



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Catarina Raquel Antunes Santos Correia

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A importância da monitorização de *Enterococcus* spp. como bioindicadores de resistência aos antimicrobianos num conceito de *Uma só Saúde*” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Célia Moteiro e da Professora Doutora Eduarda Silveira, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Catarina Raquel Antunes Santos Correia

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A importância da monitorização de *Enterococcus* spp. como bioindicadores de resistência aos antimicrobianos num conceito de *Uma só Saúde*” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Célia Moteiro e da Professora Doutora Eduarda Silveira, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

Eu, Catarina Raquel Antunes Santos Correia, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017257841, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A importância da monitorização de *Enterococcus* spp. como bioindicadores de resistência aos antimicrobianos num conceito de *Uma só Saúde*” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documentos é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2022.

Catarina Raquel Antunes Santos Correia

(Catarina Raquel Antunes Santos Correia)

Agradecimentos

Em primeiro lugar, deixo o mais profundo agradecimento aos meus pais, pela amizade e apoio incondicional, por terem estado sempre ao meu lado, tendo sempre uma palavra amiga nos momentos mais difíceis.

A toda a equipa da Farmácia São Cosme, deixo o meu sincero obrigada por todo o apoio, simpatia, disponibilidade e paciência, sem esquecer todo o conhecimento que me foi transmitido ao longo do estágio.

Por último, deixo também uma palavra de agradecimento à minha orientadora, Professora Doutora Eduarda Silveira, que orientou a elaboração da minha monografia, por toda a disponibilidade e auxílio prestado durante a construção da mesma.

Índice Geral

Parte A – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Análise SWOT.....	10
2.1 Pontos Fortes (<i>Strenghts</i>).....	10
2.1.1 Preparação de medicamentos manipulados.....	10
2.1.2 Dispensa de medicamentos hospitalares.....	11
2.1.3 Verificação de Receitas Manuais.....	12
2.1.4 Gestão e Aprovisionamento de Medicamentos e Produtos.....	13
2.1.5 Prestação de diversos serviços farmacêuticos.....	14
2.1.6 VALORMED®.....	14
2.1.7 Controlo e verificação de temperaturas e humidade relativa.....	15
2.1.8 Controlo de Psicotrópicos e Estupefacientes.....	16
2.2 Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>).....	17
2.2.1 Pouca familiarização com nomes comerciais de medicamentos.....	17
2.2.2 Aconselhamento farmacêutico.....	17
2.3 Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	18
2.3.1 Contacto com os softwares Sifarma®.....	18
2.3.2 Acompanhamento farmacoterapêutico.....	18
2.3.3 Formação contínua.....	19
2.4 Ameaças (<i>Threats</i>).....	20
2.4.1 Medicamentos indisponíveis.....	20
2.4.2 Contacto reduzido com outros profissionais de saúde.....	20
3. Casos Práticos.....	21
4. Considerações Finais.....	24
Referências Bibliográficas.....	25
Anexos.....	26

PARTE B – Monografia

Lista de Abreviaturas.....	30
Resumo.....	31
Abstract.....	32
1. Introdução.....	33
2. Género <i>Enterococcus</i>	33
2.1 Patogenicidade.....	35
3. Epidemiologia de infeções associadas a <i>Enterococcus faecium</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	37
3.1 Manifestações clínicas.....	38
3.1.1 Infeções do trato urinário.....	38
3.1.2 Endocardites.....	39
4. Métodos de diagnóstico laboratorial de estirpes de <i>Enterococcus faecium</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	41
5. Taxas de mortalidade e morbilidade associadas a infeções por estirpes de <i>Enterococcus faecium</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	43

6. Mecanismos de resistência bacteriana.....	44
6.1 Penicilinas	45
6.2 Glicopeptídeos	47
6.2.1 Vancomicina	47
6.3 Aminoglicosídeos.....	50
7. Emergência de infecções nosocomiais provocados por estirpes de <i>Enterococcus</i> multirresistentes	52
8. Consequências da emergência de resistências aos antimicrobianos em <i>Enterococcus</i> spp. num conceito de <i>Uma só Saúde</i>	54
8.1 Saúde Ambiental	54
8.2 Saúde Animal	56
8.3 Potencial impacto na Saúde Humana	58
Conclusão	59
Referências Bibliográficas.....	60

PARTE A

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas

ANF – Associação Nacional de Farmácias

CEDIME – Centro de Informação do Medicamento

CNP – Código Nacional do Produto

DCI – Denominação Comum Internacional

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

ESC – *European Society of Cardiology*

INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MSRM – Medicamento sujeito a receita médica

MNSRM – Medicamento não sujeito a receita médica

PA – Pressão Arterial

PIC – Preço Impresso na Caixa

RAM – Reação Adversa a um Medicamento

RCM – Resumo das Características do Medicamento

I. Introdução

O farmacêutico é o profissional de saúde especialista do medicamento, cuja atividade profissional é habilitada após a frequência e conclusão do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), lecionada na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), entre outras instituições de ensino superior (1).

A atividade farmacêutica abrange diversos setores, englobando, entre outros, a farmácia comunitária, um espaço de saúde onde são prestados diversos serviços e cuidados farmacêuticos. A farmácia é, regularmente, a primeira e última interação dos utentes dentro do sistema de Saúde, sendo procurada desde o surgimento de situações agudas e de menor gravidade, até à dispensa de medicação e posterior acompanhamento. Neste sentido, o farmacêutico comunitário assume um papel de destaque dentro da farmácia, dada a sua incumbência profissional de providenciar informações clínicas e científicas sobre medicamentos e produtos de saúde, prestando e aconselhando os seus utentes da melhor forma possível, em resposta às suas necessidades.

A aquisição de aptidão e de experiência, em contexto de trabalho nesta área, é crucial durante a formação dos futuros farmacêuticos, possibilitando obter competências práticas e interligar, consolidar e aplicar todas as noções teóricas adquiridas ao longo do percurso académico. O plano de estudos do MICF da FFUC prevê a realização de um estágio curricular, no quinto ano, no âmbito da unidade curricular “Estágio”.

O presente relatório diz respeito ao estágio que decorreu entre os meses de janeiro de 2022 e junho de 2022, na Farmácia São Cosme, localizada no centro de vila de Porto de Mós, sob a direção técnica do Dr. Mário Lopes. O estágio em si foi orientado pela Dra. Célia Moteiro, mas destaco a contribuição de toda a equipa na minha formação e resposta às minhas dúvidas e dificuldades. Inicialmente, foram-me apresentados os espaços de *back-office* e de atendimento ao público, que englobam as áreas de dermocosmética, higiene capilar e oral, e área atrás dos balcões de atendimento, que inclui medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e suplementos alimentares. A partir daí, fui orientada para a aprendizagem e execução das mais diversas tarefas inerentes ao farmacêutico comunitário.

As subseqüentes seções do presente relatório incluem uma Análise SWOT, uma ferramenta através do qual irei avaliar criticamente os Pontos Fortes (*Strengths*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*) do estágio. De seguida, irei descrever cinco casos práticos que refletem situações que surgiram durante o

estágio e que incentivaram a aplicação de conhecimentos adquiridos ao longo das diversas unidades curriculares e do estágio. Terminarei com uma breve conclusão, que contém uma reflexão final sobre esta etapa do meu percurso académico.

2. Análise SWOT



Figura 1 – Esquematização da Análise SWOT, referente ao Estágio em Farmácia Comunitária.

2.1 Pontos Fortes (Strengths)

2.1.1 Preparação de medicamentos manipulados

De acordo com a Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho, entende-se por medicamento manipulado “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” (2). O INFARMED classifica-os em fórmulas magistrais, quando são preparadas seguindo uma receita médica, e em preparados oficiais, quando são preparados seguindo indicações de uma Farmacopeia ou Formulário (3).

A expansão do setor da indústria farmacêutica tornou a manipulação de medicamentos nas farmácias comunitárias menos frequente, porém, alguns médicos ainda prescrevem manipulados, sobretudo quando existe a necessidade de instituir terapêuticas personalizadas.

Durante o estágio tive três oportunidades de preparação de medicamentos manipulados, todos para uso cutâneo: o primeiro manipulado preparado foi uma vaselina salicilada a 2%; o segundo manipulado foi novamente uma vaselina salicilada, com concentração de 5%; o terceiro manipulado foi uma pomada de enxofre, a 6%.

Todos os medicamentos manipulados são preparados no laboratório da Farmácia, após terem sido reunidas todas as matérias-primas, com o respetivo cálculo das quantidades necessárias. No final, os manipulados são acondicionados numa embalagem apropriada e são armazenados no laboratório, até serem dispensados ao utente. A etapa seguinte envolve o preenchimento do formulário de preparação de medicamentos manipulados, que engloba a discriminação de todas as matérias-primas usadas na manipulação, acrescida da identificação do respetivo número de lote e origem, das quantidades calculadas e pesadas, de todos os passos seguidos durante a manipulação, terminando com controlo de qualidade do produto acabado e cálculo do preço. Por fim, o formulário é assinado e arquivado no gabinete do diretor técnico.

Ainda que não seja a tarefa mais comum no quotidiano da Farmácia São Cosme, destaco a preparação de medicamentos manipulados como ponto forte do estágio, pois, para além de ser uma das responsabilidades do farmacêutico comunitário, permitiu-me aplicar conhecimentos adquiridos na unidade curricular de Farmácia Galénica.

2.1.2 Dispensa de medicamentos hospitalares

Face ao cenário pandémico vivido em Portugal e no mundo desde 2020, o Ministério da Saúde decretou, através do Despacho n.º 4270-C/2020, a autorização em regime excecional da dispensa de medicamentos hospitalares nas farmácias comunitárias, a pedido do utente (4). Esta medida foi tomada com o objetivo de proteger a saúde dos cidadãos e de reduzir a sua afluência a unidades hospitalares.

Durante o estágio, tomei conhecimento do protocolo de dispensa de medicamentos hospitalares definido pelo Centro de Informação do Medicamento (CEDIME), que envolvem a sua receção, entrega aos utentes e registo da sua dispensa.

Após a receção dos medicamentos na Farmácia, o *kit* deve ser armazenado sob as condições adequadas de conservação até ao momento da sua dispensa; o utente é então contactado por um profissional da farmácia, para que a sua medicação lhe possa ser entregue. No ato de dispensa, é recomendado questionar os utentes se apresentavam sinais ou sintomas que possam impedir a dispensa da medicação.

Todas as dispensas são registadas no programa Sifarma Clínico®, após a entrega da medicação ao utente. Alguns serviços farmacêuticos hospitalares requerem, adicionalmente, a

confirmação da entrega das mesmas, através do envio de um *email* confirmatório ou através do preenchimento de um formulário.

Ao longo do estágio tive a oportunidade não só de tomar conhecimento do protocolo de dispensa de medicamentos hospitalares, como de proceder ao seu registo. Assim, realço este aspeto como um dos pontos fortes do estágio.

2.1.3 Verificação de Receitas Manuais

Em Portugal, existem duas modalidades de prescrição de receitas médicas: prescrição eletrónica e prescrição manual.

As prescrições eletrónicas podem ser materializadas, quando a receita médica é impressa, ou desmaterializadas, tipicamente apelidadas de “receita sem papel”, que é enviada diretamente ao utente, por meio de mensagem de texto enviada para o seu número de telemóvel. As prescrições manuais, apenas permitidas em situações consideradas excecionais, devem estar corretamente preenchidas, de acordo com os requisitos legais, de forma a que possam ser válidas (5). As especificações das prescrições manuais incluem:

- a não existência de rasuras, de cores de caneta diferentes, de caligrafias distintas ou uso de lápis na mesma receita;
- o nome do utente, número de utente e a entidade responsável;
- identificação do médico prescriptor (através de vinheta), da sua especialidade e local de prescrição (através de vinheta ou carimbo).

A receita manual deve também estar datada e devidamente assinada pelo médico prescriptor; deve ainda estar assinalada a exceção legal que justifica qual o motivo da prescrição (exceções a), b), c) ou d)). Por fim, todos os medicamentos prescritos devem estar escritos de acordo com a denominação internacional comum (DCI), para além de ter de ser indicada a dosagem, forma farmacêutica e número de embalagens, cujo total, por receita manual, não pode ser superior a quatro (5).

No momento em que a receita manual é recebida na Farmácia, deve ser verificado se todos os dados acima mencionados estão claramente preenchidos e se a receita está dentro da validade, ou seja, se ainda não passaram mais de 30 dias após a data de prescrição indicada na receita; durante o atendimento, é impresso, no verso da receita, um talão que identifica quais foram os medicamentos dispensados e o regime de participação aplicado, tendo ainda que ser assinado, carimbado e datado pelo funcionário responsável pelo atendimento.

As receitas manuais são novamente conferidas pelo farmacêutico responsável antes de serem arquivadas junto de outros documentos destinados à faturação.

Considero a verificação de receitas manuais como um dos pontos fortes do meu estágio pois, apesar da atual tendência de desmaterialização do receituário, o surgimento de prescrições manuais ainda é frequente, tratando-se de uma situação que exige sempre a conferência rigorosa por parte do farmacêutico comunitário.

2.1.4 Gestão e Aprovisionamento de Medicamentos e Produtos

Uma das principais tarefas em farmácia comunitária é todo o trabalho de logística, que deve ser bem gerido, para que haja o mínimo de prejuízos e para que o trabalho durante o atendimento aos utentes seja eficaz, infalível e não sofra transtornos.

Todo o processo de gestão inicia-se pela realização de encomendas: as encomendas instantâneas e diárias são geridas a partir do sistema informático Sifarma 2000[®], sendo que as primeiras são levadas a cabo através da ficha do produto e últimas são geradas automaticamente pelo *software*, com base no *stock* mínimo e máximo de cada produto. Complementarmente, as encomendas podem ser pedidas diretamente ao armazenista por telefone ou por contacto direto com fornecedores.

Após a entrega das encomendas à Farmácia, o passo seguinte envolve a sua receção, através do Sifarma 2000[®]: o processo envolve a leitura ótica do código nacional do produto (CNP) de tudo o que é fornecido, com a respetiva verificação do estado e integridade das embalagens, das validades e dos preços dos medicamentos e produtos, e se for necessário, modificá-los no sistema informático. No final, deve ser conferido se o número de unidades que consta na fatura está conforme o que foi enviado; por vezes, verificou-se a existência de erros no pedido ou erros na fatura enviada pelo distribuidor. Nestas situações, existem vários procedimentos possíveis, entre os quais a devolução do produto ou a realização da respetiva reclamação, que também tive a oportunidade de efetuar durante o estágio.

Subsequentemente, procede-se ao armazenamento dos produtos fornecidos. Primeiramente, deve-se ter em atenção quais são os que carecem de condições especiais de armazenamento, que incluem insulinas, injetáveis, vacinas e alguns colírios, que são conservados entre 2–8°C. Em segundo lugar, considera-se os seguintes aspetos: a validade do produto, partindo do princípio que os que têm validade mais curta devem ser os primeiros a sair e o preço impresso na caixa (PIC), caso dos medicamentos sujeitos a receita médica

(MSRM), já que os que têm um preço mais antigo devem sair primeiro. Outro ponto fulcral é a conferência regular da rotatividade dos medicamentos e produtos da Farmácia, para que não haja acumular de artigos que não tem saídas, evitando assim compras desnecessárias e prejuízos injustificados.

Saliento a oportunidade de desempenhar estas tarefas como um dos pontos fortes do estágio. Acrescento também que, durante a receção e armazenamento de encomendas, pude familiarizar-me com produtos que não conhecia, especialmente MNSRM e produtos cosméticos.

2.1.5 Prestação de diversos serviços farmacêuticos

A Farmácia São Cosme disponibiliza diversos serviços farmacêuticos globalmente denominados por *Check-Saúde*, que incluem medição da pressão arterial e de alguns parâmetros bioquímicos (como medição de glicémia capilar, do colesterol total e dos triglicéridos), administração de injetáveis (tarefa apenas realizada por farmacêuticos com competência específica para esse efeito), para além de prestar acompanhamento farmacoterapêutico aos utentes que o solicitam ou por sugestão do próprio farmacêutico.

Durante a prestação destes serviços, que decorre num gabinete separado da área de atendimento da Farmácia, de modo a garantir confidencialidade e privacidade ao utente, existe um contacto mais próximo com o doente, possibilitando perceber se alguma das medições efetuadas está fora da faixa de valores recomendada, verificar se o utente toma toda a sua medicação e reforçar a importância de adesão à terapêutica e de seguimento de hábitos de vida saudáveis. No caso dos serviços que englobam medições, é fornecido um cartão onde são anotados todos os registos efetuados e, no caso de serem acompanhados na Farmácia, as medições são igualmente registadas no Sifarma 2000®.

Durante o estágio, aprendi a manusear os aparelhos e dispositivos necessários à concretização dos serviços supramencionados e de contactar diretamente com os utentes da farmácia, pelo que enfatizo a importância de ter participado nestas tarefas.

