordeste do Brasil) no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016. Foram recuperados 55 isolados de VRE obtidos de esfregaços perianais de 44 pacientes internados em 5 hospitais de Natal (públicos e privados) e de 3 pacientes ambulatoriais recebendo cuidados de enfermagem domiciliar. A maioria dos pacientes apresentou hospitalização prévia e todos os isolados VRE possuíram o gene *vanA* (CIM de vancomicina: 16 - >256 mg/L). Um paciente foi colonizado

por clones ST525 coletados com intervalo de 14 meses, e as replicases dos plasmídeos contendo *vanA* dos 18 *E. faecalis* foram idênticas (rep 9 de plasmídeos pTEF2/pAD1 responsivos a feromonas). Esse tipo de plasmídeo é reconhecido por se transferir de forma altamente eficiente, o que poderia ter aumentado a propagação da resistência à vancomicina por transferência horizontal de genes (Oliveira et al., 2020). Vale salientar que o ST525 não foi descrito até o momento fora do Brasil e que relatos de sua existência, ainda que escassos, em regiões distintas do país sugerem a dispersão de cepas relevantes dessa linhagem.

O diagrama gerado por eBurst para o ST525 demonstra que até o presente momento existem poucos registros de *Single Locus Variants* (SLV) e *Double Locus Variants* (DLV) dessa linhagem (figura 10).

Figura 10- Complexo clonal (CC) do ST525 gerado por E-burst. O círculo em azul representa os DLVs, enquanto o círculo em rosa representa os SLVs. O círculo central cinza mostra o provável ancestral comum desse CC.



Fonte: Extraído de <https://pubmlst.org/organisms/enterococcus-faecalis/>

ST412 (*E. faecium*)

O ST412 de *E. faecium* possui maior frequência em relatos de diferentes países. Alves et al. (2017) identificaram em Vitória-ES, durante 2012-2013, *E. faecium* resistentes à vancomicina obtidos de pacientes em 13 hospitais do município. Todos os isolados continham o gene *vanA* e pertenciam ao ST412, um clone de alto risco, adaptado a ambientes hospitalares.

Palazzo et al. (2011) coletaram cepas de *E. faecium* resistentes à vancomicina responsáveis por um surto e casos esporádicos em hospitais de Campinas-Brasil, comparando-

as com outras cepas de VRE do país. Vinte e dois de 23 *E. faecium* eram resistentes à vancomicina e abrigavam o gene *vanA*. Uma cepa de *E. faecium* sensível à vancomicina também foi incluída neste estudo porque foi isolada de um paciente que uma semana depois abrigou um VRE. Tanto a análise por PFGE quanto a tipagem por MLST revelaram que as cepas VRE e VSE apresentavam uma relação clonal. Novos STs foram identificados por MLST nesse estudo, como ST447, ST448, ST478 e ST412, porém todos pertencentes ao CC17, indicando que cepas de VRE pertencentes ao CC17 poderiam ser predominantes no Brasil como ocorre em outros países.

Tavares et al. (2019) relataram a sequência do genoma do isolado *E. faecium* UEL170, produtor de biofilme e multirresistente, ST412, isolado de um paciente hospitalizado com infecção do trato urinário colonizado por VRE interno no Hospital Universitário de Londrina (UHL), um hospital universitário e importante centro de referência no norte do Paraná, Brasil. Esta cepa é membro do CC17, como mencionado acima, um clone globalmente associado a hospitais.

Melo et al. (2016) obtiveram linhagens específicas de *E. faecium* comensal pertencente ao CC17, especialmente ST412 que abrigam genes de resistência a antibióticos e fatores de virulência, isolando-as de pacientes em vários hospitais em todo o mundo. Os autores relataram a sequência do genoma desse isolado e destacaram as características de *E. faecium* VRE16, um representante deste ST encontrado no Brasil.

O ST412, como mencionado no item 4.8.3, foi também identificado no estudo de Prado et al (2015), em isolados de *E. faecium* resistentes à vancomicina obtidos de hemoculturas de pacientes internados no HC-SP. Nesse estudo, o ST412 se mostrou mais virulento em comparação com os outros isolados identificados pertencentes ao ST478 e até mesmo ao ST987 (LVRE).

Silva et al. (2012) descreveram as características genéticas e relações clonais de 53 *E. faecium* resistentes à vancomicina isolados de pacientes em 2 hospitais em Ribeirão Preto, São Paulo/ Brasil, durante 2005-2010. Os genes de virulência predominantes foram *acm* e *esp*. A análise por MLST permitiu a identificação de 9 tipos de STs, sendo 5 novas sequências (ST656, ST657, ST658, ST659 e ST660). No entanto, os STs predominantes foram o ST412 e o ST478.

Ao analisarem 132 isolados clínicos de enterococos obtidos de pacientes com câncer atendidos em um Centro de Referência em Câncer no Brasil entre abril de 2013 e março de 2014, Santos et al. (2017) obtiveram 9 de 10 isolados de *E. faecium* analisados por MLST e concluíram que pertenciam a um único CC, composto principalmente por linhagens ST412.

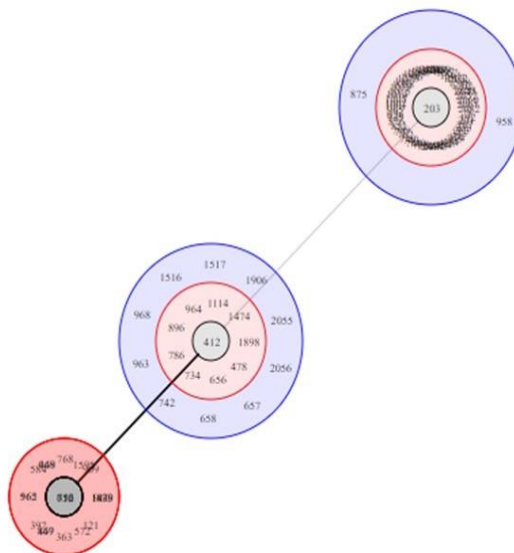
Marchi et al. (2018) caracterizaram isolados de infecção e colonização por VRE, bem como seu impacto no resultado de pacientes em hematologia usando um modelo logístico de regressão e observaram que as cepas de *E. faecium* foram atribuídas a 7 diferentes STs (ST78, ST412, ST478, ST792, ST896, ST987, ST963), todos incluídos no CC17.

Melo, Dabul & Camargo (2015) analisaram isolados obtidos em 2009 durante vigilância em um hospital brasileiro, no qual muitos pacientes foram confirmados como colonizados por VRE. Os 47 isolados de *E. faecium* desse estudo abrigavam um marcador hospitalar, a *IS16*, e três desses isolados escolhidos aleatoriamente pertenceram ao ST412, CC17. Todos apresentaram resistência à penicilina e ampicilina.

