

O fenômeno da tolerância bacteriana aos antibióticos

Cícero Carlos de Freitas¹

Resumo

O tratamento de infecções provocadas por microrganismos, principalmente por bactérias, tem sido um desafio freqüente em clínica, essencialmente, em virtude da competência genético-bioquímica desses agentes patogênicos em desenvolverem resistência a antibióticos. Alguns são os mecanismos através dos quais as bactérias desenvolvem essa resistência, hoje, relativamente bem estudada. Uma nova dificuldade à antibioterapia surgiu com a identificação de bactérias tolerantes. Em uma bactéria tolerante, a atividade bactericida de um antibiótico deve ser, pelo menos, 16 vezes o seu efeito inibitório. Assim, na tolerância a antibióticos, as bactérias desenvolvem defesas, apenas, contra a ação bactericida do antibiótico. O mecanismo da tolerância ainda não é conhecido. Este trabalho consiste em uma breve discussão sobre os níveis atuais dos estudos e dos conhecimentos da resistência e da tolerância, complementada com resultados de nosso Laboratório sobre a tolerância de cepas de *Staphylococcus aureus* (isoladas de pacientes de diferentes setores do HUAP-UFF) a amicacina, cefalotina, cefoxitina, oxacilina e vancomicina.

O combate às infecções provocadas por microrganismos, principalmente por bactérias, tem sido uma preocupação constante em clínica, onde a quimioterapia desenvolvida pelo homem vem sendo superada pela competência genético-bioquímica desses patógenos em desenvolverem mecanismos de defesa contra os agentes químicos por ele empregados. Neste contexto, a resistência bacteriana aos antibióticos merece destaque, tendo em vista a posição relevante das bactérias na escala da etiologia das doenças infecciosas. Alguns dos mecanismos desta resistência são relativamente bem conhecidos, o que permite o desenvolvimento de meios para prevenir ou combater as infecções causadas por bactérias resistentes; outros, contudo, são total (ou parcialmente) desconhecidos, para o infortúnio da antibioticoterapia. Um aspecto, novo, nesta defesa das bactérias contra os antibióticos, é a *tolerância*, de mecanismo(s) não sabido(s), diferente da resistência clássica e de importância na antibioticoterapia.

O combate a qualquer agente etiológico impõe, como condição maior, a obrigação de o profissional da saúde conhecer, muito bem, a bioquímica do agente e do hospedeiro, bem assim, a farmacologia da quimioterápico, sem o que, a quimioterapia poderá ser transformada (através de seus efeitos colaterais) em mais um agressor do organismo invadido, sem

o êxito terapêutico cogitado. Neste ponto, têm função importantíssima, os chamados grupos de controle de infecções hospitalares, que devem agir como elemento de suporte à clínica, quanto às informações sobre: características dos agentes etiológicos, sua incidência na unidade hospitalar, providências preventivas e meios terapêuticos racionais e objetivos para combatê-los.

Desde que as bases genéticas da patogenicidade de um microrganismo somente podem ser expressas, completamente, durante o seu crescimento *in vivo*, é evidente que os testes realizados *in vitro*, com o propósito de identificar esta patogenicidade ou de avaliar efeitos antimicrobianos, são criticáveis; entretanto, a experiência mostra que os resultados obtidos com os sistemas *in vitro* têm sido de grande valia para o entendimento dos fenômenos que ocorrem *in vivo*.