2.1.6 VALORMED®

O VALORMED® é uma sociedade sem fins lucrativos, operacional desde 1999, cujas responsabilidades envolvem a recolha e tratamento dos resíduos de embalagens vazias e de medicamentos fora de uso, que surgiu da necessidade emergente de eliminar os resíduos de medicamentos de forma mais segura, quer sejam eles de uso humano ou de uso veterinário

(6). Desta forma, as farmácias comunitárias funcionam como pontos de recolha (6), existindo contentores próprios, fornecidos pelos armazenistas, para a colocação dos medicamentos fora de uso, que são entregues pelos utentes da farmácia. A Farmácia São Cosme atualmente adere a esta iniciativa.

Quando se verifica que o contentor está a ultrapassar a sua capacidade máxima, é efetuado o seu fecho e de seguida, recorrendo ao *software* informático da Farmácia (Sifarma 2000[®]), procede-se ao registo da recolha, com a impressão do respetivo talão, que corresponde ao comprovativo de entrega, devendo ser assinado pelo farmacêutico responsável e afixado ao contentor; posteriormente, o contentor é recolhido pelo distribuidor preferencial da farmácia, seguindo depois para o centro de triagem (7).

No decurso do estágio, testemunhei o seu funcionamento a nível de Farmácia e verifiquei que muitos utentes já tinham por hábito trazer medicamentos fora de uso para serem depositados no VALORMED[®], havendo também momentos em que se pode consciencializar a população para a existência desta iniciativa.

2.1.7 Controlo e verificação de temperaturas e humidade relativa

Todos os medicamentos e produtos de saúde disponíveis na Farmácia devem ser armazenados sob condições de temperatura e humidade adequadas à sua conservação. A maioria dos medicamentos são mantidos à temperatura ambiente, que deve estar compreendida entre 15°C e 25°C, com a humidade relativa entre 30% a 65%, salvo os casos dos produtos que requerem condições especiais de armazenamento, designados por produtos termolábeis, que são conservados no frigorífico entre 2 a 8°C, visto serem sensíveis à temperatura. Existem procedimentos estipulados na Farmácia São Cosme que asseguram a verificação regular destes parâmetros.

Para tal, recorre-se a termohigrómetros, aparelhos que registam a temperatura e humidade relativa, que foram programados para fazer registos de hora a hora. Na Farmácia, existem três termohigrómetros que rodam por diversos espaços semanalmente: um roda pela área do *back-office* e pela área de atendimento, outro que roda entre o laboratório e uma segunda área do *back-office* e outro que roda por diferentes prateleiras do frigorífico.

No momento oportuno, cada um deles é recolhido para que possa proceder à leitura e controlo dos dados registados. Através do *software* HW4, é obtido um gráfico com todas as temperaturas registadas na semana anterior, que é impresso. Após a verificação da

conformidade dos registos, o farmacêutico responsável elabora um relatório, é arquivado junto dos outros registos.

Considero a verificação e controlo de temperatura e humidade relativa de extrema relevância, visto ser fundamental que todos os produtos estejam adequadamente armazenados, de forma a garantir a sua qualidade e segurança no momento da sua dispensa. O protocolo implementado na Farmácia São Cosme permite um controlo rigoroso destes parâmetros, pelo que presumo ter sido um ponto forte do estágio a oportunidade de colaborar neste processo semanalmente.

2.1.8 Controlo de Psicotrópicos e Estupefacientes

Os psicotrópicos e estupefacientes são uma classe de medicamentos que está sujeita a condições especiais de prescrição e dispensa, por se tratarem de substâncias químicas com ação estimulante no sistema nervoso central (8). Todas as substâncias consideradas como psicotrópicos ou estupefacientes estão discriminadas nas Tabelas I a IV do Decreto-Lei n.º 15/93 (8).

No momento em que são rececionados, a entrada dos psicotrópicos e estupefacientes é registada automaticamente no sistema informático, através da associação do respetivo número de fatura que é enviada pelo armazenista. No ato de dispensa, o utente adquirente deve apresentar um documento identificativo, por norma o seu cartão de cidadão, para que possam ser introduzidos os seus dados no sistema Sifarma®. Após o término do atendimento, é impresso um talão identificativo do registo de saída de psicotrópicos e/ou estupefacientes, que é arquivado; no final do mês, é impressa a listagem de saída de psicotrópicos e estupefacientes pelo farmacêutico responsável, que corresponde a todas as vendas em que foram feitas dispensas deste grupo de medicamentos, que é depois enviada para o INFARMED por *email*. No final do ano, é obrigatório enviar a lista das entradas e saídas de psicotrópicos e estupefacientes, designado por Balanço Anual.

Ao longo dos vários meses do estágio, tive a oportunidade de presenciar e cooperar no processo de controlo de psicotrópicos e estupefacientes adquiridos e dispensados na Farmácia, por isso, sublinho-o como um ponto forte.

2.2 Pontos Fracos (Weaknesses)

2.2.1 Pouca familiarização com nomes comerciais de medicamentos

Uma das maiores dificuldades encontradas na fase inicial do estágio, principalmente durante o atendimento aos utentes, foi a dificuldade em associar nomes comerciais de medicamentos a um determinado princípio ativo ou DCI.

Ao longo do percurso académico no MICF, foram raras as instâncias onde foram mencionados nomes comerciais de medicamentos, sendo a abordagem por princípios ativos o mais frequente; todavia, a grande maioria dos utentes da farmácia conhece a sua medicação habitual pela marca ou pela embalagem e não por princípio ativo ou DCI, o que obriga a que o farmacêutico esteja minimamente familiarizado com os nomes comerciais, de forma a que possa prestar o melhor atendimento ao utente, com o mínimo de constrangimentos.

Apesar de ressaltar este tópico como um ponto fraco, devo mencionar que apenas é possível ultrapassar esta dificuldade com tempo e com experiência; acrescento ainda que, na fase final do estágio, deparei-me com este problema com menos frequência.

2.2.2 Aconselhamento farmacêutico

O principal ponto fraco do estágio foi, inegavelmente, a dificuldade que senti em aconselhar os utentes, o que influenciou todo o meu trabalho durante o atendimento, visto ser uma tarefa no qual não tinha autoconfiança suficiente para executar de forma totalmente autónoma. Penso que tal advém essencialmente da dificuldade em articular todo o conhecimento teórico adquirido nas unidades curriculares do MICF com os diversos medicamentos e produtos de saúde disponíveis na Farmácia, especialmente MNSRM e suplementos alimentares, produtos veterinários e produtos dermofarmacêuticos e cosméticos. Saliento também que desconhecia muitos dos produtos pertencentes às categorias atrás mencionadas, o que complicava a escolha da melhor opção para o utente; noutros momentos, senti dificuldade por se tratarem de utentes habituais da Farmácia, cujas necessidades já eram conhecidas pelos colaboradores da Farmácia, o que é relevante, considerando que existem alguns MNSRM contraindicados em certas patologias.

Neste sentido, realço todo o apoio que me foi dado pela equipa da Farmácia para ultrapassar esta dificuldade, não só na escolha da melhor opção para o utente no momento do atendimento, como também por todo o conhecimento transmitido após o surgimento de cada situação prática.

2.3 Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1 Contacto com os *softwares* Sifarma[®]

O Sifarma[®], *software* da Associação Nacional de Farmácias (ANF), é um sistema informático que constitui uma peça fundamental nas atividades diárias da farmácia comunitária e assume um papel central no atendimento aos utentes, na logística ligada às encomendas e à gestão de utentes e produtos da farmácia. Existem três *softwares* Sifarma[®], ambos utilizados simultaneamente nas farmácias: Sifarma 2000[®], o novo módulo do Sifarma[®] e o Sifarma Clínico[®].

O Sifarma 2000[®], módulo mais antigo do Sifarma[®], é utilizado em todas as tarefas da farmácia, como atendimento ao público, gestão e receção de encomendas, regularização de devoluções, gestão de utentes e produtos, controlo de psicotrópicos, fecho de faturação e vendas suspensas.

Atualmente, uma grande parte das farmácias já começa a utilizar o novo módulo do Sifarma[®], que foi desenvolvido recentemente e ainda não está totalmente operacional, estando a suas funções por enquanto limitadas ao atendimento. No atendimento é feita a identificação do utente, a identificação dos componentes da venda (com ou sem receita médica), seguindo-se a verificação de todas as embalagens, terminando com o pagamento. Também é possível aceder às fichas do produto e à sua informação científica, tal como efetuar encomendas instantâneas, assim como associar diversas campanhas decorrentes à venda.

O Sifarma Clínico[®], conforme mencionado no ponto 2.1.2, destina-se ao registo de dispensa de medicamentos hospitalares após a sua entrega ao utente, bem como ao registo da administração de vacinas da gripe.

A oportunidade de contactar e de trabalhar com os três *softwares* foi, indiscutivelmente, uma das mais-valias do estágio, considerando que os sistemas Sifarma[®] são ferramentas de trabalho diário na maioria das farmácias em Portugal.

2.3.2 Acompanhamento farmacoterapêutico

O acompanhamento farmacoterapêutico é um serviço farmacêutico que se caracteriza pelo seguimento do utente por um farmacêutico, que estuda o seu perfil farmacoterapêutico e observa as suas necessidades, referenciando-o para outros profissionais de saúde, caso seja necessário. Em farmácia comunitária, o acompanhamento pode revelar-se útil, especialmente

em doentes polimedicados, permitindo detetar possíveis interações medicamentosas ou efeitos adversos decorrentes da terapêutica. Em algumas unidades curriculares de MICF foram propostos diversos casos práticos pelos docentes, tendo sido dadas indicações e sugestões sobre como proceder ao preenchimento da respetiva tabela de acompanhamento.

Durante o estágio, tive a oportunidade de realizar acompanhamento farmacoterapêutico de um utente da Farmácia, que será descrito detalhadamente no capítulo Casos Práticos.

Destaco esta oportunidade pelo facto de me ter permitido a aplicação de conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico e por ter acompanhado um utente pela primeira vez.

2.3.3 Formação contínua

O código deontológico dos farmacêuticos lista o dever do farmacêutico de atualizar regularmente os seus conhecimentos técnicos e científicos (9), como tal, enquanto estagiária e futura farmacêutica, procurei ampliar a minha formação na área de Ciências Farmacêuticas, fora do contexto académico, sempre que possível.

Uma das grandes oportunidades do meu estágio foi o surgimento de diversas ocasiões de aprendizagem, quer com a equipa da farmácia, quer através dos delegados de informação médica, quer através da participação em diversas ações de formação, através de *Webinars* e de cursos dinamizados através de plataformas *online*, promovidos por laboratórios farmacêuticos, no âmbito de formação contínua da equipa da Farmácia.

Todas as formações e instâncias de aprendizagem revelaram-se imensamente vantajosas, não só por auxiliarem a relembrar e sedimentar noções técnico-científicas adquiridas previamente, como também me proporcionaram a oportunidade de conhecer novos medicamentos e produtos de saúde e bem-estar, alguns dos quais prestes a serem colocados no mercado, para além de propiciar uma melhor familiarização daqueles que já se encontram comercializados.

2.4 Ameaças (*Threats*)

2.4.1 Medicamentos indisponíveis

Os medicamentos, por diversas circunstâncias, não estavam disponíveis para aquisição, por estarem esgotados ou rateados, casos em que estão disponíveis, mas são fornecidos em quantidade reduzida.

Trata-se de uma realidade que não é fácil solucionar e que causa algum transtorno aos utentes, visto que muitos destes medicamentos são imprescindíveis, e, nalgumas situações, insubstituíveis, pelo que considero a indisponibilidade de medicamentos como uma ameaça à Saúde da população que a Farmácia serve.

2.4.2 Contacto reduzido com outros profissionais de saúde

A manutenção de uma ligação próxima entre o farmacêutico e outros profissionais de saúde, especialmente médicos de família, médicos especialistas e médicos veterinários, é de extrema importância, dado que, por diversas ocasiões no dia-a-dia da Farmácia, é necessário contactá-los pelos mais variados motivos, nomeadamente para esclarecimento de dúvidas acerca das prescrições ou em algumas situações de referência clínica, fruto do acompanhamento farmacêutico decorrente na Farmácia.

No entanto, existiram poucas instâncias em que pude dialogar diretamente com outros profissionais de saúde durante o estágio; alguns utentes lamentaram, em vários momentos, a sua dificuldade em marcar consultas junto do seu médico de família, o que constitui uma ameaça, pois é impraticável sugerir a doentes crónicos ou a utentes cuja situação seja de maior gravidade que necessitem de cuidados médicos para se dirigirem ao seu médico de família.

Reforço que, para que seja assegurada a Saúde e o bem-estar dos cidadãos em geral, de forma a que todas as suas necessidades sejam atendidas e para que haja maior segurança no aviamento de prescrições médicas, com minimização de constrangimentos para o utente, a absoluta necessidade de coordenar e de incentivar o diálogo e proximidade entre todos os profissionais de saúde dentro do Sistema de Saúde.

3. Casos Práticos

Caso Prático I

Uma utente dirigiu-se à farmácia para adquirir a sua medicação habitual, solicitando, adicionalmente a medição do valor de triglicéridos. Após uma breve conversa com a utente, com dislipidemia diagnosticada há algum tempo (a utente não precisou quando), foi efetuada a sua determinação, obtendo-se um valor de 181 mg/dl. De seguida, foi explicado à senhora que, idealmente, o valor dos triglicéridos deveria estar abaixo de 150 mg/dl, tendo sido aconselhada a efetuar pequenas mudanças no estilo de vida, de modo a reduzir o nível sérico de triglicéridos (12) – para a auxiliar, foi-lhe facultado um guia contendo medidas alimentares e algumas medidas não farmacológicas, elaborado após uma breve pesquisa bibliográfica, que se encontra reproduzido no Anexo I (11, 12).

Caso Prático II

S.C., utente de 82 anos, dirigiu-se à farmácia, durante os meses de janeiro e junho de 2022, para medir a pressão arterial (PA) – os registos foram apontados num cartão fornecido ao utente, tal como no programa Sifarma 2000®. As medições de PA estão indicadas na tabela abaixo.

Tabela I – Registos de Pressão Arterial Sistólica e Diastólica do utente S.C.

	Pressão Arterial Sistólica	Pressão Arterial Diastólica
1ª medição	177 mmHg	60 mmHg
2ª medição	177 mmHg	50 mmHg
3ª medição	180 mmHg	56 mmHg
4ª medição	173 mmHg	53 mmHg

O utente foi incitado a trazer consigo todos os seus medicamentos, de modo a que fosse possível conhecer o seu perfil farmacoterapêutico. Após uma breve entrevista ao utente, efetuei o preenchimento do quadro de acompanhamento farmacoterapêutico, semelhante aos que já tinha completado em algumas disciplinas do MICEF, que está apresentado no Anexo II (10, 12, 13).

A Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC) recomenda, como valores-alvo de pressão arterial em doentes idosos (> 80 anos) 130–139 mmHg de PA sistólica e < 80 mmHg de PA diastólica, caso seja tolerado (10). Tendo em conta todos os dados anteriormente constados, informou-se S.C. de quais os valores de PA ideais e aconselhou-se o utente a contactar o seu

médico. Posteriormente, o utente consultou o seu cardiologista, que modificou a dose de Altensil[®], de 5 mg de amlodipina e 8 mg de candesartan para 5 mg/16 mg, respetivamente. Face a esta alteração, verificou-se uma ligeira descida da sua pressão arterial sistólica, mas ainda não estava dentro da faixa de valores recomendados.

Concluo frisando que, dado o término do estágio, não me é possível descrever qual o *outcome* do presente caso; no entanto, julgo pertinente inclui-lo no relatório, dada a possibilidade que tive de aplicar conhecimentos transmitidos durante o estágio e no MICF.

Caso Prático III

Uma senhora dirigiu-se à Farmácia, pedindo um medicamento para tratar o que suspeita ser uma infeção urinária na sua filha adolescente, de 16 anos de idade. Inicialmente, foi indicado que os antibióticos são MSRM, podendo apenas ser dispensados perante a apresentação da respetiva prescrição médica. Apontou-se ainda que, na sua situação, a opção mais racional é dirigir-se a um centro de análises clínicas para fazer análises à urina, de forma a que possa confirmar a presença de uma infeção urinária, e só depois deve procurar uma consulta médica, para eventual prescrição do antibiótico mais adequado e tratamento dos sintomas.

Por fim, foi aconselhado um suplemento alimentar à base de arando vermelho (Cranfort[®]), visto estar bem demonstrada a sua eficácia no alívio dos sintomas de desconforto urinário, sendo reforçada a ideia que, apesar do alívio sintomático, não tem o mesmo efeito que um antibiótico. A posologia recomendada foi 2 cápsulas por dia, e como medidas não farmacológicas, foi aconselhada a aumentar a ingestão diária de água e a manter uma adequada higiene íntima.

Caso Prático IV

Uma senhora, de 50 anos, dirigiu-se à farmácia, alegando que um dos medicamentos que tinha recentemente iniciado lhe provocou lesões nos olhos e boca. Tinha-lhe sido prescrito, pelo seu neurologista, sertralina 100 mg, com a posologia de meio comprimido durante uma semana, passando a tomar um comprimido inteiro após uma semana. Dois dias após o começo do tratamento com a sertralina, foi-lhe prescrito por um médico de clínica geral azitromicina (embalagem de três comprimidos), devido à presença de sintomas de rinite e sinusite (1 comprimido por dia durante três dias). Uma semana após o início da toma de sertralina, surgiram as referidas lesões no canto dos olhos e da boca, a que a utente referiu

como “altos”. Posteriormente, voltou ao neurologista, que subentendeu que as lesões se tratavam de um possível efeito secundário da sertralina, substituindo-a por Nodepe® (fluoxetina, 20 mg). No entanto, devido ao facto das referidas lesões persistirem, a utente recorreu a um médico particular, que lhe prescreveu Lepicortinolo® (prednisolona, 20 mg), com posologia inicial de três comprimidos por dia, com desmame de três em três dias até terminar a embalagem de vinte comprimidos. A utente dirigiu-se então à farmácia, referindo que, apesar de notar melhoria, ainda sentia dores na zona das referidas lesões especialmente ao acordar.