Em outro trabalho, Sacramento e seus colaboradores (2017) relataram mudanças na epidemiologia molecular de enterococos contendo *vanA* durante a disseminação intra e inter-hospitalar de clones de alto risco no sudeste do Brasil. Os autores puderam inferir que VRE *faecalis* predominou durante 1998 a 2006, contudo, uma reversão foi observada nos últimos anos, onde linhagens VRE *faecium* pertencentes aos ST114, ST203, ST412, ST478 e ST858 se tornaram endêmicas.

O diagrama para o ST412 gerado por eBurst reflete a existência de múltiplas SLVs e DLVs dessa linhagem circulando pelo mundo (figura 11).

Figure 11- Complexo clonal (CC) do ST412 gerado por E-burst. O círculo em azul representa os DLVs, enquanto o círculo em rosa representa os SLVs. O círculo central cinza mostra o provável ancestral comum desse CC.



Fonte: Extraído de <https://pubmlst.org/organisms/enterococcus-faecium/>

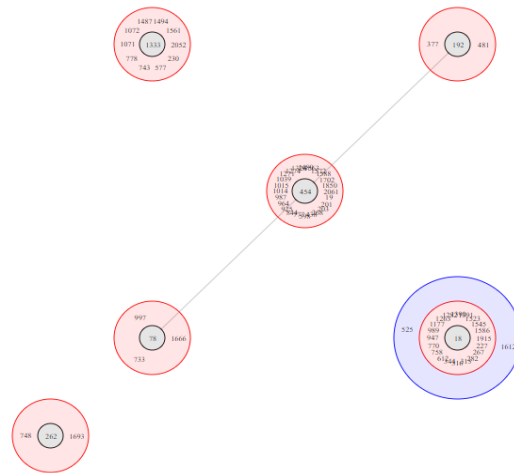
As infecções causadas por VRE costumam causar surtos hospitalares de alta duração e têm se apresentado como uma dificuldade de tratamento para as equipes hospitalares. Observa-se um aumento na incidência de *E. faecium* à medida que se estabelece uma sequência cronológica dos achados. Os desafios estabelecidos por esses isolados podem ser relacionados à expansão e disseminação de cepas do CC17. Isolados de *E. faecium* são mais frequentemente do tipo ST412, que integra o CC17, e com frequência encontram-se em pacientes hospitalizados. Contudo, recentemente, foram isolados *E. faecium* ST412 contendo *vanA* em rios urbanos (Tietê e Pinheiros) da maior e mais populosa região metropolitana do Brasil, São Paulo. Achado esse que reforça a importância do monitoramento e controle desta linhagem que representa uma grande ameaça à saúde pública (Sacramento et al., 2015).

ST987 (*E. faecium*)

O ST987 de *E. faecium* foi identificado em um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo no qual foram analisadas hemoculturas de pacientes hospitalizados na unidade de transplante de medula óssea. O isolado com ST987 tinha o gene *erm* que confere resistência aos macrolídeos e o gene *tet*, associado à resistência à tetraciclina. O novo ST987 está intimamente relacionado ao ST316, diferindo desse por apenas um alelo, e é associado com o ST78 também por uma diferença de alelo. Os ST316 e ST78 foram relacionados anteriormente com surtos em hospitais na China. Os autores descrevem ainda que o ST316 não foi relatado no Brasil, em contrapartida, o ST78 é uma linhagem adaptada no âmbito hospitalar. O novo ST987 foi considerado pan-resistente e abrigava vários genes de resistência, bem como a mutação G2576T, responsável por altos níveis de CIM de linezolida (Prado et al., 2016).

Em outro estudo, Marchi et al. (2018) caracterizaram a virulência e o perfil de resistência de 86 isolados (80 *E. faecium* e 6 *E. faecalis*) de 76 pacientes colonizados e infectados por VRE. Todos os isolados continham o gene *vanA*. Os isolados de infecção VRE foram mais virulentos do que os isolados de colonização e abrigaram mais frequentemente o gene *gelE*. As cepas de *E. faecium* foram atribuídas a sete STs dos quais vale ressaltar o ST412 e o ST987, que coincidem com os STs de interesse do presente trabalho (figura 12).

Figure 12- Complexo clonal (CC) do ST987 gerado por E-burst. O círculo em azul representa os DLVs, enquanto o círculo em rosa representa os SLVs. O círculo central cinza mostra o provável ancestral comum desse CC.



Fonte: Extraído de <https://pubmlst.org/organisms/enterococcus-faecium/>

5. CONCLUSÕES

A relação entre antibióticos e o desenvolvimento de resistência como mecanismo de defesa é algo que já ocorre na natureza muito antes do homem começar a produzir esses fármacos. Substâncias com propriedades antibióticas são produzidas naturalmente por certos microrganismos enquanto outros precisam se adaptar a essas substâncias em seus processos evolutivos. No entanto, a produção e liberação de centenas de milhões de toneladas de antibióticos no ambiente ao longo das últimas décadas, além do uso muitas vezes desnecessário ou inadequado desses fármacos, pode estar alterando o contexto genético de algumas linhagens de bactérias comensais como enterococos, por exemplo. Com o presente trabalho foi possível observar um aumento significativo no surgimento de cepas VRE com o passar dos anos e a redução da efetividade de alguns fármacos, com ênfase no desenvolvimento de resistência à linezolida em cepas VRE. Cepas LVRE comprometem o controle clínico das infecções de forma a afetar diretamente o curso do tratamento, o tempo de internação e a disseminação de IRAS.

Foi possível observar a predominância de espécies de *E. faecium* pertencentes ao CC17 nos achados de publicações brasileiras, porém sem um padrão relacionado aos sítios de infecção. Ressalta-se o aparecimento de linhagens VRE disseminadas tanto no âmbito hospitalar como em amostras ambientais. Com relação à ocorrência de cepas LVRE no Brasil, houve apenas dois relatos, em amostras clínicas de origem humana, o que não permite inferir uma circulação reduzida dessas linhagens em hospitais brasileiros, em ambientes de animais de produção ou no meio ambiente, uma vez que o monitoramento microbiológico desse fenótipo praticamente inexistente no país.

Vale salientar que o ST525 de *E. faecalis* (LVRE) até o presente momento é de circulação exclusiva no Brasil, não havendo trabalhos publicados fora do país, corroborando com a escassez de informações sobre o mesmo. O aparecimento dessa linhagem em regiões distintas do país, contudo, sugere a dispersão de cepas relevantes dessa linhagem. A ausência de achados envolvendo o ST526 de *E. faecalis* (LVRE) sugere uma reduzida circulação dessa linhagem no Brasil e em outros países até o presente momento. Em *E. faecium*, a ocorrência da resistência à vancomicina associada à linezolida parece estar circunscrita até então a CCs bem adaptados a ambientes hospitalares (ST412 e ST987).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aanensen, David M; SPRATT, Brian G. The multilocus sequence typing network: mlst.net. **Nucleic Acids Research**, 2005. W728 – W733. v.33

Acar, J. *et al.* Avoparcin and virginiamycin as animal growth promoters: a plea for science in decision-making. **Clinical Microbiology and Infection**, 2000. p. 477-482. v. 6.