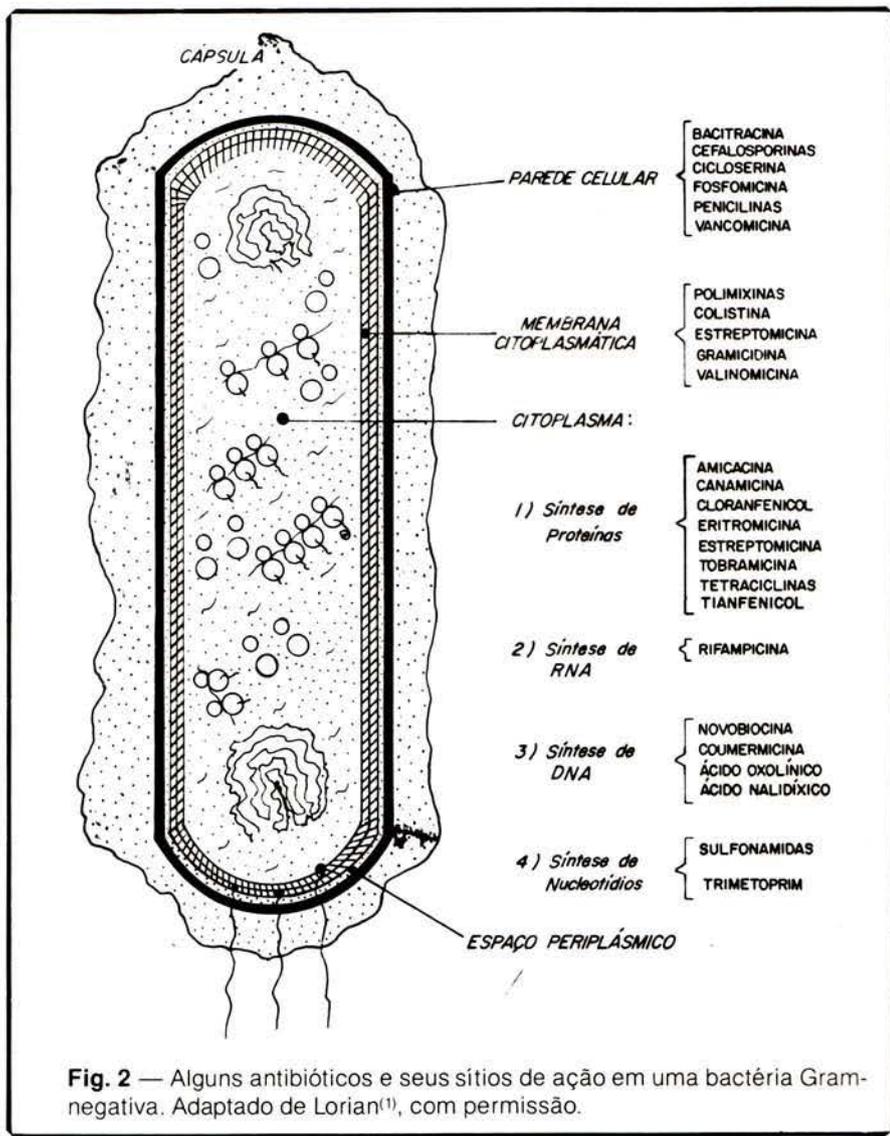
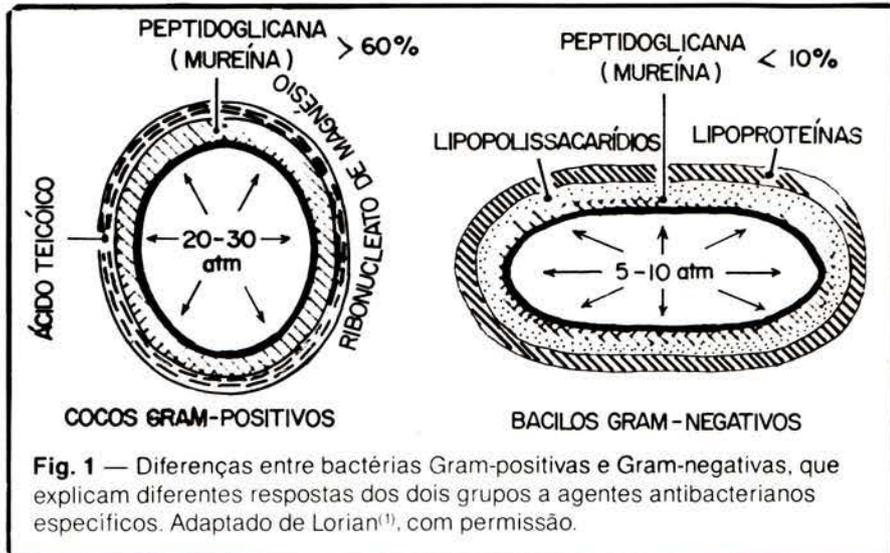
Informações acerca das propriedades de um microrganismo, *in situ*, em um processo infeccioso, são de grande utilidade no desenvolvimento de métodos e técnicas de erradicação da infecção. Tais informações, todavia, são muito escassas nos estudos das infecções em humanos, devido, principalmente, às dificuldades com as experiências *in vivo*. Por outro lado, o aumento da patogenicidade bacteriana, mediante passagens sucessivas em animais, e a sua perda (através de subculturas) são bem conhecidos.