Perante todos estes dados, uma vez que a reação adversa (RAM), provocada pela sertralina ou azitromicina não estavam descritas no RCM, foi efetuada uma notificação ao Sistema Nacional de Farmacovigilância, através do sítio da *Internet* disponibilizado para esse efeito (<https://www.infarmed.pt/web/infarmed/portalam>). Uma cópia da notificação submetida encontra-se reproduzida no Anexo III. Posteriormente, a Unidade de Farmacovigilância de Coimbra, enviou, por *email*, uma resposta à notificação submetida, tendo sido atribuída a casualidade “Possível: RAM que ocorre com uma relação temporal aceitável, mas que pode ser explicada por outros fatores”. Neste sentido, relembro os graus de causalidade atribuíveis a notificações de RAMs: Definitiva, Provável, Possível, Improvável, Não Classificada ou Não Classificável (14).

Caso Prático V

Uma senhora dirige-se à farmácia com o objetivo que adquirir medicação para um familiar, A.F., utente com 92 anos e sexo masculino, impossibilitado de o fazer. Durante o atendimento, foi detetado um erro na prescrição da receita: o médico havia prescrito Brimica Genuair® em conjunto com uma câmara expansora.

Brimica Genuair® (aclidíneo/formoterol) é um broncodilatador usado como tratamento de manutenção em doentes com doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), cuja forma farmacêutica consiste em pó que deve ser inalado; as câmaras expansoras são dispositivos que devem ser usados em conjunto com inaladores pressurizados e nunca com inaladores de pó, devido à possibilidade de deposição de pó na câmara expansora, pelo que a dose que iria ser administrada não corresponderia à dose pretendida. Após a ter-se alertado a familiar do utente, foi contactado o médico prescritor, que orientou o utente no sentido de continuar o tratamento com Brimica Genuair® sem o auxílio da câmara. Passados alguns dias, a familiar dirige-se novamente à farmácia, referindo que, devido à fraca capacidade inalatória de A.F., o

utente é incapaz de utilizar Brimica Genuair[®]. Por conseguinte, o médico foi novamente contactado, tendo prescrito Symbicort[®], um inalador de suspensão pressurizada, que pode então ser administrado com o auxílio da câmara expansora.

4. Considerações Finais

Ao longo dos últimos meses, constatei que a farmácia comunitária, pela sua elevada acessibilidade, pelo ambiente relativamente familiar e pelo fácil acesso e comunicação com profissionais da farmácia, dotados de elevadas competências técnico-científicas, torna-a num dos espaços de saúde mais procurados pela população. O farmacêutico comunitário, na qualidade de agente de saúde pública, assume um compromisso vital para com a saúde e o bem-estar da população que serve.

A concretização do estágio em Farmácia Comunitária, no culminar do meu percurso académico, revelou-se uma experiência muito positiva, profundamente benéfica, proveitosa e enriquecedora, refletindo um período de crescimento e desenvolvimento pessoal e profissional. Pude vivenciar a realidade da Farmácia e familiarizar-me com os seus métodos de trabalho, para além de ter observado a importância da Farmácia como um espaço de promoção de Saúde. Saliento, sobretudo, a aprendizagem e aquisição de novos conhecimentos e aptidões, muitos dos quais não são passíveis de ser transmitidos em sala de aula, possibilitando consciencializar-me, enquanto futura farmacêutica, da enorme responsabilidade associada a esta profissão altamente prestigiada. Apesar de existirem diversos aspetos que gostaria de ter aperfeiçoado, como a minhas capacidades comunicativas e organizativas, julgo ser possível alcançar estes e outros objetivos com o tempo, prática e experiência.

Termino deixando um sincero agradecimento a toda a equipa da Farmácia São Cosme, por toda a disponibilidade e apoio prestados ao longo desta etapa.

Referências Bibliográficas

- 1 – Decreto-Lei n.º 131/2015. Diário da República n.º 173/2015, Série I (2015)
- 2 – Portaria n.º 594/2004. Diário da República n.º 129/2004, Série I-B (2004), p. 3441 – 3445.
- 3 – AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P. – **Medicamentos manipulados** [Acedido a 17 de julho de 2022]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
- 4 – Despacho n.º 4270-C/2020, Diário da República n.º 69/2020, 3º Suplemento, Série II (2020), p. 2 – 3.
- 5 – AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P. – **Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde**. INFARMED (2019).
- 6 – VALORMED – **Quem Somos**. [Acedido a 17 de julho de 2022]. Disponível em: <https://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
- 7 – VALORMED – **SIGREM**. [Acedido a 17 de julho de 2022]. Disponível em: <https://www.valormed.pt/paginas/9/sigrem>
- 8 – Decreto-Lei n.º 15/93. Diário da República n.º 18/1993, Série I-A (1993), p. 234 – 252.
- 9 – ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos**.
- 10 – EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY – **2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension**. European Heart Journal, nº 39 (2018), p. 3028-3064.
- 11 – CASTILLO, K.P.L., OCHOA, X. C. O., RUIZ, R. G. H – **The Effect of Dietary Interventions on Hypertriglyceridemia: From Public Health to Molecular Nutrition Evidence**. Nutrients, Vol. 14, nº 5 (2022).
- 12 – DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE – **Norma nº 019/2011 Abordagem Terapêutica das Dislipidemias no Adulto**.
- 13 – DAVIES, M., ALESSIO, D., FRADKIN, J. – **Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018**. Diabetes Care. Vol. 14 (2018), p. 2681-2686.
- 14 – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – **The use of the WHO-UMC system for standardised case causality assessment** (2018), p.2.

Anexos

Anexo I – Reprodução do guia com medidas alimentares e não farmacológicas fornecida a utente com hipertriceridémia (Caso Prático I) (11, 12).

ALIMENTOS QUE AUXILIAM A REDUÇÃO DOS TRIGLICÉRIDOS	O QUE DEVE SER EVITADO
Alimentos ricos em fibras, frutas e vegetais	Adição de açúcar em bebidas (como em sumos e em cafés)
Gorduras "boas", como azeite e óleo de sésamo	Comidas processadas (p.e. salsichas, linguiças, presunto, hambúrgueres, fiambre, chouriço)
Peixes	Bebidas alcoólicas
Carnes brancas, como frango, coelho, pato e peru	Consumo de carnes vermelhas como carne de vaca, porco e vitela,
Iogurtes naturais e laticínios magros	Evitar comidas processadas como pizzas, bolachas, bolos e refrigerantes
Arroz e pão integral	Consumo de alimentos frios, como batatas fritas e ovos estrelados
Alho e cebolas	Evitar consumo de alimentos açucarados
Aumentar a ingestão diária de água	Evitar consumo de manteiga e uso de margarina na confeção de alimentos

Outras sugestões:

- Prática de exercício físico: fazer caminhadas com duração de 30 minutos
- Fazer pequenas refeições, não estar demasiado tempo sem comer
- Evitar comer antes do deitar
- Suplementos de ómega-3

Anexo II – Quadro de acompanhamento farmacoterapêutico (Caso Prático II) (10, 12, 13).

Doente: S. C.
 Sexo: F M
 Idade: 82 anos

Acompanhamento Farmacoterapêutico

Problema de Saúde (PS)	Desde (mês/ano)	Medicamento (Med)	Desde (mês/ano)	Regime		Efectivo	Seguro	Resultados Negativos
				Prescrito	Usado			
a Hipertensão Arterial (HTA)	Há > 20 anos	Losartan + Hidroclorotiazida 100 mg/12,5 mg ToLife®	Há > 20 anos	a)	1 + 0 + 1	Não	Sim	HTA não controlada
		Altensil® (Candesatan 8 mg + Amlodipina 5 mg)	março de 2022	a)	0 + 0 + 1	Não	Sim	HTA não controlada, Efeito secundário: retenção de líquidos (amiodipina)
b Perturbações circulatórias	Há 3/4 anos	Trental® 400 mg	Há 3/4 anos	a)	1 + 0 + 1	Não	Não	Efeito secundário: rubor
c Dislipidemia	Há > 20 anos	Pravastatina, 40 mg	Há 5 anos	a)	Dia sim, dia não 0 + 0 + 1	n.d.	Sim	Seguro
d Arritmia	Há 2 anos	Inderal® 10 mg	Há 2 anos	a)	0 + 1 + 0	Não	Não	Insegurança Não é eficaz
e Diabetes Mellitus (Tipo II)	Há > 20 anos	Vipdomet® (Alogliptina 12,5 mg + Metformina 850 mg)	Há 5 anos	a)	1 + 0 + 1	Sim ¹	Sim	Efeito secundário: diarreia
f Prevenção de trombose	Há 3/4 anos	Clopidogrel, 75 mg	Há 3/4 anos	a)	0 + 1 + 0	n.d.	Sim	Seguro
g Apneia de Sono	23/24 anos	-	-	-	-	-	-	-

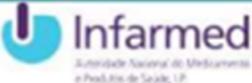
Observações:

a) não foi possível aceder à posologia originalmente prescrita pelo médico

n.d. – não foi possível determinar na Farmácia

¹ Com base nos valores registados na Farmácia → glicémia em jejum (106 mg/dl), o que está dentro dos valores recomendados pela Direção Geral de Saúde.

Anexo III – Cópia da notificação de reação adversa a medicamento dirigida ao Sistema Nacional de Farmacovigilância (Caso Prático IV).

Sistema Nacional de Farmacovigilância - Notificação de Suspeita de Reações Adversas a Medicamentos	
 REPÚBLICA PORTUGUESA SAÚDE	 Infarmed Autoridade Nacional de Medicamentos e Produtos de Saúde, I.P.
Nº de Submissão	Data Submissão
FO- [REDACTED]	07-04-2022
Reações Adversas	
Reação 1	
Descrição da RAM	
lesao nos cantos externos dos 2 olhos e dentro da cavidade oral (a doente descreve como sendo uns "altos")	
Evolução da Reação	Crterios de Gravidade
Em Recuperação	Não grave
Data de Inicio	Data de Fim
02-03-2022	
Duração da Reação	Causalidade
37 Dias	Possível
Descrição do Tratamento	
Substituição da sertralina pela fluoxetina (Nodepe) e foi adicionado prednisolona a 20 mg, com desmame de 3 em 3 dias até acabar embalagem prescrita de 20 comp.	
Medicamentos	
Medicamento 1	
Medicamento	
Sertralina 100mg (Teva) + associação do antibiotico azitromicina possivelmente	
Lote	Tipo de Autorização
Questionado, mas desconhecido	AIM - Autorização de Introdução no Mercado
Data de Inicio	Data de Fim
24-02-2022	07-03-2022
Via da Administração	Dosagem
Oral (via)	100 mg (tendo iniciado com 1/2 comp)
Forma Farmacêutica	Medida Tomada
Comprimido	Suspensão
Indicação Terapêutica	
Depressão	

PARTE B

MONOGRAFIA

Lista de Abreviaturas

AMR – *Antimicrobial Resistance*

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

DNA – *Ácido desoxirribonucleico*

EARS-Net - *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*

EEE – *Espaço Económico Europeu*

EFSA – *European Food Safety Authority*

EPA – *Environmental Protection Agency*

ESC – *European Society of Cardiology*

ETAR – *Estação de tratamento de águas residuais*

IE – *Endocardite infecciosa*

INFARMED – *Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde*

MDR – *Multidrug resistance*

MIC – *Concentração Mínima Inibitória*

PBP – *Proteína de ligação às penicilinas*

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PVE – *Prosthetic Valve Endocarditis*

TGI – *Trato Gastrointestinal*

UE – *União Europeia*

VRE – *Vancomycin Resistant Enterococcus*

Resumo

Enterococcus spp. são um grupo de bactérias pertencentes ao reino *Bacteria*, que incluem cocos Gram-positivos anaeróbios facultativos e tipicamente podem ser encontrados no trato gastrointestinal humano e em muitos outros *habitats*, como solos, água, plantas e em alimentos. Desde a sua primeira descrição no século XIX, a sua classificação taxonómica tem sofrido diversas alterações e, a determinada altura, chegaram a ser classificados como *Streptococci*; atualmente, estão identificadas e descritas mais de cinquenta espécies do género *Enterococcus* e duas das espécies clinicamente e epidemiologicamente mais relevantes, *E. faecalis* e *E. faecium*, são responsáveis por mais de metade das infeções provocadas por este género. Apesar de usualmente serem comensais do organismo humano, já que ocorrem naturalmente na microbiota intestinal, em algumas situações *Enterococci* podem tornar-se patogénicos, através da translocação da parede intestinal e são adicionalmente capazes de produzir vários fatores de virulência, tornando estes microrganismos os agentes etiológicos responsáveis por diversas infeções, incluindo endocardites infecciosas, infeções do trato urinário, entre outras. Muitas destas infeções podem ser adquiridas a nível hospitalar, o que pode contribuir para a disseminação de estirpes multirresistentes a antibióticos, que torna o processo de tratamento mais difícil e mais restrito, já que há menos opções terapêuticas disponíveis, o que pode traduzir-se num aumento das taxas de mortalidade e morbidade. A proliferação de *Enterococci* no meio ambiente e a sua presença numa variedade de hospedeiros animais pode igualmente auxiliar a disseminação de genes de resistência a antibióticos, já que a Saúde Humana, Ambiental e Animal estão interconectadas e são inseparáveis, de acordo com o conceito de *Uma só Saúde*. O objetivo principal deste trabalho é sumarizar as principais características do género *Enterococcus*, proporcionar uma melhor compressão da sua patogenicidade, tal como apresentar os mecanismos desenvolvidos por estas bactérias que lhes permitem resistir a antibióticos, que são frequentemente usados em antibioterapia e discutir ainda o seu presumível impacto e consequências a nível das Saúdes Humana, Animal e Ambiental, assim como a sua importância como bioindicadores de resistência a antimicrobianos, considerando o âmbito do conceito de *Uma só Saúde*.

Palavras-Chave: *Enterococcus* spp., Bioindicadores, Resistência a Antimicrobianos, Patogenicidade, Infeções Nosocomiais, Saúde Pública.

Abstract

Enterococcus are a group of bacteria belonging to the *Bacteria* domain that include facultative anaerobic Gram-positive cocci and can typically be found in the human gastrointestinal tract and across many other habitats, such as soil, water, plants and foods. Since they were first described in the 19th century, their taxonomical classification has suffered many changes and, at one point, they were classified as *Streptococci*; currently, the *Enterococcus* genus has more than fifty species identified and described and two of the most clinically and epidemiologically relevant species, *E. faecalis* and *E. faecium*, are thought to be responsible for more than half of the infections provoked by this genus. Although usually commensal in the human body, since they occur naturally in the intestinal microbiota, in certain situations *Enterococci* can become pathogenic, through translocation of the intestinal wall and are additionally capable of producing many virulence factors, making these organisms the etiological agents responsible for many infections, including infective endocarditis, urinary tract infections, among many others. Many of these infections can be hospital-acquired, which can help spread multidrug-resistant strains, making the treatment process more difficult and more restricted, considering that there are less therapeutical options available, which could translate into higher mortality and morbidity rates. The widespread of *Enterococci* in the environment and their presence in a variety of animal hosts could also help spread antibiotic-resistant genes, since Human, Environmental and Animal Health are interconnected and inseparable, according to the *One Health* concept. The main aim of this paper is to summarize the main characteristics of the *Enterococcus* genus, providing a better understanding of their pathogenicity, as well as present the mechanisms developed by these bacteria that allow them to resist to antibiotics that are often used to treat patients, further discuss their presumed impact and consequences on Human, Animal and Environmental Health, and their importance as bioindicators of antibiotic resistance, taking into consideration the scope of the concept of *One Health*.

Keywords: *Enterococcus* spp., Bioindicators, Antimicrobial Resistance, Pathogenicity, Nosocomial Infections, Public Health.