Acosta, W.R. Fundamentos de farmacologia para o técnico em farmácia. Philadelphia: **Editora Guanabara Koogan**, p.180-201, 2011.

Almeida, L. M. de. *et al.* Linezolid resistance in vancomycinresistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates in a Brazilian hospital. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2014. p. 2993-2994. v. 58. n. 5. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/AAC.02399-14>> Acesso em: 13 set. 2021.

Almeida, L. M. *et al.* Linezolid resistance due to G2576T mutation is highly stable under no selective antibiotic pressure in the vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* ST526 and *Enterococcus faecium* ST412 clones. 4th. **ASM Conference on Enterococci**. Cartagena-Colombia, 2014.

Almeida, L. M. *et al.* Linezolid resistance in Brazilian *Staphylococcus hominis* strains is associated with L3 and 23S rRNA ribosomal mutations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2013. p.4082-4089. v.57.

Alves, G. da S. Clonal dissemination of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* ST412 in a Brazilian region. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 2017. v. 21. n.6. Disponível em:< <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.07.001>> Acesso em: 19 de Jan. 2022.

Arias, A. C.; Murray, B. E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, 2013. p.266-278. v.10. n.4. disponível em: <doi: 10.1038/nrmicro2761> Acesso em: 10 jan. 2022.

Bager, F. *et al.* Glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from broilers and pigs following discontinued use of avoparcin. **Microbiology Drug Resistance**, 1999. p. 53-56. v. 5.

Bates, J. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. **The Journal of Hospital Infection**, 1997. p.89-101. v .37.

Bell, J. *et al.* Emergence and epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in Australia. **Communicable Diseases Intelligence**, 1998. p. 249-252. v. 22.

Bender, E. A.; Freitas, A. L. P. de.; Barth, A. L. Avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* spp . isolados em dois hospitais de Porto Alegre - RS, Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 2010. p. 15-19. v.42. n.1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Investigação e controle de bactérias multirresistentes. Brasília: **Anvisa**, 2007. p.20. Disponível em: < https://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlereiss/manual%20controle_bacterias.pdf> Acesso em: 8 nov. 2021.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4 : Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: **Anvisa**, 2013. p.95. v.9. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-4-procedimentos-laboratoriais-da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final>>. Acesso em: 8 nov. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa nacional de prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (pnpciras) 2021 a 2025. Brasília: **ANVISA**, 2021. p.61. Disponível em: < https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpciras_2021_2025.pdf> Acesso em: 11 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2616, de 12 de maio de 1998. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção pelos hospitais do país, de

Programa de Controle de Infecções Hospitalares. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF), 1998. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html> Acesso em: 1 out. 2021.

Brunton, L. L.; Chabner, B. A.; Knollmann, B. C. As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman. 12. ed. Rio de Janeiro: **McGraw-Hill**, 2012. p.2112.

Byappanahalli, M. N.; Nevers, M. B.; Korajkic, A.; Staley, Z. R.; Harwood, V. J. Enterococci in the environment. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 2012. p. 685-706. v. 76.

Cai, J. *et al.* Enterococcal isolates carrying the novel oxazolidinone resistance gene *optrA* from hospitals in Zhejiang, Guangdong, and Henan, China, 2010-2014. **Clinical Microbiology and Infection**, 2015. p. 1095. v.21 n.12. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26319902/>> Acesso em: 11 nov. 2021.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Health Care Associated Infections (HAIs)**. Progress Report. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/hai/data/portal/progress-report.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fhai%2Fsurveillance%2Fprogress-report%2Findex.html> Acesso em: 21 nov, 2021.

Coque, T. M. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci from nosocomial, community, and animal sources in the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 1996. p. 2605-2609. v. 40.

Costa, L. M. D. *et al.* Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: first case in Brazil. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, 1998. p. 160-163. v. 2.

Costa, P. M.; Loureiro, L.; Matos, A. J. F. Transferência de bactérias multirresistentes entre nichos ecológicos mesclados: A interface entre humanos, animais e o meio ambiente. **International Journal Environmental Research and Public Health**, 2013. p. 278-294. v. 10, n. 1, Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/10/1/278>>. Acesso em: 21 nov. 2021.

Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. **Clinical Infectious Diseases**, 2006. p. 25-34. v. 42. n.1. Disponível em: < <https://doi.org/10.1086/491711>> Acesso em: 7 jan. 2022.

Dalla Costa, L. M. *et al.* Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*: First Case in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 1998. p.160-163. v.2. n.3.

Davies, J. What are antibiotics? Archaic functions for modern activities. **Molecular Microbiology**, 1990. p. 1227-1232. v. 4.

Devriese, L. A. *et al.* Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 1996. p. 2285-2287. v. 40.

Diaz, L. *et al.* Transferable plasmid-mediated resistance to linezolid due to *cfr* in a human clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2012. p.3917-3922. v. 56.

Diekema, D. J.; Jones, R. N. Oxazolidinone antibiotics. **The Lancet** (London, England), 2001. p.1975-1982. v. 358. n. 9297. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06964-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06964-1)> Acesso em: 15 set. 2021.

Elghaieb, H. *et al.* Dispersal of linezolid-resistant enterococci carrying *poxtA* or *optrA* in retail meat and food-producing animals from Tunisia. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, 2019. p. 2865-2869. v. 74. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31243458/>> Acesso em: 03 Jan. 2022.

Esposito, F. R. dos S. Avaliação da eficácia de agentes físicos e químicos contra biofilmes produzidos por clones de bactérias multirresistentes de importância clínica e epidemiológica no Brasil. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2018. p.86. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-10102018-151615/publico/Fernanda_Ribeiro_dos_Santos_Esposito_ME_Original.pdf> acesso em: 23 dez. 2021.

Fala, L. Sivextro (Tedizolid Phosphate) Approved for the Treatment of Adults with Acute Bacterial Skin and Skin-Structure Infections. **American Health & Drug Benefits**, 2015. p. 111-115. v. 8.

Feil, E. J. *et al.* *eBURST*: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. **Journal of bacteriology**, 2004. p. 1518-1530. v. 186. n. 5. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/JB.186.5.1518-1530.2004>> Acesso em: 6 out. 2021.

Figueredo, R. A. M. *et al.* *Enterococcus* resistente à vancomicina: uma preocupação em expansão no ambiente hospitalar. Official Journal of the Brazilian **Association of Infection Control and Hospital Epidemiology**. Goiânia, 2017. v. 6, n.1. Disponível em: < <https://jic-abih.com.br/index.php/jic/article/view/160/pdf>> Acesso em: 17 out. 2021

Fisher, K.; Phillips, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, 2009. p.1749-1757. v. 155. n. 6. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19383684/>> Acesso em: 6 out. 2021.