¹ Professor-Adjunto 4 e Chefe do Laboratório de Antibióticos do Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense — Pesquisador IC do CNPq

O crescimento, por várias gerações, em um meio de cultura padrão, produz bactérias com potenciais de patogenicidade, imunogenicidade e susceptibilidade bastante diferentes daqueles verificados *in vivo*. Uma importante razão para essa discrepância é a flexibilidade estrutural do envelope (parede e membranas) da bactéria. As bactérias, como os outros microrganismos, estão em constantes interações com o seu meio de crescimento, do qual dependem para definir a composição química de seu envelope. Esta composição química, por outro lado, determina o comportamento da bactéria, no tocante à sua interação com o hospedeiro e às suas respostas aos agentes antibacterianos (anticorpos, fagócitos, vírus, enzimas e antibióticos). Estes aspectos são bem analisados, por diferentes autores, e resumidos a seguir.

Em 1971, Lorian⁽¹⁾ associou, muito objetivamente, as diferenças das composições químicas da parede e da membrana bacterianas com os mecanismos de ação dos antibióticos. Este autor pôs em evidência, principalmente, os componentes químicos da parede, que permitem diferenciar as bactérias Gram-positivas das Gram-negativas (Fig. 1) e as implicações deste fato nas respostas bacterianas aos antibióticos. Lorian ainda visualizou, esquematicamente, os diferentes sítios de interação dos antibióticos com as bactérias. Este esquema foi atualizado (Fig. 2) e publicado por um de seus colaboradores brasileiros, Freitas⁽²⁾.

Em 1977, Costerton⁽³⁾ enriqueceu o trabalho do Professor Lorian⁽¹⁾, ao discutir a participação da parede e da membrana citoplasmática das bactérias, na regulação do complicado trânsito molecular e iônico entre a bactéria e o seu meio. Colocando essas organelas como definidores da permeabilidade da bactéria a moléculas e íons, Costerton nos oferece uma visão bastante detalhada da composição química da parede e da membrana bacterianas, caracterizando, de modo aprofundado, as diferenças entre bactérias Gram-positivas e bactérias Gram-negativas. Além disto, ele discute o papel daque-



las estruturas nos seguintes planos: a. permeabilidade, b. patogenicidade, c. imunogenicidade, d. fagocitose e e. resistência a antibióticos. É indiscutível a relevância deste trabalho, quando sabemos que os antibióticos, em sua grande maioria, devem entrar na bactéria, a fim de alcançarem os seus sítios de ação (vias metabólicas vitais: síntese de DNA, de RNA, de proteínas, de mureína, etc.).

Brown & Williams⁽⁴⁾ e Williams⁽⁵⁾ deram ainda mais evidência ao papel da anatomia da bactéria na sua patogenicidade. Segundo estes autores, para provocar uma resposta infecciosa, a bactéria deve exibir as seguintes propriedades: a. ser capaz de vencer as barreiras dos revestimentos dos tecidos e invadir o organismo do hospedeiro, b. multiplicar-se em seus tecidos, c. resistir às defesas (humais e celulares) e d. provocar a infecção. Na maioria dos casos, estas propriedades são grandemente aumentadas, em virtude da natureza química da superfície da bactéria. Por outro lado, não há mais dúvidas de que a composição química da superfície da bactéria e as suas propriedades biológicas são determinadas pelas condições de crescimento, tais como: restrição de nutriente; velocidade do crescimento; crescimento em suspensão (ou em superfície); ou presença de concentrações submínimas inibitórias de antibióticos, que induzem as chamadas formas aberrantes⁽⁶⁾, as quais, de acordo com o tipo químico de droga, perdem ou ganham aderência tissular, característica essencial à patogenicidade de um microrganismo⁽⁷⁾.