1. Introdução

O género *Enterococcus* encontra-se classificado no grupo de bactérias anaeróbias facultativas de Gram-positivo, fazendo parte da microbiota gastrointestinal do Homem e animais (2). Apesar de serem bactérias comensais, encontram-se associadas a infeções nosocomiais causadas por estirpes multirresistentes (MDR), particularmente as que apresentam perfil de resistência aos glicopéptidos (3). No final da década de 80, Uttley *et al.* (1988) reportaram pela primeira vez estirpes de *Enterococcus* resistentes à vancomicina, um antibiótico glicopéptido de uso exclusivo hospitalar, designadas de VRE (27). Atualmente, é do conhecimento da comunidade científica que *Enterococcus* spp. apresentam uma elevada plasticidade genómica, que lhes permite a captação e transferência horizontal de elementos genéticos móveis (EGM), portadores de diversos genes de resistência a diferentes classes de antimicrobianos, o que constitui um risco em ambiente hospitalar, nomeadamente para doentes imunocomprometidos, traduzindo-se em elevadas taxas de mortalidade e morbilidade provocadas por estirpes de *E. faecium* e *E. faecalis* resistentes aos glicopéptidos (28). Pelas razões atrás expostas, *Enterococcus* spp. são considerados patógenos oportunistas, sendo responsáveis por infeções severas ao nível do trato geniturinário, infeções intra-abdominais, endocardites, entre outras (4, 5); é neste enquadramento que a nível internacional as estirpes VRE são classificadas como de elevada prioridade para a descoberta de novos antimicrobianos (29). Porquanto, devido à capacidade e facilidade de *Enterococcus* spp. na captação e transferência de EGM portadores de genes de resistência a antimicrobianos (AMR), assim como a sua disseminação por diferentes ambientes, é de suma importância a sua monitorização, enquanto bioindicadores para o estudo do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, no conceito de *Uma só Saúde* (19, 25).

Este trabalho, através de uma revisão da bibliografia disponível, pretende contribuir para uma maior e melhor compreensão sobre a importância da monitorização da suscetibilidade antimicrobiana em *Enterococcus* spp. no contexto de *Uma só Saúde*.

2. Género *Enterococcus*

No final do século XIX, Thiercelin descreveu um grupo de bactérias saprófitas Gram-positivo, que habitavam no intestino delgado humano, propondo a designação de “Enterocoque” para a sua classificação (7). Em 1899, MacCallum e Hastings identificaram um microrganismo semelhante, responsável por um caso fatal de endocardite infecciosa, a que designaram por *Micrococcus zymogenes* e procederam ao estudo das suas características bioquímicas, sendo, deste modo, responsáveis pela primeira descrição detalhada do potencial

patogénico deste agente etiológico – atualmente, encontra-se documentado que se tratava de *Enterococcus faecalis* (7). Em 1906, Andrewes e Horder isolaram, a partir de um doente com endocardite, um outro microrganismo de origem fecal, que designaram de *Streptococcus faecalis* (7); Em 1919, Orla-Jensen, a partir de leite coagulado, isolou e caracterizou uma outra bactéria, que designou de *Streptococcus faecium*, cujas propriedades fermentativas eram diferentes de *S. faecalis* (7). Em 1939, Sherman e Wing descrevem *Streptococcus durans*, pelo que foi proposta a divisão do género *Streptococcus* spp. em quatro grupos: *pyogenic*, *viridans*, *lactic* e *Enterococcus* (7). Este último grupo incluía microrganismos que cresciam a temperaturas que variavam entre 10 e 45°C, sobrevivendo até 60°C por um período de 30 minutos e resistiam a pH 9,6 e concentrações de NaCl até 6,5% (7) – desta forma, foram primeiramente classificados como Estreptococos do Grupo Serológico D, de acordo com a classificação de Lancefield (1, 4). Todavia, em 1970, Kalina propôs, com base em características fenotípicas, a criação do táxon *Enterococcus*, que só foi aceite em 1985 após extensos estudos de hibridização de ácidos ribonucleicos, permitindo concluir que estes microrganismos diferiam significativamente do género *Streptococcus*, tendo poucas características genéticas em comum, passando assim a ser classificados como *Enterococcus* spp. (1, 7). Hoje em dia, este género engloba mais de cinquenta espécies, oriundas de trato gastrointestinal de animais, tanto de mamíferos, como de invertebrados e ambiente (4). Um estudo publicado em 2017 apontou que o último ancestral comum do género *Enterococcus* e do género *Streptococcus* terá existido há aproximadamente 425 milhões de anos (5).

Enterococcus spp. são cocos Gram-positivo, classificados no Reino *Bacteria*; Grupo *Terrabacteria*; Filo *Firmicutes*; Classe *Bacilli*; Ordem *Lactobacillales* e Família *Enterococcaceae* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>). Quanto à forma classificam-se como cocos e normalmente são catalase negativa, podendo exibir atividade hemolítica alfa, beta ou gama em gelose de sangue, contudo, existem autores que descrevem a existência de espécies portadoras da enzima catalase (6, 7). *Enterococci* são anaeróbios facultativos: efetuam respiração celular em meios ricos ou pobres em oxigénio (6); não produzem esporos e, microscopicamente, as células podem apresentar-se agrupadas em pares ou em cadeias curtas, ou isoladas (1). De uma forma geral, a maior parte são homofermentativos, visto que o ácido láctico é o produto final da fermentação da glicose (7). Algumas espécies apresentam mobilidade, como é o caso de *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*, e uma outra característica é a presença de pigmentação: as espécies *E. sulfureus*, *E. casseliflavus* e *E. mundtii* podem adquirir uma pigmentação amarelada, sendo muitas destas espécies frequentemente encontradas em plantas (7).

Devido às suas características morfológicas e biológicas, *Enterococci* apresentam elevada capacidade de resistência e de sobrevivência no trato gastrointestinal e no ambiente, podendo facilmente colonizar novos hospedeiros, provocando infecções a nível do trato gastrointestinal, do trato geniturinário e endocardites (1, 24).

Clinicamente, dentro do género *Enterococcus* spp., destacam-se as espécies de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, que também são as mais comumente encontradas na microbiota gastrointestinal (3). De acordo com a análise da EARS-Net (*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*), que reportou os dados de hospitais e instituições de saúde de trinta países europeus entre o período entre 2015 e 2019, 4,5% das resistências reportadas foram provocadas por estirpes de *E. faecium* e 6,8% por *E. faecalis* (8).

2.1 Patogenicidade

Enterococcus spp. são portadores de diversos fatores de virulência, mecanismos que permitem a sua sobrevivência perante ameaças extrínsecas, que os torna poderosos agentes de infecções nosocomiais graves (30).

Para que ocorram infecções por *Enterococci*, estes terão que superar várias barreiras, de forma a colonizarem o trato gastrointestinal (TGI): inicialmente, são obrigados a competir com outros microrganismos comensais, além de terem de conseguir ultrapassar diversas barreiras imunitárias, que englobam as defesas naturais do organismo hospedeiro, como a presença de bílis e pH gástrico, ambos fatores adversos para a maior parte dos microrganismos, e só posteriormente conseguirão colonizar o TGI e replicarem-se (5). Quando a sua taxa de replicação atinge valores elevados, *Enterococcus* spp. tornam-se patogénicos, o que resulta da sua passagem do lúmen intestinal para a circulação sanguínea, nódulos linfáticos, ou para órgãos vitais como o fígado ou o baço, podendo originar situações clínicas severas (1, 30).

O mecanismo pelo qual se dá a translocação para a corrente sanguínea ainda não está totalmente esclarecido, no entanto, é sugerida a possibilidade de *Enterococci* serem fagocitados por células epiteliais, células dendríticas ou por outros leucócitos presentes em tecidos, que irão transportá-los através da parede intestinal para o sistema linfático adjacente (5). Entre os principais fatores de virulência associados a *Enterococcus* spp. destacam-se (1, 16):

1. Citolisina (CylLLLSM): atividade hemolítica e bactericida contra bactérias Gram-positivas, exibindo uma função relevante na progressão da infeção enterocócica (16);

2. Proteína superficial enterocócica (Esp): evasão às defesas imunes (16);
3. Substância de agregação (Agg): agregação de microrganismos no local da infecção (16);
4. Ace e Acm, respectivamente identificadas em *E. faecalis* e *E. faecium*, e a proteína EfaA em *E. faecalis*: ligação específica a células do epitélio intestinal e renal (1);
5. Proteases e Gelatinase (GelE): hidrólise da hemoglobina e outros péptidos, podendo ser consideradas fatores com ação pró-inflamatória (16);
6. Feromonas Cob e Ccf; transferência de plasmídeos portadores de genes de resistência antimicrobiana (16);
7. Produção de superóxido extracelular: aparentemente, estará relacionada com um aumento da capacidade dos *Enterococci* se translocarem através do epitélio intestinal (1).

Um estudo realizado por Warr (2004), que investigou a incidência de fatores de virulência enterocócicos a partir de isolados de pacientes com transplantes de fígado, sugeriu a possibilidade da citolisina e da substância de agregação poderem estar associadas à ocorrência de infecções, pois a sua frequência era mais elevada em produtos hemáticos, enquanto que a proteína Esp estaria envolvida em processos de colonização e disseminação, devido à sua elevada frequência em fezes (30). A Figura 1 esquematiza alguns dos fatores de virulência anteriormente descritos e o seu respetivo mecanismo de ação (30).

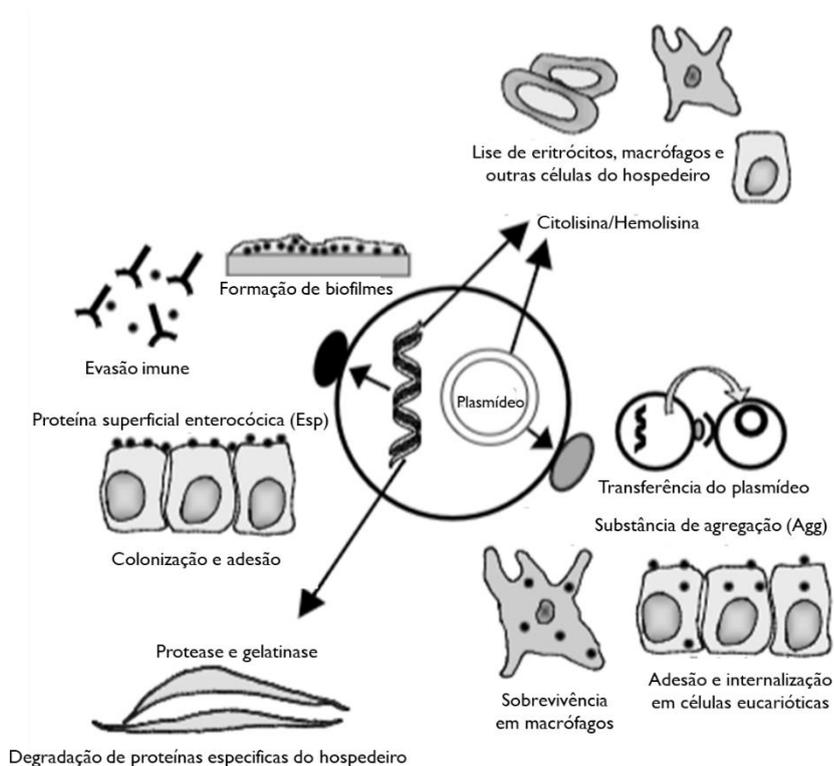


Figura 1 – Fatores de virulência em *Enterococcus* e os seus mecanismos de patogenicidade (30).

3. Epidemiologia de infecções associadas a *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*

Tal como discutido anteriormente, *Enterococci* podem permanecer durante longos períodos de tempo no ambiente, em animais e no Homem, podendo facilmente disseminar-se e invadir diversos organismos e provocar infecções (1, 10). Nas últimas décadas, têm sido realizados diversos estudos observacionais, epidemiológicos e clínicos, que ilustram a emergência de infecções associadas a *Enterococci* (10). Em 2012, *E. faecalis* era o agente etiológico responsável por 80%–90% das infecções enterocócicas, enquanto que *E. faecium* era responsável por somente 5–10% das infecções (34). Porém, atualmente assiste-se a um aumento do número de estirpes de *E. faecium* isolados a partir de várias amostras clínicas (8, 34).

O aumento da incidência de infecções causadas por *Enterococcus* spp. aumenta a necessidade de uso de diferentes antibióterapias (1), o que, associada à resistência intrínseca a diferentes agentes antimicrobianos (10), tem como consequência o surgimento de *Enterococci* resistentes a antibióticos, resistências essas que podem ser intrínsecas ou adquiridas (1). *Enterococci* foram uma das principais causas de infecções cirúrgicas em unidades de cuidados intensivos nos Estados Unidos e, entre 1989 e 1999, a percentagem de estirpes resistentes à vancomicina aumentou de 0% para 25,9% (1).

O Sistema Europeu de Vigilância de Resistência Antimicrobiana (EARS–Net) reúne os dados reportados a partir de laboratórios microbiológicos de trinta países da UE e do Espaço Económico Europeu (EEE) e, entre o período 2015–2019, foram registados 13.368 (53%) isolados de *E. faecalis* com alto nível de resistência à gentamicina e 16.432 (99%) isolados de *E. faecium* com alto nível de resistência à vancomicina (8). De acordo com o mesmo relatório, 26,6% de isolados (percentagem calculada com base no número de habitantes da UE/EEE) de *E. faecalis* apresentavam elevados níveis de resistência à gentamicina, observando-se, no entanto, um decréscimo em comparação com o relatório de 2015, referente ao período 2012–2015, cuja percentagem foi 31,9% (8). Todavia, verificou-se um aumento da percentagem de isolados de *E. faecium* de alto nível de resistência à vancomicina, aumentando de 10,5% em 2015 para 18,3% em 2019 (Figura 2) (8). No que respeita a *E. faecalis*, a resistência à vancomicina é relativamente baixa na maior parte dos países (8, 10). A contínua tendência de subida desde 2016 (Tabela 1) do número de isolados de *E. faecium* portadores de elevada resistência à vancomicina é preocupante e deve ser continuamente monitorizada a nível mundial (8).

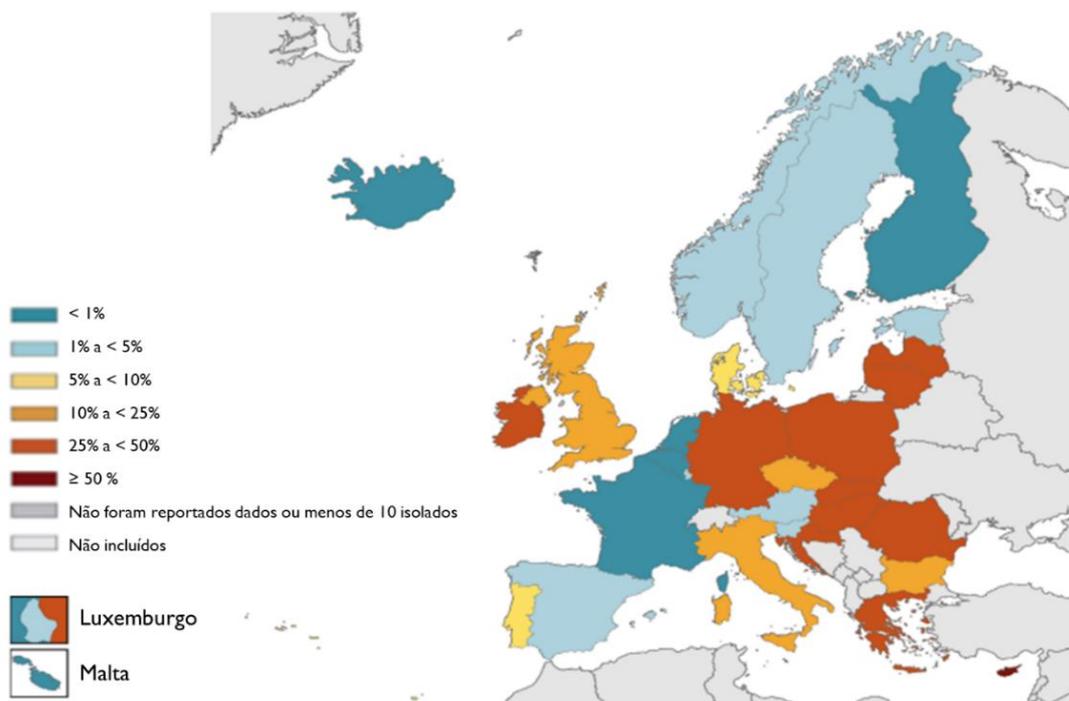


Figura 2 – Percentagem de isolados invasivos de *E. faecium* com alto nível de resistência à vancomicina por país, em 2019 (8).

Tabela I – Percentagem e número de isolados de *E. faecium* invasivos portadores de elevado nível de resistência à vancomicina, entre 2016 e 2019, nos países da EU/EEE (8).

2016		2017		2018		2019	
n° isolados	% resistência						
12.511	12,3%	14.213	14,9%	15.992	17,3%	16.432	18,3%

3.1 Manifestações clínicas

Entre as estirpes mais patogênicas e potencialmente causadoras de infecções severas encontram-se *E. faecalis* e *E. faecium*, sendo que a sintomatologia e tipo de manifestações clínicas associadas podem variar de caso para caso, existindo, adicionalmente, a possibilidade de coinfeção com outros agentes patogênicos, o que pode dificultar a definição de qual o agente etiológico responsável (1). Particularmente, *Enterococcus* spp. pode originar infecções urinárias e endocardites, conforme apontado anteriormente, entre outras descritas na literatura científica (4).

3.1.1 Infecções do trato urinário

E. faecalis e *E. faecium* encontram-se entre os agentes etiológicos mais frequentemente isolados em infecções do trato urinário, observando-se uma maior incidência em indivíduos debilitados, ou algaliados, que se encontram em ambiente hospitalar, onde as estirpes

circulantes são portadoras de múltiplas resistências aos antimicrobianos, podendo levar a coinfeções com outros agentes etiológicos, que pode agravar o quadro clínico do doente (22). Um estudo sistemático realizado por Krawczyk *et al.* (2021) descreve que *E. faecalis* produz fatores de virulência que aumentam o potencial patogênico de *Proteus mirabilis*, dando nota ainda que uma coinfeção por ambos pode destruir tecidos do trato urinário e originar bacteremia (2).