Franco, J. M. P. L. *et al.* Resistência bacteriana e o papel do farmacêutico frente ao uso irracional de antimicrobianos: revisão integrativa. **Revista e-ciência**, 2015. p.57-65. v.3. n.2. Disponível em:<<http://www.fjn.edu.br/revista/index.php/eciencia/article/view/64>> Acesso em: 20 dez. 2021.

Freitas, M. C. S. *et al.*. Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus fecal* colonization among kidney transplant patients. **BMC Infectious Diseases**, 2006. v. 6. n. 133.

Gales, A. C. *et al.* Emergence of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* during treatment of pulmonary infection in a patient with cystic fibrosis. **International journal of antimicrobial agentes**, 2006. p. 300-302. v. 27. n. 4. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16527459>> Acesso em: 10 set. 2021.

Gales, A. C. *et al.*. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005- 2008). **Brazilian Journal Infection Diseases**, 2009. v. 13. n 2. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-86702009000200004>> Acesso em:3 Jan. 2022.

Gill, S. R. *et al.* Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. **Science**, 2006. p. 13355-1359. v. 312.

Gilmore, M. S. *et al.* Enterococci From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection. **Massachusetts Eye and Ear Infirmary Boston Last Updated**, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24649510/>> Acesso em: 17 dez. 2021.

Gilmore, M. S.; Lebreton, F.; van Schaik, W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. **Current Opinion in Microbiology (COMICR)**, 2013. p. 10-16. v. 16.

Golan, D. E., et al. Princípios de Farmacologia. A base fisiopatológica da farmacologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2014. p. 972.

Grassotti, T. T. *et al.* Antimicrobial Resistance Profiles in *Enterococcus* spp. Isolates From Fecal Samples of Wild and Captive Black Capuchin Monkeys (*Sapajus nigritus*) in South Brazil. **Frontiers in Microbiology**, 2018. p.2366. v. 9. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02366>> Acesso em: 12 out. 2021.

Guest, J. F. *et al.* Modelling the annual NHS costs and outcomes attributable to healthcare-associated infections in England. **BMJ Open**, 2020. v.10. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-033367>> Acesso em: 11 nov. 2021.

Hao, W. *et al.* Analysis of a *poxxA*- and *optrA*-co-carrying conjugative multiresistance plasmid from *Enterococcus faecalis*. 7ª ed. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, 2019. p.1771-1775. v. 74.

Harada, T. *et al.* Isolation and characterization of vanA genotype vancomycin-resistant *Enterococcus cecorum* from retail poultry in Japan. . **International Journal of Food Microbiology**, 2012. p. 372-377. v. 153.

Harbath, S.; Cosgrove, S.; Carmeli, Y. Effects of antibiotics on nosocomial epidemiology of vancomycin-resistant enterococci, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.46, p.1619-1628, 2002.

He, T. *et al.* Genetic environment of the transferable oxazolidinone/phenicol resistance gene *optrA* in *Enterococcus faecalis* isolates of human and animal origin. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, 2016. p. 1466-1473. v. 71.

Im, W. B. *et al.* Discovery of torezolid as a novel 5-hydroxymethyl-oxazolidinone anti-bacterial agent. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2011. p. 1027-1039. v. 46.

Ippolito, J. A. *et al.* Crystal structure of the oxazolidinone antibiotic linezolid bound to the 50S ribosomal subunit. **Journal of medicinal chemistry**, 2008. p. 3353-3356. v. 51. n. 12.

Jolley, K. A.; Chan, M. S.; Maiden, M. C. J. mlstdbNet distributed multi-locus sequence typing (MLST) databases. **BMC Bioinformatics**, 2004. p. 8. v. 5. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-86> > Acesso em: 3 jan. 2022.

Jones, R. N. *et al.* Zyvox Annual Appraisal of Potency and Spectrum Program Results for 2006: an activity and spectrum analysis of linezolid using clinical isolates from 16 countries. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 2007. p. 199-209. v. 59. n. 2. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17908617/>> Acesso em: 18 dez. 2021.

Jones, R. N. *et al.* Zyvox Annual Appraisal of Potency and Spectrum program linezolid surveillance program results for 2008. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 2009. p. 404-413. v. 65. n. 4. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.10.001>> Acesso em: 14 nov. 2021.

Jung, W. K. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci from animal sources in Korea. **International Journal of Food Microbiology**, 2007. p. 102-107. v. 113.

Kaiser, C. R. *et al.* Oxazolidinonas: uma nova classe de compostos no combate à tuberculose. **Revista Brasileira de Farmacologia**, 2007. p. 83-88. v. 88. n. 2.

Kanafani, Z. A.; Corey, G. R. Tedizolid (TR-701): a new oxazolidinone with enhanced potency. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, 2012. p. 515-522. v. 21.

Katzung, B. G.; Masters, S. B.; Trevor, A. J. Farmacologia básica e clínica. 12^a ed. Porto Alegre: **AMGH**, 2014. p.1228.

Kehrenberg, C. *et al.* A new mechanism for chloramphenicol, florfenicol and clindamycin resistance: methylation of 23S ribosomal RNA at A2503. **Molecular microbiology**, 2005. p. 1064-1073. v. 57. n. 4.

Kehrenberg, C.; Aarestrup, F. M.; Schwarz, S. IS21-558 insertion sequences are involved in the mobility of the multiresistance gene *cfr*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 2007. p. 483-487. v. 51. n. 2.

Kelly, S. *et al.* An outbreak of colonization with linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in an intensive therapy unit. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, 2008. p. 901-907. v. 61. n. 4.

Kempf, I. *et al.* Prevalence of high-level vancomycin-resistant enterococci in French broilers and pigs. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2008. p. 463-464. v. 32.

Kiffer, C. M. V. *et al.* Exploratory model for estimating occupation-day costs associated to Hospital Related Infections based on data from national prevalence Project: IRAS Brasil Project. 4^a ed. **Journal of Infection Control**, 2015. p. 5. v. 4. n. 1. Disponível em: < https://jic-abih.com.br/index.php/jic/article/view/97/pdf_1 > Acesso em: 23 set. 2021.

Kim, J. M.; Song, Y. G. Vancomycin-resistant enterococcal infections in Korea. **Yonsei Medical Journal**, 1998. p. 562-568. v. 39.

Klevens, R. M. *et al.* Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. **Public Health Reports**, 2007. p.160-166. v.122. n.2. disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1177/003335490712200205>>. Acesso em: 10 jan. 22

Kobayashi, C. C. B. A. *et al.* Resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Enterococcus* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44. n. 3. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/BW66btBmRxMCjkjk6MDbdXb/?lang=pt>> Acesso em: 14 nov. 2021.