Essas modificações nas composições químicas da parede e/ou da membrana bacteriana(s), decorrentes das condições de crescimento, conferem uma característica peculiar ao envelope da bactéria, conhecida como plasticidade fenotípica. Graças a esta plasticidade, as bactérias podem variar a resposta aos agentes físicos, químicos ou biológicos, tanto *in vitro*, como *in vivo*. Assim, uma determinada bactéria poderá passar de sensível a resistente (e vice-versa) ou de não tolerante a tolerante (e vice-versa), a uma certa droga, como consequência de uma

simples modificação em seu meio de cultura ou das condições de crescimento no sítio de infecção. *Pseudomonas aeruginosa*, crescida em meio sem magnésio, perde a sensibilidade ao EDTA⁽⁸⁾ e à polimixina B, dependendo da presença de outros cátions no meio⁽⁹⁾. Bactérias se tornam resistentes a beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), mediante modificações dos sítios de interação desses antibióticos: proteínas ligadoras de penicilinas (PLPs), encontradas na membrana citoplasmática e imprescindíveis à síntese da parede⁽¹⁰⁾. O ferro é um dos fatores que favorecem o crescimento de microrganismos (inclusive bactérias), *in vitro*; no organismo, contudo, a concentração deste mineral é muito baixa, o que representa um mecanismo de defesa contra infecções, porque, nestas condições, o tempo de geração das bactérias é sensivelmente aumentado.

Uma das experiências, que melhor demonstram a importância das condições de crescimento na compo-

sição química da bactéria e na sua resposta a antibióticos, é aquela realizada por Tomasz e col.⁽¹¹⁾, em 1970. Crescendo *Streptococcus pneumoniae* em meio contendo etanolamina (EA), em substituição à colina (COL), estes pesquisadores conseguiram suprimir a atividade autolítica, normalmente desencadeada pela agressão da cultura com penicilina (ou outros inibidores da síntese da parede). Nestas condições, embora a concentração mínima inibitória (CMI) fosse a mesma encontrada na cepa selvagem, ao contrário desta, a cepa crescida na presença da EA não lisava e perdia a viabilidade muito lentamente: a concentração mínima bactericida (CMB) estava muito mais alta. Este aspecto da CMB é mostrado na figura 3. Com esta experiência, surgiu um novo conceito na Microbiologia, o de *bactéria tolerante*, aquela que apresenta uma relação: $CMB/CMI \geq 16$ ⁽¹²⁾. A tolerância a antibióticos é um fato de importância concreta na antibioticoterapia⁽¹³⁾, como veremos mais adiante.