Enterococcus spp. são responsáveis por cerca de 7–25% das infecções urinárias mais complicadas, sendo os segundos agentes etiológicos mais frequentes de infecções urinárias graves, a seguir a *Escherichia coli* (17). As manifestações clínicas resultantes da colonização do trato urinário por *Enterococci* podem variar entre bacteriúria assintomática, ou evoluir para uma infecção urinária, podendo surgir cistites e prostatites, sendo a maioria adquiridas em ambiente hospitalar (17). A bacteriúria pode levar à imunossupressão, aumentando o risco de infecção por outros microrganismos, o que significa que o tratamento da bacteriúria com agentes antimicrobianos pode prevenir infecções urinárias recorrentes (17). No entanto, o tratamento de bacteriúria assintomática provocada por *Enterococci* poderá incrementar a recorrência de infecções urinárias provocadas por outros patógenos (17). Outros estudos evidenciam que algumas das suas estirpes podem afetar o trato urinário superior, podendo provocar pielonefrite, contudo, não existe evidência de que a pielonefrite provocada por *Enterococcus* spp. esteja associada a bacteremia (17, 22). Vários autores enumeram diversos fatores de risco que podem prever complicações em pacientes com infecções urinárias provocadas por *Enterococci*, sendo eles: a diferença de gênero, pois a prevalência de complicações em indivíduos do gênero masculino é duas vezes superior aos do gênero feminino (17); presença de algiação, devido à possibilidade de formação de biofilmes bacterianos (22); tratamento prévio com antibióticos (17); tumores no sistema urinário, pois é improvável a translocação de agentes microbianos em indivíduos sem qualquer lesão epitelial (17).

3.1.2 Endocardites

O gênero *Enterococcus* está descrito como a terceira principal causa de endocardites infecciosas (IE), depois de organismos dos gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*, e é definida como uma infecção no tecido do miocárdio, cuja causa etiológica é, por regra, um agente microbiano (9). A IE provocada por *Enterococci* está associada a altos níveis de morbidade e mortalidade, e, na maior parte dos casos, exige tratamento com pelo menos dois compostos antimicrobianos (31).

Cerca de 5%–20% das endocardites enterocócicas ocorrem em válvulas cardíacas e cerca de 6%–7% em válvulas prostéticas, sendo a quinta causa mais comum de endocardites em válvulas prostéticas (PVE), que é classificada como a forma mais severa de endocardite (9, 31). Prevê-se que a incidência de IE possa vir a aumentar devido ao envelhecimento generalizado da população, com provável aumento na prevalência de doenças valvulares (1). A endocardite infecciosa é mais frequente em homens (57% a 73%) e em indivíduos com idades superiores a 60 anos de idade, havendo uma maior suscetibilidade em indivíduos com doenças valvulares pré-existentes, sendo raramente observadas em crianças e jovens (9).

Megran (1992) referiu que 14–70% dos casos de endocardite infecciosa tinham origem no trato geniturinário, sugerindo como possíveis causas: doenças de origem ginecológica ou obstétrica, infecções ou pequenos procedimentos cirúrgicos, referindo que, de uma forma geral, os dois últimos fatores eram a causa mais comum de colonização por *Enterococci*, enquanto que distúrbios do foro gastrointestinal foram atribuídos a cerca de 3–27% dos casos, podendo ter origem em doenças ou em cirurgias que envolvam as vias biliares (9). A duração da endocardite pode variar entre um mês e meio a cinco meses e, em indivíduos com insuficiência cardíaca congestiva foi descrita a possibilidade de ocorrência de endocardite enterocócica (13%–44% dos casos), a que se sucedem situações de intervenção para substituição das válvulas cardíacas (9, 31).

O tratamento de endocardite enterocócica envolve a administração de antimicrobianos, contudo, devido às resistências intrínsecas e ao aumento de resistências adquiridas, existe uma dificuldade acrescida em definir um esquema terapêutico eficaz (9). Diversos estudos *in vitro* e clínicos evidenciaram que a combinação de um aminoglicosídeo com penicilinas, ou vancomicina (anti-parietais) demonstrava maior eficácia, relativamente à monoterapia (31). Na década de 90, administrava-se, simultaneamente, penicilina G e estreptomicina para tratamento da IE (9). No entanto, atualmente já não é administrada penicilina G no tratamento de endocardite provocada por *Enterococcus* spp., apenas em IE provocadas por *Streptococcus*, de acordo com a *guideline* da Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC) (9, 31).

De uma forma geral, a endocardite enterocócica requer administração prolongada de antimicrobianos (até seis semanas em indivíduos adultos), geralmente uma combinação entre dois antimicrobianos anti-parietais eficazes (ampicilina e ceftriaxona), ou um anti-parietal associado a um composto aminoglicosídeo (31). A combinação sinérgica vancomicina–gentamicina é mais eficaz em estirpes de *Enterococcus* spp. do que vancomicina–estreptomicina, no entanto, a administração de vancomicina apenas é recomendada em pacientes onde

previamente foram observadas reações anafiláticas ou hipersensibilidade severa a penicilinas (9, 31).

A resistência à gentamicina é frequente, tanto em *E. faecalis* como em *E. faecium* (31). A ESC recomenda a administração de gentamicina com antibióticos antiparietais, como amoxicilina, no tratamento de IE, no entanto, a gentamicina nunca é administrada isoladamente, pois *Enterococcus* não têm a cadeia de eletrões completa, logo a gentamicina não se irá ligar ao local alvo, sendo obrigatória a administração conjunta com um antibiótico anti-parietal (3, 31). No caso de estirpes com elevada resistência à gentamicina (concentração mínima inibitória (MIC) > 500 mg/L), considera-se a administração de estreptomicina, que deverá ser administrada por via intramuscular (im), enquanto a gentamicina pode ser administrada por via intravenosa (iv) ou por via im (31). Na Tabela 2 encontram-se discriminados os esquemas terapêuticos recomendados pela ESC para tratamento de endocardite enterocócica, com as doses recomendadas para adultos e as respetivas vias de administração (31).

Tabela 2 – Doses e vias de administração para diferentes esquemas terapêuticos visando sinergias entre agentes antimicrobianos no tratamento de endocardite enterocócica, de acordo com a *guideline* de 2015 da ESC (31).

Antibióticos	Dose recomendada e via de administração
Amoxicilina + Gentamicina	200 mg/kg/dia iv em 4-6 doses + 3 mg/kg/dia iv ou im em 1 dose (respetivamente)
Ampicilina + Ceftriaxona	200 mg/kg/dia iv em 4-6 doses + 4 g/dia iv em 2 doses (respetivamente)
Vancomicina + Gentamicina	30 mg/kg/dia iv em 2 doses + 3 mg/kg/dia iv ou im em 1 dose (respetivamente)

4. Métodos de diagnóstico laboratorial de estirpes de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*

Perante qualquer infeção cuja causa etiológica se suspeite serem agentes microbianos, deve ser realizada a colheita de amostras para posterior análise e identificação laboratorial do agente etiológico (7). No caso de microrganismos do género *Enterococcus*, por regra, as amostras mais comuns correspondem a produtos biológicos como urina, sangue ou líquidos abdominais, e inicialmente pode ser efetuada uma coloração de Gram, a qual apenas permite constatar se se trata de uma infeção por uma bactéria de Gram-positivo ou Gram-negativo (1).

Existem diferenças entre estirpes de *Enterococcus* spp. que têm vindo a ser descritas na literatura, que se devem essencialmente à heterogeneidade apresentada entre espécies, sendo de extrema importância a sua identificação e realização do estudo de suscetibilidade aos antimicrobianos, o que é fundamental não só para o controlo epidemiológico, como também para a seleção de terapêuticas eficazes (12). Assim, de forma a ser possível a confirmação da presença de estirpes de *Enterococcus* spp., podem ser usados diversos métodos para identificar e confirmar a sua presença, desde sistemas automatizados a técnicas de biologia molecular (Tabela 3) (1, 12).

Tabela 3 – Métodos utilizados para diagnóstico laboratorial de estirpes de *Enterococcus* (1).

Sistema	Descrição	Exemplos
Sistemas automatizados	Identificação rápida de <i>Enterococci</i> e testes de suscetibilidade a compostos antimicrobianos.	Galerias API® 20S, API® Rapid ID32 STREP
		Os sistemas <i>Crystal</i> e <i>Crystal rapid Gram positive</i> (BD Biosciences).
		<i>Vitek Gram-positive identification card</i> (bioMérieux).
		<i>Inc</i> e <i>Microscan WalkAway Gram-positive identification panel</i> (Dade Behring).
Métodos de Biologia Molecular	Tecnologias de Reação de Polimerização em Cadeia (PCR convencional ou PCR em tempo real) e métodos de hibridização com utilização de sondas de DNA.	Hyplex BloodScreen ELISA
		AccuProbe <i>Enterococcus</i> genetic probe (Gen-Probe, Inc.).

Habitualmente, utilizam-se meios sólidos enriquecidos, como gelose de sangue (5%) ou meios de cultura seletivos, que permitem a identificação presuntiva do género *Enterococcus*, como Slanetz Bartley Agar e *Enterococcosel*TM, cujos meios de cultura estão ilustrados na Figura 3 (1, 36, 37).

O meio Slanetz Bartley Agar, suplementado com triptose, extrato de levedura, glicose e azida sódica, permite detetar *Enterococci* através do surgimento de colónias rosas/avermelhadas no meio de cultura (Figura 3A) (35). *Enterococcosel*[®] contém componentes que inibem bactérias Gram-negativo, como azida e bilis-esculina, e, após hidrólise, é formada esculetina e glicose (1); a esculetina reage com citrato de ferro, formando um precipitado de

ções de ferro, com coloração preto-acastanhada, em torno das colónias de *Enterococcus* (Figura 3B) (1). Os meios seletivos podem ainda ser suplementados com antimicrobianos, nomeadamente vancomicina, para detetar estirpes VRE (*Vancomycin Resistant Enterococcus*) (1, 13). A Tabela 4 descreve a validação do método no meio *Enterococcosel*[®] e os resultados esperados através da utilização de estirpes-padrão (13).

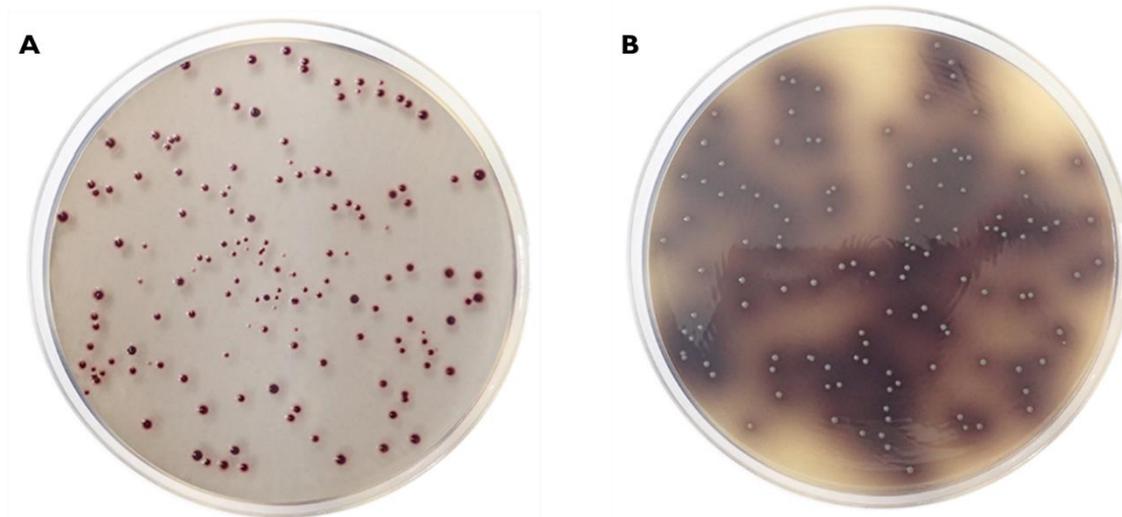


Figura 3 – Colónias de *Enterococcus* spp. em meios seletivos. **(A)** Colónias rosas/avermelhadas observáveis no meio Slanetz Bartley Agar (36). **(B)** Precipitado de cor preto-acastanhado observável no meio *Enterococcosel*[™] (37).

Tabela 4 – Resultados laboratoriais atribuíveis a estirpes de *Enterococci* após crescimento no meio *Enterococcosel*[®], em atmosfera aeróbia, a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 18h a 24h (13).

Estirpes	Resultados observados após o crescimento
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crescimento apreciável a excelente Formação de colónias beges, com fortes halos pretos
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434	

5. Taxas de mortalidade e morbilidade associadas a infeções por estirpes de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*

Dada a possibilidade da gravidade de uma infeção provocada por estirpes hospitalares de *Enterococcus* spp., cuja taxa de transmissão tem vindo a aumentar nas últimas décadas, estima-se que a mortalidade associada a estas infeções seja elevada, apesar da mortalidade poder estar, em parte, relacionada com a pré-existência de outras morbilidades ou comorbilidades (11). A maioria dos estudos subordinados a este tópico são estudos

retrospectivos de coorte, nos quais as taxas de mortalidade reportadas diferem expressivamente de estudo para estudo (11).

Um estudo que decorreu num hospital na Dinamarca tinha como objetivo estabelecer ligação entre o uso inapropriado de antibióticos e taxa de mortalidade em bacteremias provocadas por estirpes de *E. faecium* e *E. faecalis*, tendo sido desenhado um estudo de coorte, que decorreu durante três anos (14) – os autores concluíram que a administração inadequada de antibióticos em pacientes com bacteremias enterocócicas era um fator de risco independente da mortalidade, tendo sido estimado que a taxa de mortalidade por bacteremia provocada por estirpes de *E. faecium* e *E. faecalis* estivesse na ordem dos 19% a 48% (14).

Um outro estudo caso-controlo prospetivo realizado num hospital em Sevilha, Espanha, concluiu que as taxas de mortalidade brutas e relacionadas com bacteremia enterocócica eram semelhantes às respetivas taxas cuja causa etiológica era outro agente bacteriano de Gram-positivo: taxa de mortalidade bruta \leq 44% e taxa de mortalidade relacionada 14% a 24% (11). Os autores do mesmo estudo enumeraram ainda alguns fatores apontados universalmente como indicadores de pior prognóstico, entre eles: idade avançada, pré-existência de patologias e imunodeficiências, cirurgias recentes, uso inapropriado de antimicrobianos e infeções de etiologias polimicrobianas (11).

Uma meta-análise, que compilou dados de vários estudos conduzidos em hospitais europeus entre 2010 e 2020, estimou que a taxa de mortalidade associada a infeções causadas por *Enterococcus* spp. se situava na ordem dos 14,3% e 32,3% (24). Os autores estimaram ainda a taxa de mortalidade provocada por VRE em meio hospitalar que se situava entre 19,1% e 41,35% (24).

6. Mecanismos de resistência bacteriana

Enterococcus spp. são portadores de diversos mecanismos de resistência bacteriana, que se incluem em resistências intrínsecas e adquiridas (5). Geralmente, são intrinsecamente resistentes aos β -lactâmicos, o que está relacionado com a presença de mutações em proteínas de ligação às penicilinas, que se localizam na parede celular, designadas por PBP (*penicilin binding protein*) (1, 6). Também existem evidências de que algumas estirpes de *Enterococcus* spp., como *E. casseliflavus*, são resistentes a baixas concentrações de vancomicina (6). As resistências podem ser adquiridas através de diversos mecanismos: aquisição de genes de resistência aos antibióticos através de plasmídeos ou em transposões conjugativos ou através da ocorrência de mutações espontâneas, que conferem um aumento de resistência (1). Algumas das resistências adquiridas são clinicamente importantes, nomeadamente à penicilina G, aos

glicopéptidos, e aos aminoglicosídeos, que serão discutidas detalhadamente nos capítulos subsequentes (6).

6.1 Penicilinas

As penicilinas são antibióticos produzidas pelos fungos do género *Penicillium*, a partir de culturas de fermentação, estando identificados quatro tipos de compostos (F, G, X e K) e, com base na sua elevada eficácia terapêutica e baixa toxicidade, são considerados dos agentes antimicrobianos mais relevantes do ponto de vista clínico (18). Por regra, apenas têm atividade em microrganismos em crescimento e atuam na fase final da síntese do peptidoglicano, especificamente na fase parietal, que requer a quebra de ligações covalentes (18). Os β -lactâmicos inibem as D-D-carboxitranspeptidases, conhecidas por PBP (*penicillin binding proteins*), localizadas na parte exterior da membrana celular, que promovem a formação de ligações interpeptídicas (Figura 4) (3).