Kosowska-Shick, K. *et al.* Molecular and epidemiologic characteristics of linezolid-resistant coagulase-negative staphylococci at a tertiary care hospital. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, 2010. p. 34-39. v. 68. n. 1.

Leclercq, R. *et al.* Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. **New England Journal of Medicine**, 1988. p. 157-161. v. 319.

Lei, C. W. *et al.* Detection of the phenicol-oxazolidinone-tetracycline resistance gene *poxtA* in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* of food-producing animal origin in China. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2019. p.2459-2461. v.74. n.8. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31106347/>> Acesso em: 20 nov. 2021.

Liakopoulos, A. *et al.* A T2504A mutation in the 23S rRNA gene responsible for high-level resistance to linezolid of *Staphylococcus epidermidis*. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, 2009, p. 206-207. v. 64. n. 1.

Liakopoulos, A. *et al.* Dissemination of two international linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* clones in Greek hospitals. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, 2010. p. 1070-1071. v. 65. n. 5.

Lima, M. E.; Andrade, D.; Haas, V. J. Prospective assessment of the occurrence of infection in critical patients in an intensive care unit. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. 2007. p. 342-347. v. 19. n. 3.

Lin, a H. *et al.* The oxazolidinone eperozolid binds to the 50S ribosomal subunit and competes with binding of chloramphenicol and lincomycin. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 1997. p. 2127-2131. v. 41. n. 10. Disponível em:<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=164081&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>> Acesso em: 17 dez. 2021.

Lisboa, L. F. *et al.* Empiric use of linezolid in febrile hematology and hematopoietic stem cell transplantation patients colonized with vancomycinresistant *Enterococcus* spp. **The International Journal of Infectious Diseases**, 2015. p. 171-176. v. 33. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.02.001>> Acesso em: 3 out. 2021.

Lisboa, T. *et al.* The prevalence of nosocomial infection in Intensive Care Units in the State of Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, 2007. p. 414-420. v. 19. n. 4. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbti/a/GT7YpBH8xzjGk5mNByCsvmnr/abstract/?lang=pt>> Acesso em: 29 set. 2021.

Locke, J. B. *et al.* Tedizolid for the Management of Human Infections: In Vitro Characteristics. **Clinical Infectious Diseases**, 2014. p. 35-42. v. 58. n. 1.

Locke, J. B.; Hilgers, M.; Shaw, K. J. Mutations in ribosomal protein L3 are associated with oxazolidinone resistance in staphylococci of clinical origin. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 2009. p. 5275-5278. v. 53. n. 12.

Long, K. S. *et al.* The *cfr* rRNA methyltransferase confers resistance to phenicols, lincosamides, oxazolidinones, pleuromutilins, and streptogramin A antibiotics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2006. p. 2500-2505. v. 50. n. 7. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16801432/>> Acesso em: 12 out. 2021.

Macdougall, C.; Chambers, H.F. Inibidores da síntese de proteína e Agentes antibacterianos diversos *In*: BRUNTON, L.L.; CHABNER, A.B.; KNOLLMANN, B.C. As Bases farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman, tradução: Augusto, L. *et al.*, 12ª Edição, Porto Alegre: **AMGH Editora Ltda.** 2012. p.1521-1548.

Macedo, C. A. de. Estudo de vigilância em resistência bacteriana com ênfase em bacilos Gram negativos multirresistentes isolados de hospitais de referência no estado do Rio Grande do Norte. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, Rio Grande do Norte, 2016. p. 60.

Macedo, M. de L. de A. P. *et al.* Mecanismos de resistência e detecção das betalactamases. Ciências biológicas e da saúde. Londrina: **UNOPAR Científica**, 2005. p. 59-63. v. 7, n. 1. Disponível em: <<http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/view/1618/1550>> acesso em: 2 dez, 2021.

Machado, O. V. O. *et al.* Antimicrobianos: revisão geral para graduandos e generalistas. Fortaleza: **Ed Unichristus**, 2019. p.452.

Marquioti, C. M. J.; Lanes, L. C.; Castro, G. F. P. Uso irracional de antibióticos na infância: contribuição do profissional farmacêutico para a promoção da saúde. **Revista Transformar** [Internet], 2015. p. 39-77. v. 13. n. 3. Disponível em: <<http://www.fsj.edu.br/transformar/index.php/transformar/article/view/39>> Acesso em: 21 nov. 2021.

McCracken, M. *et al.* Molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program, 1999-2009. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, 2013. p.1505-1509. v. 68.

Melo S. S. de. High-Quality Draft Genome Sequence of the Multidrug-Resistant Clinical Isolate *Enterococcus faecium* VRE16. **ASM Journals**, 2016. v. 4. n. 5. Disponível em: < <https://doi.org/10.1128/genomeA.00992-16>> Acesso em: 19 de Jan. 2022.

Mendes, R. E. *et al.* Assessment of linezolid resistance mechanisms among *Staphylococcus epidermidis* causing bacteraemia in Rome, Italy. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, 2010. p. 2329-2335. v. 65. n. 11.

Mendes, R. E. *et al.* First report of staphylococcal clinical isolates in Mexico with linezolid resistance caused by *cfrr*: evidence of *in vivo cfrr* mobilization. **Journal of Clinical Microbiology**, 2010. p. 3041-3043. v. 48.

Mendes, R. E. *et al.* Molecular epidemiology of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates from U. S. hospitals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2012. p. 4656- 4661. v. 56.

Moellering Jr, R.C. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. **Clinical Infectious Diseases**, v.14, p. 1173-1178, 1992.

Moellering, R. C. Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial. **Annals of Internal Medicine**, 2003. p. 135-142. v. 138. n. 2.

Müller, S.; Janssen, T.; Wieler, L. H. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in veterinary medicine-emergence of an underestimated pathogen?. **Berliner und Munchener tierärztliche Wochenschrift**, 2014. p. 435-446. v. 127. n.11-12. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.2376/0005-9366-127-435>> Acesso em: 22 dez. 2021.

Nachtigall, G. *et al.* Diversidade e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus sp.* Isolados das águas do Arroio Dilúvio - Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, 2013. p. 235-241. v. 11. n. 2.

Neves, V. D.; Bulgareli, J. Infecção Hospitalar: métodos de avaliação das medidas econômicas referentes ao tratamento e a prevenção. **Journal of Management and Primary Health Care** [Internet], 2019. v. 11. Disponível em: <<https://www.jmphc.com.br/jmphc/article/view/945>> Acesso em: 12 nov. 2021.

Oliveira, C. F. *et al.* Enterococo resistente à vancomicina em UTI pediátrica: descrição de um caso e revisão da literatura. *Rev. Paul. Pediatr*, 2006. p. 185-189. v. 24. n. 2.