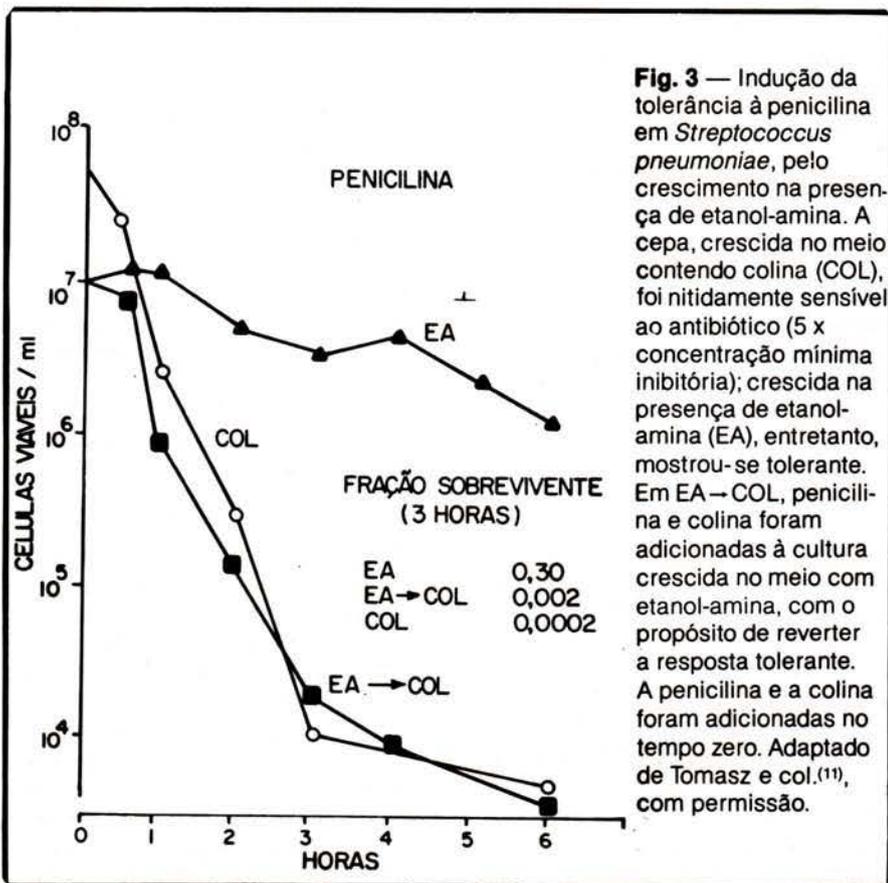


Fig. 3 — Indução da tolerância à penicilina em *Streptococcus pneumoniae*, pelo crescimento na presença de etanol-amina. A cepa, crescida no meio contendo colina (COL), foi nitidamente sensível ao antibiótico (5 x concentração mínima inibitória); crescida na presença de etanol-amina (EA), entretanto, mostrou-se tolerante. Em EA → COL, penicilina e colina foram adicionadas à cultura crescida no meio com etanol-amina, com o propósito de reverter a resposta tolerante. A penicilina e a colina foram adicionadas no tempo zero. Adaptado de Tomasz e col.⁽¹¹⁾, com permissão.

Resistência a antibióticos

O problema da resistência bacteriana aos quimioterápicos surgiu, na prática médica, com o uso das sulfonamidas. Tão logo estas drogas foram empregadas, com pleno êxito, em 1935, no combate às infecções provocadas por bactérias, os primeiros casos de resistência começaram a aparecer entre gonococos e estreptococos do grupo A. Este fato motivou Ernest Chain e col.⁽¹⁴⁾ a retomarem as pesquisas com a penicilina, que, embora descoberta por Alexander Fleming, em 1929⁽¹⁵⁾, ainda não havia sido obtida em condições de pureza compatíveis com o uso clínico, mesmo porque, o sucesso das sulfonamidas havia inibido aquelas pesquisas. Em 1940, graças aos trabalhos de Chain e col.⁽¹⁴⁾, a penicilina foi empregada como agente terapêutico⁽¹⁶⁾, principalmente, contra as bactérias resistentes às sulfonamidas.

No início da década de 50, o problema da resistência recrudescceu, com o aparecimento de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina⁽¹⁷⁾. Estudos com estas cepas mostraram que elas produziam uma enzima (penicilinase) capaz de destruir a penicilina. Por volta de 1960, muita atenção passou a ser dada às beta-lactamases (penicilinas e cefalosporinas), face às proporções epidêmicas dos estafilococos beta-lactamase-positivos⁽¹⁷⁾. As pesquisas evoluíram e beta-lactâmicos beta-lactamase-resistentes foram obtidos, como a meticilina (uma penicilina semi-sintética) e as cefalosporinas. As bactérias, contudo, não se deram por vencidas e desenvolveram mecanismos de resistência a esses novos beta-lactâmicos, principalmente, através de modificações de seus receptores (sítios de interação), as hoje conhecidas proteínas ligadoras de penicilinas (PLPs). Atualmente, muitas são as bactérias resistentes a antibióticos (diferentes dos beta-lactâmicos), pela produção de enzimas inativadoras: cloranfenicol-acetil-transferase, para o cloranfenicol⁽¹⁸⁾ e fosfo-transferases, adenilil-transferases e acetil-transferases, para os aminoglicosídeos⁽¹⁹⁾. Além disso, as bactérias investiram nas