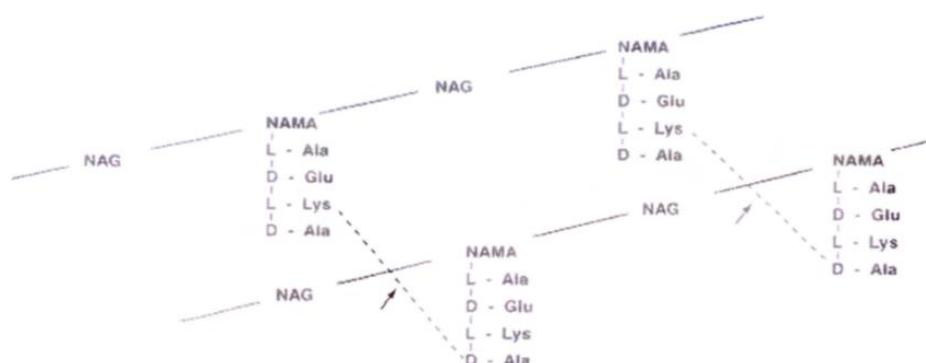


Figura 4 – Inibição da síntese do peptidoglicano por antibióticos β -lactâmicos, assinalada por setas (18).

A penicilina G (Figura 5), por vezes denominada de benzilpenicilina devido à presença do anel aromático, tem elevada atividade contra bactérias Gram-positivo (nomeadamente *Staphylococcus* spp.; *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*; *Clostridium* spp. e *Neisseria* spp.) mas não tem atividade contra bactérias de Gram-negativo e é instável tanto em meio ácido e alcalino, podendo apresentar-se sob forma de sal sódico ou potássico, tendo uma semivida de 5 minutos (a pH 2 e 37°C) (18).

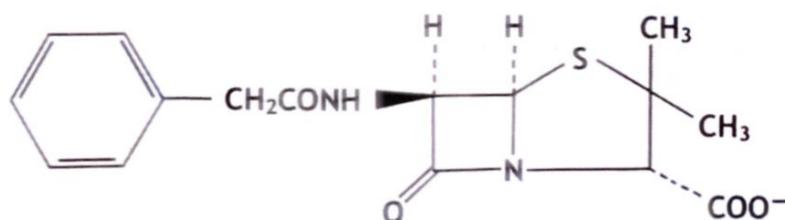


Figura 5 – Estrutura da Penicilina G (18).

A ampicilina é uma penicilina semissintética, que difere da penicilina G pelo facto de possuir um grupo amina no núcleo benzénico na posição alfa (Figura 6), o que lhe confere propriedades anfotéricas, o que não se observa na penicilina G, que tem carga global negativa, devido à presença do grupo COO^- (18).

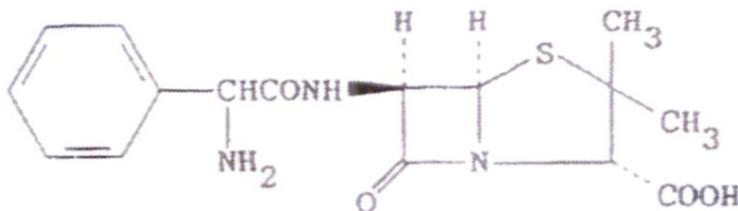


Figura 6 – Estrutura da Ampicilina (18).

Conforme discutido anteriormente, *Enterococcus* spp. apresentam resistência às penicilinas devido à ligação de baixa afinidade destas às PBP, apresentando assim baixa suscetibilidade às penicilinas (6). Por outro lado, são intrinsecamente resistentes às cefalosporinas, pelo que as MICs para ambos os antibióticos anteriormente referidos são mais elevadas em *Enterococcus* spp. do que em outras bactérias de Gram-positivo, apesar dos isolados de *E. faecalis* terem uma MIC para as penicilinas mais baixa do que isolados de *E. faecium* (6). Em *Enterococcus* spp. podem surgir resistências às penicilinas através de três mecanismos (1, 6):

- alterações de sequências de aminoácidos da PBP-5 (1, 6);
- excesso de produção de PBP-5, pelo que será necessária maior concentração de agente antimicrobiano para saturar o seu local ativo (1);
- produção de β -lactamases, embora seja menos frequente (1).

E. faecium possui seis PBPs que podem pertencer à classe A ou à classe B, como é o caso da PBP-5, sendo que a sua expressão está associada a resistências intrínsecas às penicilinas (40). Até meados da década de 90, pensou-se que a resistência a concentrações elevadas de ampicilina em isolados de *E. faecium* se justificava pela existência de polimorfismos na subunidade beta da PBP-5 e/ou pela produção de níveis elevados de PBP-5, mas foi demonstrado que estas alterações eram específicas de cada estirpe, ou seja, não estavam relacionadas com diferenças nos valores da MIC da ampicilina (40). Para além disso, as alterações em 21 posições específicas da PBP-5 poderão explicar a variabilidade entre as sequências de PBP-5, o que sugere que a sua aquisição progressiva de mutações poderá ter contribuído para o aparecimento de resistências à ampicilina (40).

Também já foram identificados isolados de *E. faecalis* e *E. faecium* produtores de β -lactamases (40). Alguns estudos sugerem a possibilidade de terem adquirido o operão β -lactamase a partir de *Staphylococcus aureus*, no entanto, a sua ocorrência é rara em espécies do género *Enterococcus* (3).

6.2 Glicopeptídeos

As resistências aos glicopeptídeos são clinicamente relevantes, considerando que, tal como apontado anteriormente, são um grupo terapêutico frequentemente administrado em doentes com infeções provocadas por *Enterococci* (1, 31). Este grupo terapêutico engloba a vancomicina, administrado exclusivamente a nível hospitalar, a teicoplanina e a avoparcina, outrora muito utilizada em ambiente de produção animal como promotor de crescimento (6, 18).

6.2.1 Vancomicina

A vancomicina ($C_{66}H_{75}Cl_{12}N_9O_{24}$) (Figura 7), devido ao seu elevado peso molecular (1448 daltons), não apresenta atividade em bactérias de Gram-negativo, todavia, tem atividade em bactérias Gram-positivo, como *Staphylococcus* spp., *S. pneumoniae*, *Streptococcus* do grupo *viridans*, *Clostridium* spp., *L. monocytogenes*, *Actinomyces* spp. e *Enterococcus* spp. (18).

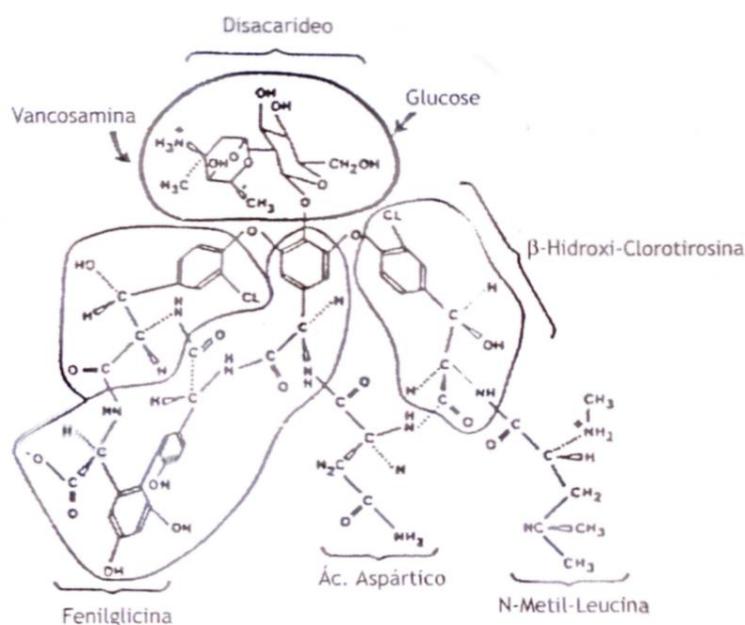


Figura 7 – Estrutura da Vancomicina (18).

Introduzida em 1956, inicialmente era usada para tratar infeções provocadas por estafilococos produtores de β -lactamases, contudo, devido ao desenvolvimento de mecanismos de resistência a antibióticos β -lactâmicos e aos aminoglicosídeos, houve

necessidade de encontrar alternativas terapêuticas, pelo que a vancomicina passou a ser administrada não só para tratar infeções estafilocócicas e enterocócicas, mas também para tratar outras infeções graves provocadas por bactérias de Gram-positivo (3, 18). O INFARMED recomenda a sua administração, entre outras finalidades terapêuticas, para tratamento de endocardites infecciosas, meningites bacterianas agudas, pneumonias adquiridas na comunidade ou no hospital, infeções complicadas em ossos ou em articulações e em bacteriemias associadas a quaisquer das infeções anteriormente mencionadas (32).

A vancomicina apresenta atividade bacteriolítica, inibindo a síntese do peptidoglicano na fase membranar, uma vez que forma complexos com o dipeptídeo D-alanil-D-alanina de NAG-NAMA-pentapeptídeo-(P)-(P)-lipídeo através de ligações hidrogénio e interações de natureza hidrofóbica na interface da membrana citoplasmática e parede celular, impedindo a transferência das unidades recém- sintetizadas para a matriz parietal, o que irá provocar lise da bactéria em crescimento (18). O mecanismo de ação está esquematizado na Figura 8 (18).

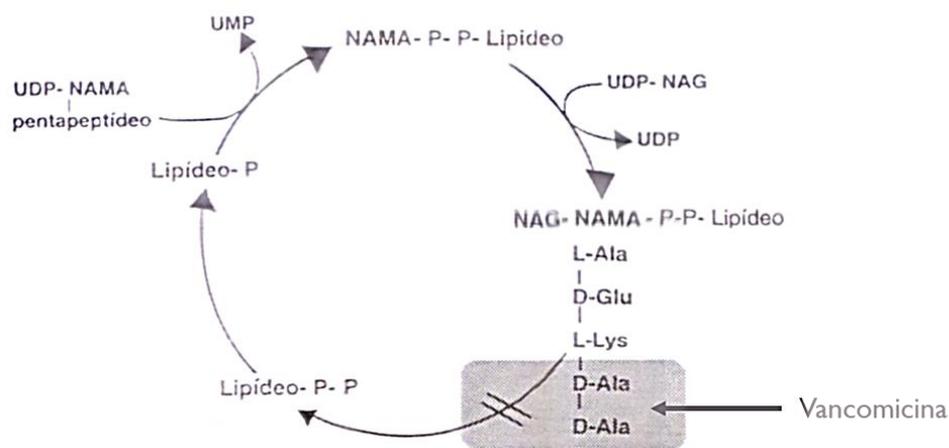


Figura 8 – Mecanismo e local de ação da vancomicina (18).

A resistência à vancomicina é mediada principalmente pelos operões VanA e VanB, que transportam genes com o mesmo nome e que estão inseridos num operão regulado por vários outros genes, que por sua vez é transportado em transposões conjugativos (Tn/546) que estão inseridos em plasmídeos conjugativos, o que permite a transferência horizontal de genes e a sua disseminação (38).

Atualmente estão identificados nove genótipos de resistência à vancomicina: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* e *vanN* (16). No Quadro I encontram-se listados alguns destes genótipos e as suas principais características (18).

Quadro I – Genótipos de resistência à vancomicina (18).

Genótipo	MIC (µg/ml)	Localização	Expressão	Precursor	Espécies
<i>vanA</i>	64-1000	Plasmídeo Cromossoma	Indutível	D-ala-D-Lac	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>
<i>vanB</i>	4-1000	Plasmídeo Cromossoma	Indutível	D-ala-D-Lac	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>
<i>vanC</i>	2-32	Cromossoma	Constitutivo ou Indutível	D-ala-D-Ser	<i>E. casseliflavus</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. flavescens</i>
<i>vanD</i>	64-128	Cromossoma	Constitutivo ou Indutível	D-ala-D-Lac	<i>E. faecium</i>
<i>vanE</i>	16	?	Indutível	D-ala-D-Ser	<i>E. faecalis</i>

O operão VanA, um dos mais reportados globalmente, encontra-se localizado no transposão conjugativo Tn1546, que por sua vez é transportado também num plasmídeo conjugativo (16). A presença de uma transposase e uma resolvase permitem a mobilização do transposão, enquanto que os seguintes genes codificam as proteínas glicopéptideo^R (Figura 9) (18, 39):

- *vanR* e *vanS*: são genes reguladores (16);
- *vanH*, *vanA* e *vanX*: são genes de resistência (16);
- *vanY* e *vanZ*: são genes acessórios (16).

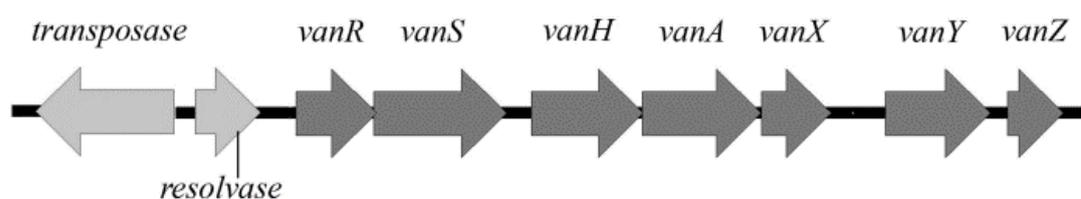


Figura 9 – Estrutura do Tn1546 (39).

O genótipo de resistência *vanB* é um dos mais prevalentes a par com *vanA*, e confere resistência a concentrações modestas ou elevadas à vancomicina (16). Encontra-se localizado no transposão Tn1547, cuja estrutura do operão é similar à do operão VanA, com exceção da presença do gene *vanW* em substituição do gene *vanZ* (16). Encontram-se descritos três operões VanB: VanB₁, VanB₂ e VanB₃, sendo VanB₂ o mais frequente (38).

O genótipo de resistência *vanD*, cujo funcionamento bioquímico é semelhante aos genótipos *vanA* e *vanB*, difere destes últimos pela existência de *vanY* (16).

Os primeiros VRE surgiram em 1986, em estirpes isoladas de *E. faecium* em França e Reino Unido, disseminando-se gradualmente por todo o mundo (18, 27). As estirpes podem permanecer no trato gastrointestinal do indivíduo ou pode ocorrer transferência horizontal de genes, especialmente em ambiente hospitalar ou em unidades de cuidados continuados (3). É também de salientar que a prevalência de resistências à vancomicina em *E. faecium* é mais elevada do que em *E. faecalis* (6, 8).

6.3 Aminoglicosídeos

Estirpes de *Enterococcus* spp. apresentam resistência intrínseca aos aminoglicosídeos, pois a parede celular enterocócica limita o *uptake* do antibiótico (3) – neste sentido, a combinação sinérgica entre um antibiótico β -lactâmico e um aminoglicosídeo é vantajosa, visto que o primeiro interfere na produção da parede celular, o que resulta numa atividade sinérgica, podendo a combinação ser administrada em infeções enterocócicas mais graves (3). Também foi igualmente descrito que *Enterococci* adquiriram genes que conferem elevados níveis de resistência aos aminoglicosídeos, através da produção de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (13, 18) – fosfotransferase-APH, acetiltransferase-AAC, nucleotidiltransferase-ANT (1).

Durante muitas décadas, a estreptomicina (Figura 10) foi o aminoglicosídeo mais utilizado em combinações sinérgicas – obtido a partir de culturas de *Streptomyces griseus*, tem atividade em bactérias Gram-negativo aeróbias e anaeróbias facultativas, mas não tem atividade em bactérias anaeróbias estritas (18).

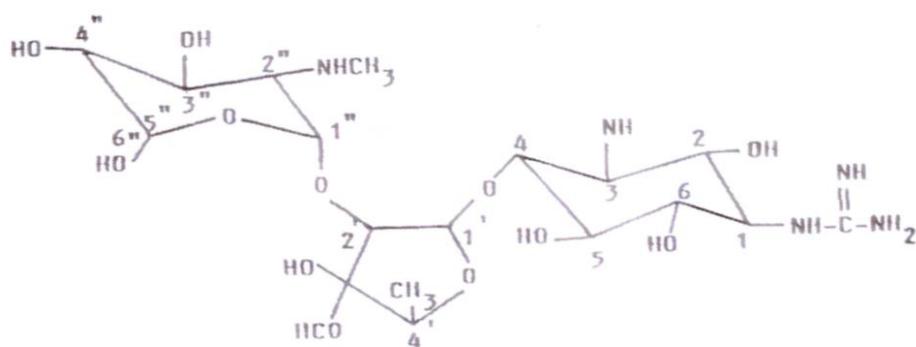


Figura 10 – Estrutura química da estreptomicina (18).

A gentamicina, também um antibiótico pertencente ao grupo dos aminoglicosídeos, é produzida por *Micromonospora purpurea* e é constituída por gentamicina C1, C1A e C2 em proporções semelhantes (Figura 11), tendo sido largamente utilizada no tratamento de endocardites provocadas por *Enterococcus* spp. e em infeções sistémicas graves provocadas por bacilos, pelo que, nos últimos anos, tem-se verificado que o número de estirpes resistentes à gentamicina tem aumentado (18).