Oliveira, H. M.; Silva, C. P. R.; Lacerda, R. A. Policies for control and prevention of infections related to healthcare assistance in Brazil: a conceptual analysis. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, 2016. p. 502-508. v. 50. n. 3. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0080-623420160000400018>> Acesso em: 21 set. 2021.

OMS. Organização Mundial de Saúde, 2008. Organização Panamericana da Saúde. Infecção hospitalar. Disponível em: <www.opas.org.br/sistema/fotos/hospitala>. Acesso em: 05 dez, 2021.

OMS. Organização Mundial de Saúde, 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>> acesso em: 10 dez, 2021.

Palmer, K. L. *et al.* Comparative genomics of enterococci: variation in *Enterococcus faecalis*, clade structure in *E. faecium*, and defining characteristics of *E. gallinarum* and *E. casseliflavus*. **mBio**, 2012. p. 311-318. v. 3.

Palazzo I. C. V. *et al.* Changes in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* causing outbreaks in Brazil. *The Journal of Hospital Infection*, 2011. p. 70-74. v. 79.

Panlilio, A.L.; et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, Atlanta, V. 5, n. 1, p. 9, 1992.

Panlilio, A.L.; et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S.

Pérez, M. D.; Martínez, C. R.; Zhurbenko, R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. **Revista Cubana Hig. Epidemiol**, 2010. p. 147-161. v. 48. n. 2.

Phillips, I. *et al.* Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2004. p. 28-52. v. 53, n. 1.

Picão, R. C. *et al.* Further identification of CTX-M-2 extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents Chemother**, 2009. p. 2225-2226. v. 53. n. 5

Picão, R. C. *et al.* Detection of GES-5-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2010. p. 796-807. v. 65. n. 4.

Prado, G. V. B. do. *et al.* Virulence and resistance pattern of a novel sequence type of linezolid-resistant *Enterococcus faecium* identified by whole-genome sequencing. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, 2016. p. 27-31. v. 6.

RANG, H. P. *et al.* Rang & Dale: Farmacologia. 8. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2016.

Reis, A. O. *et al.* *In vitro* antimicrobial activity of linezolid tested against vancomycin-resistant enterococci isolated in Brazilian hospitals. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 2001. p. 243-251. v. 5. n. 5.

Riverón, F.F. *et al.*; Resistencia bacteriana. **Revista Cubana Medica Militar**, v.32, n.1, p.44-8, 2003.

Robinson, T. P. *et al.* Antibiotic resistance is the quintessential One Health issue. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene**. p. 377-380. v. 110. n. 7. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1093/trstmh/trw048>> Acesso em: 3 out. 2021.

Robredo, B. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food. **International Journal of Food Microbiology**, 2000. p. 197-204. v. 54.

Rosa, R. G. *et al.* Vancomycinresistant *Enterococcus faecium* Bacteremia in a tertiary care hospital: epidemiology, antimicrobial susceptibility, and outcome. **BioMed Research International**, 2014. p. 6. v. 2014. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24729981/>> Acesso em: 6 dez. 2021.

Rossi, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical infectious diseases**, 2011. p. 1138- 1143. v. 52. n. 9. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21467020/>> Acesso em: 2 jan. 2022.

Santos, N. Q., A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v. 13, p.64-70, 2004.

Sacramento, A. G. Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos. São Paulo, 2015. 112p.

Schwarz, S.; Werckenthin, C.; Kehrenberg, C. Identification of a plasmid-borne chloramphenicol-florfenicol resistance gene in *Staphylococcus sciuri*. **Antimicrob. Agents Chemother**, 2000. p. 2530-2533. v. 44.

Silva, P. S. da.; Monteiro Neto, H.; Sejas, L. M. Successful treatment of vancomycin-resistant enterococcus ventriculitis in a child. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 2007. p. 297-299. v.11. n. 2. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1413-86702007000200027>> Acesso em: 11 set. 2021.

SILVEIRA, G. P., Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, Florianópolis, v.29, n. 4 p. 844-855, 2006.

Sinton, L. W. *et al.* Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. **Applied and Environmental Microbiology**, 2002. Rio de Janeiro. p. 1122-1131. v. 68.

SOUZA, A. B. Detecção de biofilme em bactérias gram-negativas isoladas em uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Uberlândia. Curso de Biomedicina. Uberlândia, Minas Gerais, 2019. p. 23.

Souza, M. A. *et al.* Enterococo resistente à vancomicina em um hospital universitário no Centro-Oeste do Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, 2012. p. 241-246. v. 41. n. 2. Disponível em: < <https://doi.org/10.5216/rpt.v41i2.19332>> Acesso em: 8 dez. 2021.

Stull, J. W.; Weese, J. S. Hospital-associated infections in small animal practice. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 2015. p. 217-233. v.45. n.2. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.11.009>> Acesso em: 10 jan. 22

Swaney, S. M. *et al.* The oxazolidinone linezolid inhibits initiation of protein synthesis in bacteria. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 1998. p.3242–5.3251 v. 42. n.12.

Tavares, W. Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

Tavares, W. Problem gram-positive bacteria: resistance in staphylococci, enterococci, and pneumococci to antimicrobial drugs. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, 2000. p.281-301. v.33: Disponível em: < <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/TnCJBpNHSZm5XdSgbhNG6Rn/?lang=pt>> Acesso em: 5 nov. 2021.

Thal, L. A. *et al.* Characterization of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** , 1995. p. 2112-2115. v. 39.

Toh, S. M. *et al.* Acquisition of a natural resistance gene renders a clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to the synthetic antibiotic linezolid. **Molecular Microbiology**, 2007. p. 1506-1514. v. 64.

Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. Microbiologia. 10^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 934.

Uttley A.H.C; *et al.* Vancomycin-resistant enterococci. **The Lancet**, n.1, p.57– 58, 1988.

Uttley, A. H. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci. **Lancet**, 1988. p. 57-58. v. 1.

Van Tyne, D.; Gilmore, M. S. Friend Turned Foe: Evolution of Enterococcal Virulence and Antibiotic Resistance. **Annual Review of Microbiology**, 2014. p. 337-356. v. 68.

Vatopoulos, A.C.; Kalapothaki, V., Legakis, N.J. Risk factors for nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. **Journal of Hospital Infection**, Chicago, v. 34, n. 1, p. 11 - 22, 1996.

Vila, M. M. D. C. Analytical methods for vancomycin determination in biological fluids and in pharmaceuticals. **Química Nova**, 2007. v. 30. n. 2. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200029>> Acesso em: 15 Jan. 2022.

Wang, Y. *et al.* A novel gene, *optrA*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2015. p. 2182-2190. v. 70.

Wang, Y. *et al.* A novel gene, *optrA*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2015. p.2182 – 2190. v. 70. n. 8. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25977397/>> Acesso em 2 jan. 2022.