modificações bioquímicas que alteram a permeabilidade da parede e das membranas aos antibióticos⁽²⁰⁻²²⁾ e/ou a interação destes com os seus sítios de ação⁽²³⁾: PLPs, RNAs (e proteínas) ribossomais, DNA-girase, RNA-polimerase, etc. Tais modificações tornam os antibióticos inócuos às bactérias, sem prejudicar a sua fisiologia.

O combate à resistência bacteriana continua sendo um desafio à pesquisa científica: novos antibióticos são isolados ou sintetizados; em contrapartida, novos mecanismos de defesa são desenvolvidos pelas bactérias, em função de seu enorme potencial genético-bioquímico. Usando este potencial, as bactérias vão superando o poder inovador do homem (com toda a sua biotecnologia) e resistindo à antibioticoterapia, com "armas" cada vez mais poderosas, como os plasmídeos e os transposons, que podem ser transferidos entre elas, conferindo-lhes maior competência de defesa. Assim, elas se defendem dos antibióticos, através de modificações bioquímicas, tais como: mudanças de permeabilidade; produção de enzimas inativadoras de antibióticos; e eliminação ou modificação de sítios de ação de antibióticos, de modo a impedir os efeitos inibidores destes sobre os mecanismos de síntese de macromoléculas (DNA, RNA, proteínas e mureína). Enquanto a célula bacteriana desenvolve esses mecanismos de resistência, sem comprometer a sua fisiologia, o homem tem dificuldades de neutralizá-los, principalmente, pela obrigação de racionalizar a antibioticoterapia, a fim de evitar os efeitos colaterais dos antibióticos e não favorecer a seleção de bactérias resistentes e tolerantes aos mesmos. Esta luta pela racionalização da antibioticoterapia tem levado a pesquisa científica a perseguir um melhor entendimento dos mecanismos genético-bioquímicos através dos quais as bactérias desenvolvem defesas contra os antibióticos. Uma consequência, direta e efetiva, do melhor entendimento desses mecanismos foi a procura, bem sucedida, de inibidores de beta-lactamases⁽¹⁷⁾. Alguns desses inibidores, já em uso clínico (em asso-

ciações com beta-lactâmicos), são: sulbactam, izumenolidio, ácido clavulânico, ácido olivânico e ácidos holo-penicilânicos⁽¹⁷⁾.

Bactérias tolerantes

Como dissemos anteriormente, o conceito de bactéria tolerante surgiu com a experiência de Tomasz e col.⁽¹¹⁾, resumida na fig. 3. A tolerância bacteriana a antibióticos difere, essencialmente, da resistência, no seguinte aspecto: nas cepas resistentes, os valores das concentrações mínimas: inibitória (CMI) e bactericida (CMB) estão altos (em relação àquelas das cepas sensíveis), mas, CMB = CMI; na tolerância, porém, os valores são diferentes, com a CMB muito mais alta do que a CMI, de tal modo que: $CMB/CMI \geq 16$ ⁽¹²⁾. Uma bactéria tolerante, portanto, desenvolve a competência genético-bioquímica de, através de mecanismo(s) ainda não conhecido(s), diminuir, apenas, o efeito bactericida do antibiótico (CMB), sem alterar o seu efeito inibitório (CMI).