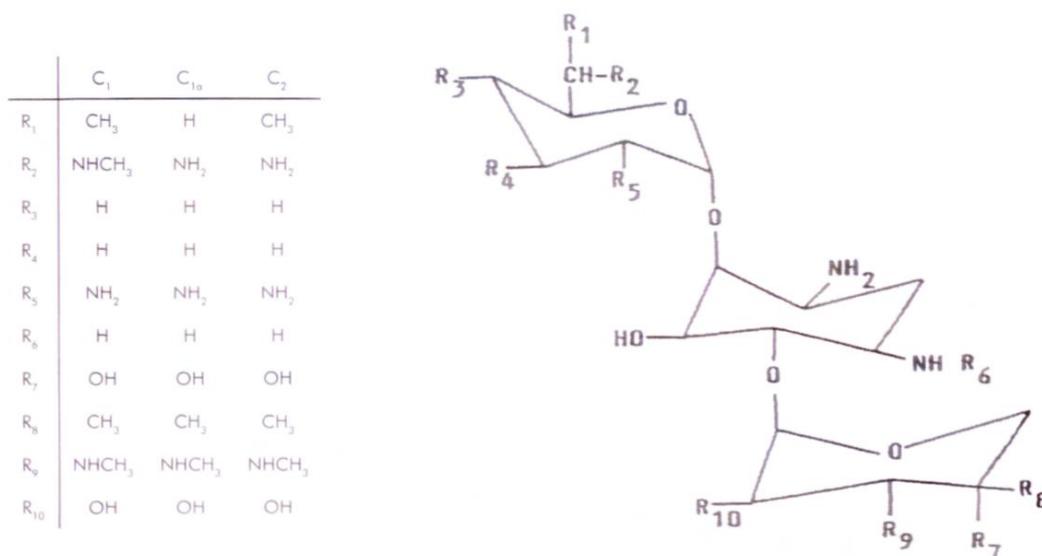


Figura 11 – Estrutura química das gentamicinas C1, C1A e C2 (18).

A estreptomina e a gentamicina, tal como todos os aminoglicosídeos, inibem a síntese proteica que ocorre ao nível do ribossoma, após a passagem através da parede celular, que envolve uma série de etapas: primeiramente dá-se uma interação iónica com os invólucros bacterianos (18); seguidamente, ocorre a ligação aos grupos fosfato dos fosfolípidos, localizados na membrana citoplasmática (18); finalmente, ligam-se a recetores específicos da subunidade 30S dos ribossomas, provavelmente à proteína S12 no caso da estreptomina ou na subunidade 50S, à proteína L6, no caso da gentamicina, que provoca alterações ao nível da síntese proteica (18). A estreptomina bloqueia a síntese proteica na fase inicial de forma irreversível, através da estabilização da subunidade 70S, que é constituída pelas subunidades 50S e 30S ligadas à estreptomina (18).

A resistência à estreptomina ocorre através de mutações dentro de uma proteína específica da subunidade 30S, apesar de ter significado clínico limitado, pois apenas está descrito em *E. faecalis*, *S. aureus* e *M. tuberculosis*, todavia, é relevante no tratamento da endocardite enterocócica, considerando que a estreptomina ainda é administrada em alguns quadros clínicos, conforme foi descrito em 3.1.2 (18, 31). Outro mecanismo alternativo é a produção de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, tendo sido já identificados nove

genes – estas enzimas tem a capacidade de modificar a estrutura molecular dos aminoglicosídeos, através de diversos mecanismos (3):

1. N-acetiltransferase (AAC), que mediam a acetilação de grupos $-NH_2$ usando acetilCoA como dador de acetato (18);
2. O-fosfotransferase (APH), que mediam a fosforilação de grupos $-OH$, usando ATP como dador de fosfato (18);
3. O-nucleotidiltransferases (ANT) (na maioria dos casos, O-adeniltransferases, AAD), que mediam a nucleotidilação dos grupos $-OH$, que utilizam ATP como dador de adenilato (18).

Devido à utilização excessiva da estreptomicina, o surgimento de resistências em diversas estirpes bacterianas resultou no declínio do seu uso, sendo que a gentamicina passou a ser uma alternativa terapêutica à estreptomicina (3) – todavia, os mecanismos de resistência desenvolvidos por *Enterococcus* spp. à estreptomicina são similares aos desenvolvidos à gentamicina (3). A aquisição da enzima bifuncional 6'-aminoglicosídeos acetiltransferase 2''-aminoglicosídeos fosfotransferase (AAC-APH) é particularmente relevante, já que se estima que as estirpes de *Enterococcus* spp. portadoras dessa enzima exibem elevados níveis de resistência aos aminoglicosídeos (3).

7. Emergência de infeções nosocomiais provocados por estirpes de *Enterococcus* multirresistentes

Os dados epidemiológicos recolhidos ao longo das últimas décadas sugerem que *Enterococcus* spp. são, de facto, um dos principais agentes etiológicos de infeções nosocomiais, pois o surgimento de estirpes de *E. faecium* e *E. faecalis* coincidiu com a emergência de linhagens MDR, que tornaram o tratamento das infeções causadas por estes agentes etiológicos mais difícil, problema que é transversal a vários países (22).

Infeções provocadas por organismos do género *Enterococcus* são recorrentes em doentes hospitalizados, existindo diversas vias de disseminação de *Enterococci* a partir do intestino delgado, ilustradas na Figura 12, podendo inclusivamente disseminar-se a partir de superfícies ou entre pacientes (5, 16).

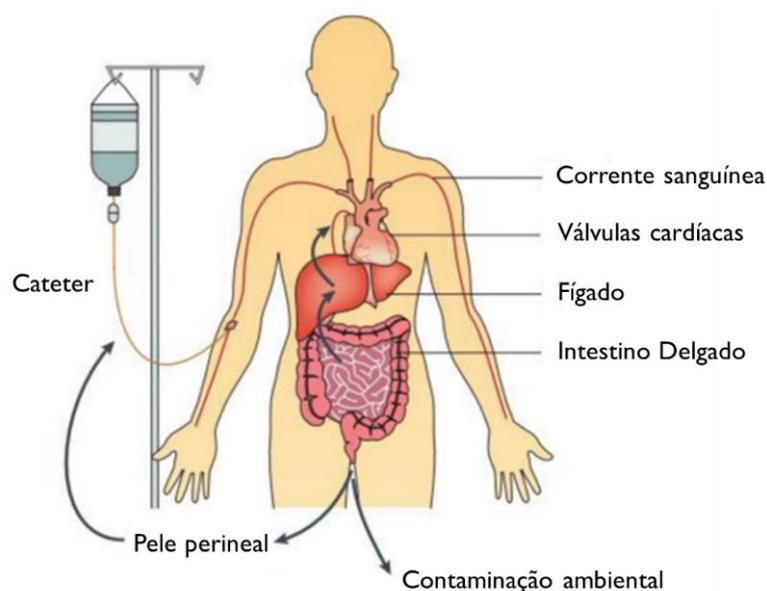


Figura 12 – Vias de disseminação de *Enterococcus* spp. a partir da microbiota do TGI em ambiente hospitalar (5).

Infeções nosocomiais provocadas por VRE ocorrem com alguma frequência, principalmente em unidades de cuidados intensivos e em unidades de cuidados continuados, como anteriormente referido (15, 22). Uma meta-análise com base em diversos estudos efetuados a nível hospitalar de vários países europeus entre 1 de janeiro de 2010 a 4 de fevereiro de 2020 concluiu que 10,9% (variando entre 6,1% a 17,5% de acordo com o hospital onde o estudo foi conduzido) das infeções nosocomiais são provocadas por *Enterococcus* spp. e 1,1% (variando entre 0,39% e 2,0%) são provocadas por estirpes VRE, enquanto que em unidades de cuidados intensivos as infeções enterocócicas representam 9,6% dos casos e as estirpes VRE representam 2,6% (24). O mesmo estudo aponta que 55% das infeções nosocomiais podem ser prevenidas através de implementação de medidas de prevenção e controlo adequadas (24).

Em doentes com múltiplas comorbilidades, como diabetes ou insuficiência renal, pacientes recém-transplantados ou algaliados, existem elevados riscos de contração de uma infeção enterocócica multirresistente, pelo que vários autores consideram que é necessária a sua monitorização contínua (através de estudos epidemiológicos e vigilâncias periódicas) e implantação de estratégias de controlo, como desinfeção regular dos espaços e superfícies, para seja possível minimizar a disseminação de estirpes MDR em meio hospitalar (22, 23).

8. Consequências da emergência de resistências aos antimicrobianos em *Enterococcus* spp. num conceito de *Uma só Saúde*

Enterococcus spp. apresentam características únicas, já discutidas previamente no presente trabalho, que lhes conferem inúmeras vantagens, podendo inclusivamente ser utilizados como probióticos ou como bioindicadores do grau de contaminação fecal da água e qualidade de alimentos (2, 6). A crescente resistência a agentes antimicrobianos, associada à disseminação de genes codificadores de elevados níveis de resistência em diversos ambientes (hospitais, animais, ambiente e alimentos), tem como principal consequência o surgimento de infeções mais severas e mais difíceis de tratar, com impacto inestimável ao nível da Saúde Humana, Ambiental e Animal, o que coloca este tópico numa perspetiva de *Uma só Saúde* (1, 19).

O conceito *Uma só Saúde* é definido pelo CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) como “uma abordagem que reconhece que a Saúde Humana está intimamente relacionada com a Saúde Animal e com o meio ambiente partilhado” e destaca a necessidade das autoridades locais, regionais, nacionais e globais de trabalharem de forma próxima, reconhecendo ainda que a abordagem a este conceito é “colaborativa, multissetorial e transdisciplinar”, tendo como princípios basilares a comunicação, coordenação e colaboração entre organismos responsáveis (19). Os principais objetivos do conceito de *Uma só Saúde* enumerados pelo CDC incluem a prevenção de surtos de infeções em pessoas e em animais, melhorar a segurança e qualidade alimentar, reduzir infeções provocadas por agentes etiológicos com elevados níveis de resistência a antibióticos e proteger a Saúde Global, sendo necessária a colaboração e cooperação de profissionais de Saúde Humana, de Saúde Animal e de Saúde Ambiental, para que as intervenções sejam bem-sucedidas (19).

8.1 Saúde Ambiental

A presença de *Enterococcus* spp. na microbiota no ser humano e nos animais torna a sua frequência em fezes relativamente abundante e, consequentemente, a sua deteção no meio ambiente será também provável, facto que tem sido descrito e comprovado por vários estudos publicados nos últimos anos (26). Verificou-se também a existência de uma correlação entre a concentração de *Enterococcus* spp. em areias das praias e o surgimento de infeções gastrointestinais e lesões cutâneas em banhistas (25).

Existem diversas origens de contaminação do ambiente por *Enterococci*, como agricultura, produção animal, esgotos e efluentes de ETARs, às quais podem estar associadas

contaminações fecais (Figura 13) (26). No entanto, a ocorrência de *Enterococcus* spp. no meio ambiente nem sempre está associada a contaminações fecais, como é o caso da ocorrência natural de reservatórios de *Enterococci* em solos, sedimentos e em plantas (26).

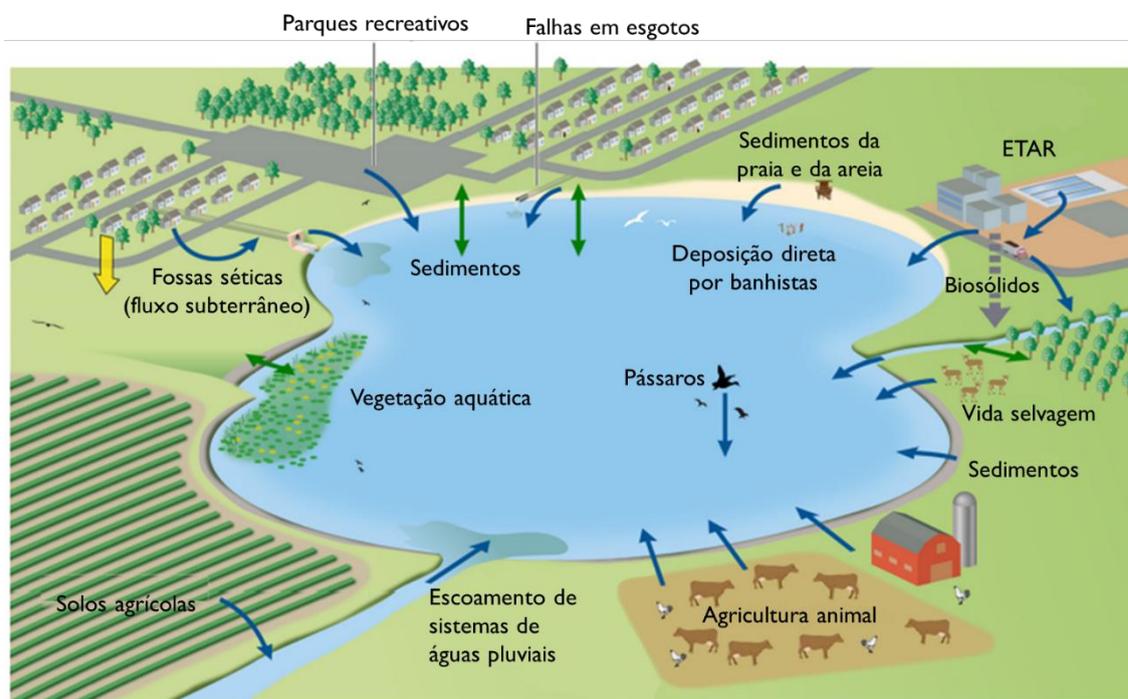


Figura 13 – Origens e reservatórios de *Enterococci* no meio ambiente (25). As setas azuis representam as diversas origens de *Enterococcus* spp. no meio ambiente, a seta amarela representa um possível reservatório de *Enterococci* e as setas verdes representam possíveis fluxos bidirecionais entre reservatórios e ambiente (25).

Escherichia coli e organismos do género *Enterococcus* são usados como bactérias bioindicadoras de contaminação fecal (FIB, do inglês *fecal indicator bacteria*) (26). Vários autores sugeriram que os *Enterococcus* spp. serão melhores bioindicadores que *E. coli*, porém, a sua utilização ainda é controversa, pois os estudos epidemiológicos utilizados para redigir as normas regulatórias basearam-se primariamente em águas pontualmente contaminadas com fezes, como esgotos (25). Atualmente a EPA (*Environmental Protection Agency*), instituição norte-americana responsável pela Saúde Ambiental, recomenda o uso de *Enterococci* como bactérias bioindicadoras de contaminação fecal para águas salgadas e salobras, pois existem evidências que estes se aproximam mais das estimativas reais do que outros microrganismos, como *E. coli* ou outros coliformes fecais (25, 26).

Os países pertencentes à UE regulam a qualidade de águas recreativas e balneares através da monitorização contínua da qualidade microbiológica das águas, com o objetivo principal de proteger a Saúde Pública e o Ambiente (42). A WISE (*Water Information System for Europe*), parceria entre a Comissão Europeia e a Agência Europeia do Ambiente, publicou,

em 2021, uma *guideline* designada *Bathing Water Directive*, que, com base nas contagens anuais de FIB (*E. coli* e *Enterococci* intestinais) em cada local, classifica a qualidade da água em “excelente”, “boa”, “aceitável” ou “má” (41, 42). Em Portugal, a APA (Agência Portuguesa do Ambiente) é o organismo responsável por definir e implementar o programa de monitorização e classificar a qualidade das águas balneares, de acordo com a escala supramencionada (43).

8.2 Saúde Animal

Enterococcus podem também ser isolados a partir de vários hospedeiros animais, que englobam invertebrados e mamíferos, o que evidencia a sua capacidade de colonizar diferentes animais com fisiologias distintas e de ultrapassar os mais diversos mecanismos de defesa imune (5). A Figura 14 esquematiza a evolução dos diversos hospedeiros animais colonizados por *Enterococcus* spp., desde o período Pré-Câmbrico ao Período Quaternário (5).

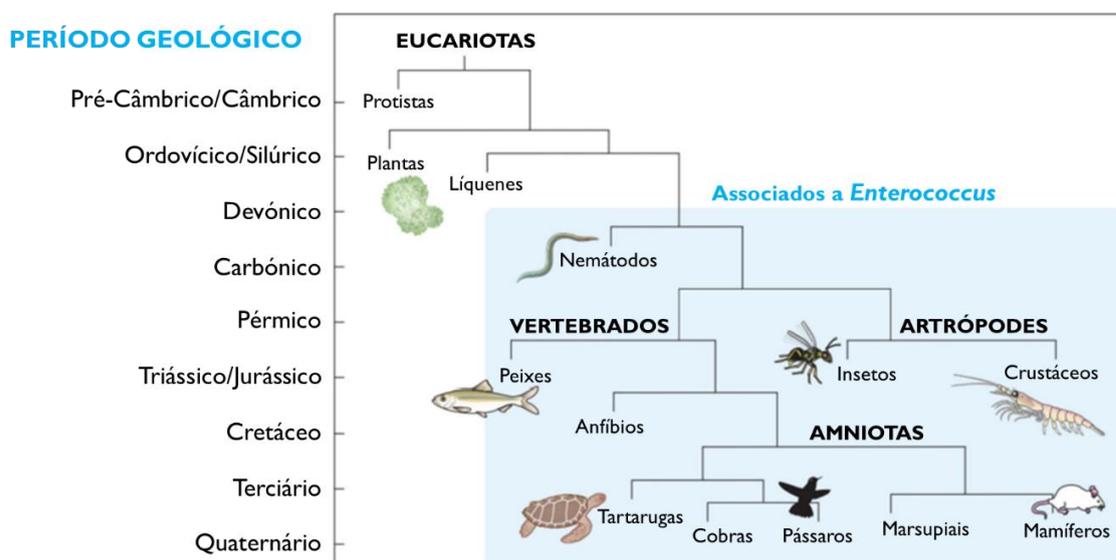


Figura 14 – Evolução cronológica da colonização de hospedeiros animais por *Enterococcus* (5).