Wannmacher, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida. Uso racional de medicamentos: temas selecionados. Organização Pan-Americana da Saúde/ Organização Mundial da Saúde – BRASIL. Brasília, 2004. p. 1-6. v.1. n. 4.

Wegener, H. C. Historical yearly usage of glycopeptides for animals and humans: the American-European paradox revisited. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 1998. p. 3049. v. 42.

Wieler, L. H. *et al.* Infections with multidrug-resistant bacteria: has the post-antibiotic era arrived in companion animals? **Zoonoses - Infections Affecting Humans and Animals**. Springer, Dordrecht. 2015. p.433-452. v.17. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1007/978-94-017-9457-2_17> Acesso em: 3 dez. 2021.

Wilson, D. N. *et al.* The oxazolidinone antibiotics perturb the ribosomal peptidyltransferase center and effect tRNA positioning. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2008. p.13339–44105. v. 105. n. 36. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18757750/>> Acesso em: 21 dez. 2021.

Xavier, D. B.; Bernal, F. E. M.; Almeida, R. T. Prevalência de enterococos isolados de frangos caipiras em diferentes regiões do Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Brasília-DF. 2008. p.1550-1553. v. 60, n. 6.

Yameen, M. A. *et al.* Nasal and perirectal colonization of vancomycin sensitive and resistant enterococci in patients of paediatrics ICU (PICU) of tertiary health care facilities. **BMC Infectious Diseases**, 2013. p. 156. v. 13. n. 1. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23536967/>> Acesso em: 29 dez. 2021.

Zanella, R. C. *et al.* First confirmed case of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with vanA phenotype from Brazil: isolation from a meningitis case in São Paulo. **Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)**, 1999. p. 159-162. v. 5. n. 2. Disponível em:<<https://doi.org/10.1089/mdr.1999.5.159>> Acesso em: 19 de Jan. 2022.

7. ANEXOS - RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS NACIONAIS E INTERNACIONAIS

• 71ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 2019.

71ª Reunião Anual da SBPC - 21 a 27 de julho de 2019 - UFMS - Campo Grande / MS

2.12.99 – Microbiologia.

IDENTIFICAÇÃO DOS GENES *cfr/optrA* EM *Enterococcus faecalis* DE ORIGEM ANIMAL: PRIMEIRO RELATO NO BRASIL

Maria K. S. SILVA¹, Rafael de SOUZA², Cantídio F. de L. FILHO³, Ticiano G. do Nascimento⁴, Maria C. D. SILVA⁵, Lara M. de ALMEIDA⁶.

1. Estudante de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL);
2. Estudante de Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas (UFAL);
3. Responsável Técnico do Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos (FANUT/UFAL);
4. Professor da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) / Co-orientador;
5. Professora da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) / Co-orientadora;
6. Professora da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) / Orientadora.

Resumo

Poucos antimicrobianos estão disponíveis para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas multi-resistentes como, por exemplo, *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina. As oxazolidinonas são uma dessas últimas opções terapêuticas. O gene *cfr* (*chloranphenicol-florfenicol resistance*), que promove a metilação do gene RNAr 23S na posição A2503, e o gene *optrA* (*oxazolidinone phenicol transferable resistance*), codificador de uma proteína (ABC)-F recentemente reconhecida por atuar por meio de proteção ribossômica têm emergido em certas espécies de bactérias e direcionado o curso da disseminação da resistência às oxazolidinonas tanto no âmbito da medicina humana como na veterinária. Por meio dessa pesquisa investigamos e caracterizamos os ambientes genéticos contendo os genes *cfr* e *optrA* em uma cepa de *Enterococcus faecalis* isolada de suíno no Brasil, e determinamos o seu *Sequence Type* (ST) por MLST. O sequenciamento do genoma foi realizado com a utilização da plataforma Illumina MiSeq e o depósito da sequência completa, efetuado no banco de dados GenBank/NCBI (CP018004).

Palavras-chave: antimicrobianos; multi-resistência; suínos.

Ativar

• 8th CONGRESS OF EUROPEAN MICROBIOLOGISTS, 2019.

Maria Karielle S. Silva¹, Wellington Lima¹, Rafael Souza¹, Felipe M. Zorzi², Pedro Filsner²,
Andrea M. Moreno², Maria Cristina D. Silva¹, Ticiano G. Nascimento¹, Lara M. Almeida¹

¹Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ²University of São Paulo, São Paulo, Brazil

FIRST REPORT OF A *cfr/optrA*-CARRYING *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ISOLATE IN BRAZIL

Background

Oxazolidinone linezolid is one of the most important last-line antibiotics to treat infections caused by multidrug resistant Gram-positive bacteria. The spread of linezolid resistance has been driven mainly by the plasmid-borne or chromosomal 23S rRNA methyltransferase gene *cfr* and the ribosomal protection gene *optrA*. We determined the complete genome sequence of a linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* isolate of animal origin that carried plasmids containing *cfr* and *optrA* (CP018004.1).

Rafael Souza¹, Maria Karielle S. Silva¹, Lima¹, Felipe M. Zorzi², Pedro Filsner²,
 Andrea M. Moreno², Maria Cristina D. Silva¹, Ticiano G. Nascimento¹, Lara M. Almeida¹

¹Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ²University of São Paulo, São Paulo, Brazil

IDENTIFICATION OF THE NEW *Inu*(G)-CARRYING TRANSPOSON Tn6371 IN *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ISOLATED FROM SWINE IN BRAZIL

Background

The lincosamides lincomycin, clindamycin and pirlimycin are highly important veterinary antimicrobial agents. Resistance to lincosamides in bacteria from food-producing animals, including zoonotic pathogens, has emerged due to multidrug resistance genes coding for 23S rRNA methylases, ATP-binding cassette transporters, and lincosamide nucleotidyltransferase *Inu* genes coding enzymes that inactivate the antibiotic by adenylation. Here we report an ST710 *Enterococcus faecalis* isolate from swine that carried multiple lincosamide resistances, including a new chromosome-borne *Inu*(G)-carrying transposon.

- AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, 2019.



Control/Tracking Number: 2019-A-2035-MICROBE
 Activity: Abstract
 Current Date/Time: 1/5/2019 11:06:04 AM

Characterization of the Tn554-*araC*-*hp*-*optrA*-Carrying Plasmid pL15 in *Enterococcus faecalis* Isolated from Swine in Brazil

Author Block: W. Lima¹, R. Souza¹, M. Silvestre¹, F. Zorzi², P. Filsner², A. Moreno², M. Delgado¹, T. Nascimento¹, L. Almeida¹; ¹Federal Univ. of Alagoas, Maceió, Brazil, ²Univ. of São Paulo, São Paulo, Brazil

Abstract:

Background: Oxazolidinones are one of the most important last-line antibiotics to treat infections caused by multidrug-resistant Gram-positive bacteria. Transferable resistance due to the oxazolidinone/phenicol resistance gene *optrA* has emerged in bacteria of both human and animal origin. We recently identified an 11,007-bp *optrA* gene array (Tn554-*araC*-*hp*-*optrA*) in *Enterococcus faecalis* strains isolated from swine in six Brazilian states. Therefore, we aimed to assess how the transfer of this *optrA* array has occurred.