As espécies de maior representatividade na microbiota gastrointestinal animal são: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans* e *E. cecorum* (por vezes encontrado na microbiota intestinal de animais de estimação e em galinhas), ao passo que, em bovinos e em suínos, são mais comuns as espécies *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae* e *E. faecalis* (6); adicionalmente, também já foram identificados em bovinos *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. avium* e *E. cecorum*, embora em proporções menores (6). Em gatos e cães foram reportadas com maior frequência *E. faecalis*, *E. faecium*, e *E. hirae* (6). Pensa-se que algumas estirpes de *Enterococcus* spp. podem provocar diarreia em cães, gatos, ratos e suínos, podendo ainda ser a causa etiológica de mastites bovinas, endocardites, septicémias e encefalopatia amiloide, com risco de morte súbita em galinhas (6). Também se encontra igualmente descrita a possibilidade de transmissão

zoonótica de *Enterococci* multirresistentes a antibióticos (2).

Um estudo conduzido por Mundt, em 1963, teve como principal objetivo pesquisar *Enterococcus* spp. em fezes de animais selvagens (6) – cerca de 71% das amostras colhidas de mamíferos continham *Enterococci*, nomeadamente em roedores, morcegos e outros animais com dietas omnívoras ou carnívoras e foi praticamente indetetável em animais herbívoros, contudo, conforme demonstrado através de estudos posteriores, a presença de *Enterococcus* spp. em fezes de animais varia conforme a zona geográfica e com as características individuais de cada animal (6). É de ressaltar que, à data deste estudo, não existiam os recursos laboratoriais que se encontram disponíveis atualmente (6).

A administração abusiva de antibióticos em animais, como promotores de crescimento (prática proibida desde 2006) ou em profilaxia, conduz a alterações na microbiota intestinal, pelo que, no caso de *Enterococci*, os que sobrevivem à ação destes compostos caracterizam-se por serem portadores de resistência intrínseca ou adquirida, podendo tornar-se patógenos oportunistas e originarem a disseminação de estirpes MDR, podendo este fenómeno dar-se através da transferência horizontal de genes (2). É de referir, como exemplo, a utilização da avoparcina como promotor de crescimento animal, que pode ter estado na origem da emergência de VRE na comunidade, no ambiente e na produção animal, visto que o seu mecanismo de ação é semelhante ao da vancomicina (16). A sua administração nunca foi aprovada nos Estados Unidos e na Europa está proibida desde 1997 (16).

Assim, *Enterococci* multirresistentes são facilmente detetados em alimentos de origem animal e podem ser transmitidos através do consumo deste tipo de alimentos e, adicionalmente, as suas características permitem-lhes tolerar diversas condições ambientais, podendo sobreviver a diferentes etapas do processamento alimentar (33). Várias revisões sistemáticas descrevem que existem espécies do género *Enterococcus* que são contaminantes alimentares frequentes, especialmente em carnes cruas e provenientes de aves (2). Torres et al. (2018) indicaram algumas linhagens patogénicas que se disseminaram através da indústria alimentar, como *E. faecalis* ST82 e ST16: as estirpes da linhagem *E. faecalis* ST82 podem provocar artropatia amilóide em galinhas, tendo sido já detetada em aviários na Dinamarca, Estados Unidos, França e Alemanha (6); já a linhagem *E. faecalis* ST16 é classificada como uma linhagem zoonótica, cuja prevalência de resistências bacterianas é elevada (6).

8.3 Potencial impacto na Saúde Humana

Ao longo dos últimos capítulos, foram analisados e discutidos os potenciais perigos para a Saúde Humana decorrentes de uma potencial infecção enterocócica – o desenvolvimento de resistências bacterianas, que dificulta o tratamento de infecções severas, a elevada mortalidade e morbidade associadas, especialmente em doentes já debilitados, e ainda a possibilidade do aparecimento de surtos em ambiente hospitalar são consequências diretas de uma infecção por algumas estirpes de *Enterococcus* spp., com impacto incalculável na Saúde Humana (3, 6, 22). A estes, acresce-se o impacto destes organismos na Saúde Animal e Ambiental, que podem, indiretamente, representar risco para a Saúde Humana (18, 19).

A presença de *Enterococcus* spp. no meio ambiente e na água pode indicar a existência de outros patógenos para além de *Enterococci*, como protozoários, vírus ou outras bactérias suscetíveis de originar doenças de pele, olhos e do trato respiratório, podendo a transmissão dar-se através da ingestão direta de água ou de alimentos, como marisco ou peixe cru (26). O consumo de alimentos, eventualmente contaminados com estirpes de *Enterococcus* spp. portadoras de genes de AMR, constitui um risco elevado para a Saúde Pública (26). Pode dar-se como exemplo, o uso excessivo da avoparcina na Europa, que contribuiu para a disseminação de estirpes VRE, quer no ambiente de produção animal, no meio ambiente, na comunidade e na cadeia alimentar (2, 6).

A EFSA (*European Food Safety Authority*), responsável por facultar aconselhamento científico à Comissão Europeia (20), desenvolveu, em 2012, *guidelines* que permitem proceder a uma avaliação de segurança de *E. faecium* em alimentos de origem animal, muitas vezes utilizados na produção de aditivos alimentares, como sejam alguns probióticos (21). De acordo com a avaliação publicada pela EFSA, *Enterococcus* spp. oriundos de ambiente não hospitalar representam um risco mínimo para a Saúde Humana (21). No entanto, foi desenhada uma metodologia mais prática para distinguir entre estirpes seguras e estirpes menos seguras, baseada, simultaneamente, na suscetibilidade dessas estirpes à ampicilina e presença de três marcadores genéticos associados a virulência (21). Ainda assim, são necessários estudos mais detalhados para se conhecer as probabilidades e os potenciais riscos e consequências da eventual transmissão de zoonoses através de alimentos, dada a sua atual incerteza (6).

Ainda que a maioria das espécies do género *Enterococcus* sejam comensais, podem eventualmente tornar-se patógenos oportunistas, através da disseminação a partir do seu reservatório natural ou da microbiota intestinal, especialmente em doentes hospitalizados e

que apresentam múltiplas comorbilidades, ambiente propício à disseminação de estirpes multirresistentes, acabando por tornar-se num enorme desafio terapêutico (2, 5).

Conclusão

Ao longo dos últimos anos, *Enterococci* têm sido alvo de inúmeros estudos, muitos dos quais tentam clarificar não só as suas características estruturais e morfológicas, como também os diversos mecanismos desenvolvidos para resistir a agentes antimicrobianos, sejam elas resistências adquiridas ou intrínsecas. Devido à elevada disseminação de estirpes resistentes a antibióticos, principalmente a nível hospitalar, associado ao elevado potencial patogénico dessas mesmas estirpes, onde se inclui a sua elevada plasticidade genómica assim como a potencial capacidade de formar biofilmes, algumas estirpes do género *Enterococcus* são consideradas de extrema relevância, do ponto de vista clínico e epidemiológico – particularmente, nos últimos anos, tem-se observado, na Europa, um aumento na percentagem de VRE, tendo sido inclusivamente classificadas como das mais frequentes em ambiente hospitalar a nível global. Esta demonstração de elevada preocupação prende-se com o facto da AMR em algumas estirpes de *Enterococci* representar um enorme desafio terapêutico e epidemiológico, quer pela sua fácil disseminação entre utentes admitidos em instituições de saúde, quer pela sua disseminação a partir de reservatórios animais ou ambientais, que se encontram associadas a elevadas taxas de mortalidade em ambiente hospitalar devido à inexistência de alternativas terapêuticas eficazes.

Deste modo, considerando tudo o que foi discutido ao longo do presente trabalho, admite-se que *Enterococcus* spp. devam ser usados não só como bioindicadores de contaminação fecal, mas também como bioindicadores de resistência a antimicrobianos, tendo em conta a sua ocorrência numa elevada biodiversidade de organismos e ambientes, o que permitirá, através da sua monitorização, conhecer o estado de contaminação humana, animal e ambiental por estirpes portadoras de multirresistência e desse modo desenhar e implementar medidas de forma a minimizar a colonização dos diversos sectores com essas estirpes.

Impõe-se também a urgência de implementar métodos de vigilância, controlo e monitorização epidemiológicos, assim como a necessidade de serem desenvolvidos novos antimicrobianos eficazes, de forma a travar a disseminação de estirpes portadoras de resistências bacterianas e, conseqüentemente, de infeções potencialmente fatais.

Referências Bibliográficas

- 1 – MATO, R. – **Enterococcus e outros cocos Gram-positivo**. In: BARROSO, H., MELIÇO-SILVESTRE, A., TAVEIRA, N. – “Microbiologia Médica Volume I”, 1ª Edição, LIDEL – Edições Técnicas, 2014, ISBN: 978-989-752-057-0. p. 277-284.
- 2 – KRAWCZYK, B., WITYK, P., GAŁECKA, M., MICHALIK, M. – **The Many Faces of Enterococcus spp. – Commensal, Probiotic and Opportunistic Pathogen**. Microorganisms. Vol. 9, nº 9 (2021), p. 1-20.
- 3 – SHEPARD, B., GILMORE, M. – **Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance**. Microbes and Infection. Vol. 4 (2002), p. 215–224.
- 4 – CECIL, M., DELPECH, G., SPARO, M. – **Clinical and microbiological features of bacteremia caused by Enterococcus faecalis**. The Journal of Infection in Developing Countries. Vol. 9, nº 11 (2015), p. 1195-1203.
- 5 – SELLECK, E., VAN TYNEL, D., GILMORE, M. – **Pathogenicity of Enterococci**. Microbiology Spectrum. Vol. 7, nº 4 (2019), p. 1-38.
- 6 – TORRES, C., ALONSO, C. A., RUIZ-RIPA, L. – **Antimicrobial resistance in Enterococcus spp. of animal origin**. Microbiology Spectrum. Vol. 6, nº4 (2018), p. 1-27.
- 7 – LEBRETON, F., WILLEMS, R., GILMORE, M. – **Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization**. National Library of Medicine (2014). [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/pdf/Bookshelf_NBK190427.pdf
- 8 – EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL – **Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019**. Estocolmo: ECDC, 2020. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>
- 9 – MEGRAN, D. – **Enterococcal Endocarditis**. Clinical Infectious Diseases. Vol. 15 (1992), p. 63-71.

10 – EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL – **Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015**. Estocolmo: ECDC, 2017, p. 13-16.

11 – CABALLERO-GRANADO, F. J., BECERRIL, B., CUBEROS, L. – **Attributable Mortality Rate and Duration of Hospital Stay Associated with Enterococcal Bacteremia**. *Clinical Infectious Diseases*. Vol. 32 (2001), p. 587-594

12 – D’AZEVEDO, P.A., DIAS, C., GONÇALVES, A. L. – **Evaluation of an automated system for the identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci**. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Vol. 40 (2001), p. 157-161.

13 – **BD Enterococcosel Agar**. Alemanha: Becton Dickinson GmbH, 2013.

14 – SUPPLI, M., AABENHUS, R., HARBOE, Z. B. – **Mortality in enterococcal bloodstream infections increases with inappropriate antimicrobial therapy**. *Clinical Microbiology and Infection*. Vol. 17 (2011), p. 1078–1083.

15 – GRANADOS, C. D., ZIMMER, S., KLEIN, M. – **Comparison of Mortality Associated with Vancomycin-Resistant and Vancomycin Susceptible Enterococcal Bloodstream Infections: A Meta-analysis**. *Clinical Infectious Diseases*. Vol. 41 (2005), p. 327-333.

16 – RAZA, T., ULLAH, S. R., MEHMOOD, K. – **Vancomycin resistant Enterococci: A brief review**. *Journal Of Pakistan Medical Association*. Vol. 68, n°5 (2018), p. 768-772.

17 – ÁLVAREZ-ARTEROA, E., CAMPO-NUNEZ, A., GARCÍA, I. – **Urinary tract infection caused by *Enterococcus* spp.: Risk factors and mortality. An observational study**. *Revista Clínica Española* (2021).

18 – SOUSA, J.C. – **Manual de Antibióticos Antibacterianos. 2ª Edição**. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, 2006. ISBN: 972-8830-49-1.

19 – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **One Health Basics**. Estados Unidos, 2022. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html>

20 – EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – **About EFSA**. 2022. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.efsa.europa.eu/pt/aboutefsa>

- 21 – EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – **A global first: guidance for assessing safety of *Enterococcus faecium* in animal feed**. 2012. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/120523>
- 22 – BHARDWAJ, S. – **Enterococci: An Important Nosocomial Pathogen**. IntechOpen, 2019. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.intechopen.com/chapters/70494>
- 23 – PRIETO, A., VAN SCHAIK, W., ROGERS, R. C. – **Global Emergence and Dissemination of Enterococci as Nosocomial Pathogens: Attack of the Clones?**. Frontiers in Microbiology. Vol. 7, nº 788 (2016), p. 1-10.
- 24 – BRINKWIRTH, S., AYOBAMI, O., ECKMANN, T. – **Hospital-acquired infections caused by enterococci: a systematic review and meta-analysis, WHO European Region, 1 January 2010 to 4 February 2020**. Euro Surveill. Vol. 26, nº 45 (2021), p. 16-28.
- 25 – BYAPPANAHALLI, N., NEVERS, M., KORAJKIC, A. – **Enterococci in the Environment**. Microbiology and Molecular Biology Reviews. Vol. 76, nº 4 (2012), p. 685-706.
- 26 – UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY – **Indicators: Enterococci**. [Acedido a 3 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.epa.gov/national-aquatic-resource-surveys/indicators-enterococci>
- 27 – UTTLEY, A. H., COLLINS, C. H., NAIDOO, J., & GEORGE, R. C. – **Vancomycin-resistant enterococci**. Lancet (1988), p. 57-58.
- 28 – CHILAMBIA, G.S., NORDSTROM, H. R., EVANS, D. R. – **Evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* during colonization and infection in immunocompromised pediatric patients**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2020), p. 11703–11714.
- 29 – WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Prioritization of pathogens to guide discovery, development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis**. Geneva (2017).
- 30 – WARR, K. – **Pathogenesis of nosocomial infections with *Enterococcus faecalis***. Universidade de Groningen (2004), p. 15–17.

- 31 – SOCIEDADE EUROPEIA DE CARDIOLOGIA – **2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis**. European Heart Journal (2015), p. 3095-3107.
- 32 – AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P. – **Vancomicina - recomendações de utilização**. (2017). [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_101_struts_action=/asset_publisher/view_content&_101_assetEntryId=2187884&_101_type=content&_101_urlTitle=vancomicina-recomendacoes-de-utilizacao&inheritRedirect=false
- 33 – JAHAN, M., ZHANEL, G., SPARLING, R. – **Horizontal transfer of antibiotic resistance from *Enterococcus faecium* of fermented meat origin to clinical isolates of *E. faecium* and *Enterococcus faecalis***. International Journal of Food Microbiology. Vol. 199 (2015), p. 78-85.
- 34 – SREEJA, S., BABU S., PRATHAB, A.G. – **The Prevalence and the Characterization of the *Enterococcus* Species from Various Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital**. Journal of Clinical and Diagnostic Research. Vol. 6, nº 9 (2012), p. 1486-1488
- 35 – **Slanetz Bartley Agar Base**. França: Laboratoires Humeau, 2015.
- 36 – **Slanetz-Bartley Medium ISO**. Condalab, 2020.
- 37 – **Agar Bilis Esculina Azida ISO**. Condalab, 2020.
- 38 – FREITAS, A.R., TEDIM, A.P., FRANCA, M.V. – **Multilevel population genetic analysis of *vanA* and *vanB* *Enterococcus faecium* causing nosocomial outbreaks in 27 countries (1986–2012)**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 71, nº 12 (2016), p. 3351–3366.
- 39 – SUN, L., XU, J., WANG, W. – **Emergence of *vanA*-Type Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* ST 78 Strain with a *rep2*-Type Plasmid Carrying a Tn1546-Like Element Isolated from a Urinary Tract Infection in China**. Infection and Drug Resistance. Vol. 13 (2020), p. 949-955.
- 40 – NOVAIS, C., TEDIM, A. P., LANZA, V. F. – **Co-diversification of *Enterococcus faecium* Core Genomes and PBP5: Evidences of *pbp5* Horizontal Transfer**. Frontiers in Microbiology. Vol. 7, nº1581 (2016).

41 – AGÊNCIA EUROPEIA DO AMBIENTE. – **About WISE**. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://water.europa.eu/>

42 – TIWARI, A., OLIVER, D.M, BIVINS, A. – **Bathing Water Quality Monitoring Practices in Europe and the United States**. International Journal of Environmental Research and Public Health. Vol. 18, nº 11 (2021).

43 – AGÊNCIA PORTUGUESA DO AMBIENTE. – **Monitorização e avaliação da qualidade das Águas Balneares**. [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://apambiente.pt/agua/aguas-balneares>