Methods: Conjugation by filter mating assay was performed at a 1:1 donor/recipient ratio using *E. faecalis* OG1RF as recipient strain. OG1RF transconjugants were selected on BHI medium supplemented with chloramphenicol and linezolid concentrations ranging from 4 to 25 µg/ml. Conjugation efficiency (CFU/ml of transconjugants per CFU/ml of donors) was determined. Genomic DNA of *E. faecalis* L15 (donor) and OG1RF transconjugants were sequenced (Illumina MiSeq), assembled (CLC 8.0.3) and

- 30º CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2019.

30º CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **VIRULENCE GENES AND AGR QUORUM SENSING SYSTEM IN STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATES FROM BOVINE MASTITIS** com a autoria de: LIMA FILHO, C.F., SILVA, N.C., SANTOS, L.P.R., SANTOS, J.V.B., SOBRINHO, L.A.R.S., SILVA, M.K.S., SOUZA, R., LIMA, L.F.S., SILVA, M.C.D., ALMEIDA, L.M. foi apresentado na forma de pôster durante o 30º Congresso Brasileiro de Microbiologia realizado no Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso, na cidade de Maceió, AL, no período de 6 a 9 de outubro de 2019.

Carlos P. Taborda Presidente
Jorge Luis Mello Sampaio 1º Secretário

De 06 a 09 de Outubro de 2019 - Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso - Maceió - AL

Eventos Satélites
ONE HEALTH
 1º ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ESPOROTRICOSE HUMANA E FELINA
 DO ISHAM WORKING GROUP ON SPOROTRICHOSIS

Organização e Realização:
SBM Sociedade Brasileira de Microbiologia

Patrocínio:
BD, **JAPESP**, **CAPES**, **CNPq**

30º CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **FIRST DETECTION OF OXAZOLIDINONE RESISTANCE DUE TO THE COEXISTENCE OF THE CFR AND OPTRA GENES IN BRAZIL** com a autoria de: SILVA, M.K.S., SOUZA, R., LIMA, W.C.S., CALUMBY, R.J.N., FILSNER, P., MORENO, A.M., SILVA, M.C.D., SILVA, V.A., GRILLO, L.A.M., ALMEIDA, L.M. foi apresentado na forma de pôster durante o 30º Congresso Brasileiro de Microbiologia realizado no Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso, na cidade de Maceió, AL, no período de 6 a 9 de outubro de 2019.

Carlos P. Taborda Presidente
Jorge Luis Mello Sampaio 1º Secretário

De 06 a 09 de Outubro de 2019 - Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso - Maceió - AL

Eventos Satélites
ONE HEALTH
 1º ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ESPOROTRICOSE HUMANA E FELINA
 DO ISHAM WORKING GROUP ON SPOROTRICHOSIS

Organização e Realização:
SBM Sociedade Brasileira de Microbiologia

Patrocínio:
BD, **JAPESP**, **CAPES**, **CNPq**

30º CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **FIRST DETECTION OF OXAZOLIDINONE RESISTANCE DUE TO THE COEXISTENCE OF THE CFR AND OPTRA GENES IN BRAZIL** com a autoria de: SILVA, M.K.S., SOUZA, R., LIMA, W.C.S., CALUMBY, R.J.N., FILSNER, P., MORENO, A.M., SILVA, M.C.D., SILVA, V.A., GRILLO, L.A.M., ALMEIDA, L.M. foi apresentado na forma de pôster durante o 30º Congresso Brasileiro de Microbiologia realizado no Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso, na cidade de Maceió, AL, no período de 6 a 9 de outubro de 2019.

Carlos P. Taborda Presidente
Jorge Luis Mello Sampaio 1º Secretário

De 06 a 09 de Outubro de 2019 - Centro Cultural e de Exposições Ruth Cardoso - Maceió - AL

Eventos Satélites
ONE HEALTH
 1º ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ESPOROTRICOSE HUMANA E FELINA
 DO ISHAM WORKING GROUP ON SPOROTRICHOSIS

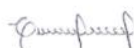
Organização e Realização:
SBM Sociedade Brasileira de Microbiologia

Patrocínio:
BD, **JAPESP**, **CAPES**, **CNPq**

- JORNADA REGIONAL DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, 2019.

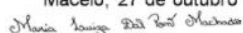
CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **FILOGENIA DE *Enterococcus faecalis* RESISTENTES ÀS OXAZOLIDINONAS BASEADA EM MULTI LOCUS SEQUENCE TYPING (MLST)** de autoria **Michelle Vanessa da Silva Pacheco, Maria Karielle Silvestre da Silva, Wesleyni Paula De Lima, Michel Valdemir da Silva Pacheco, Lara Mendes de Almeida, Rafael de Souza e Wellington Cantídio da Silva Lima**, foi submetido no evento **VIII Jornada Regional de Ciências Farmacêuticas da UFAL**, realizado em 17 à 19 de outubro de 2019 na cidade de Maceió, contabilizando carga horária total de 4 horas.



Coordenadora Docente
Dra. Eliane Aparecida Campesatto

Maceió, 27 de outubro de 2019



Coordenadora Discente
Maria Luiza Dal Pont Machado



VIII JORNADA REGIONAL
DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

REALIZAÇÃO:
CASO DE JANEIRO

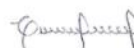
Centro Acadêmico de Farmácia - UFAL



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE ESTAFILOCOCOS E ENTEROCOCOS RESISTENTES ÀS OXAZOLIDINONAS** de autoria **Maria Karielle Silvestre da Silva, Wesleyni Paula De Lima, Michelle Vanessa da Silva Pacheco, Wellington Cantídio de Lima, Julio Henrique Rodrigues Gomes, Rodrigo José Nunes Calumby e Lara Mendes de Almeida**, foi submetido no evento **VIII Jornada Regional de Ciências Farmacêuticas da UFAL**, realizado em 17 à 19 de outubro de 2019 na cidade de Maceió, contabilizando carga horária total de 4 horas.

Maceió, 27 de outubro de 2019



Coordenadora Docente
Dra. Eliane Aparecida Campesatto



Coordenadora Discente
Maria Luiza Dal Pont Machado



VIII JORNADA REGIONAL
DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

REALIZAÇÃO:
CASO DE JANEIRO

Centro Acadêmico de Farmácia - UFAL



- XXXIV SEMANA DA BIOLOGIA – UFAL, 2019.