Em 1974, Best e col.⁽²⁴⁾ vincularam a tolerância à clínica, ao identificarem uma cepa (Evans) tolerante à oxacilina, entre alguns isolados de *Staphylococcus aureus*. A cepa Evans tinha, praticamente, a mesma CMI das outras, mas não lisava, quando agredida com concentrações muito acima da CMI. Usando critério semelhante, Mayhall e col.⁽²⁵⁾, em 1976, e Sabath e col.⁽²⁶⁾, em 1977, constataram uma surpreendente taxa de cepas tolerantes, entre amostras clínicas de *S. aureus*. Por volta de 1984, o número de cepas de bactérias tolerantes ao tratamento com penicilina incluía mais de 20 espécies⁽¹³⁾. Se todas essas cepas foram selecionadas pelo tratamento, ainda não está claro. As condições de crescimento e o tratamento com antibióticos permitem a seleção de cepas tolerantes, *in vitro*. Seria surpresa se isto não ocorresse *in vivo*, apesar da existência de fatores antagonísticos: lisozima, fagocitose e sistema imune. Sobre este aspecto, é significativo o fato de muitas cepas clínicas tolerantes serem isoladas de sítios de infecções de difícil acesso ao sistema imune: endocar-

dite valvular, meningite e outros⁽²⁷⁾.

Sob uma perspectiva da antibioterapia, devemos realçar o seguinte exemplo: Pulliam e col.⁽²⁸⁾ demonstraram que endocardites (provocadas com cepas tolerantes de *Streptococcus sanguis* em coelhos) eram mais facilmente debeladas com penicilina G-procaína, do que aquelas conseguidas com cepas não tolerantes. Exemplos semelhantes são citados na literatura^(29,30), mostrando uma clara relação entre tolerância e eficácia de tratamento: para vencer a tolerância, é preciso aumentar (substancialmente) a dose e o tempo de ação do antibiótico, com os riscos inerentes.

Tolerância em *Staphylococcus aureus* no HUAP-UFF

A tolerância aos antibióticos amicacina, cefalotina, cefoxitina e oxacilina foi determinada em 51 amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de pacientes atendidos nos diversos setores do HUAP-HFF, tendo em vista o uso mais freqüente daquelas drogas no combate às estafilococcias diagnosticadas na Instituição. Porque a vancomicina é o antibiótico escolhido para tratar as infecções (mais rebeldes) provocadas por *S. aureus*, as cepas identificadas como tolerantes (CMB/CMI ≥ 16) para os quatro antibióticos acima mencionados foram testados com a vancomicina. Em nossas experiências, cultura em fase exponencial de crescimento foi inoculada (10^5 ufc/ml) em cada um de uma série de 12 tubos contendo o antibiótico em concentração decrescente (diluição à metade). Após 24 horas a 37°C, a CMI foi determinada como a menor concentração do antibiótico capaz de inibir o crescimento (macroscopicamente detectável) da cultura. Então, 10 μ l foram plaqueados, as placas foram incubadas a 37°C (durante 24 horas), as colônias contadas e a CMB definida como a menor concentração da droga que matou 99,9% do inóculo.

Os nossos resultados constituem a tabela 1 e se enquadram no seguinte contexto de discussões. A tolerância apresentou esta ordem de prevalência: oxacilina (22%), cefalotina (12%), amicacina (9%) e cefoxitina

Tabela 1 — Tolerância a antibióticos (CMB/CMI ≥ 16) em cepas de *Staphylococcus aureus* do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP)

Antibióticos	Nº de cepas tolerantes
Amicacina (Am)	4 (8,88%)
Cefalotina (Ce)	6 (11,76%)
Cefoxitina (Cx)	1 (1,96%)
Oxacilina (Ox)	11 (21,56%)
Vancomicina (Va)	0 (0,00%)

Tolerância: Ox > Ce > Am > Cx > Va. Cepa tolerante: CMB/CMI ≥ 16 (Rajashkaraiah, *Ann Intern Med*, 93: 796-800, 1980).

(2%). Nenhuma das cepas tolerantes a estes antibióticos exibiu tolerância à vancomicina. Tendo em vista que a oxacilina (o mais usado) e a cefoxitina (o menos usado) exibiram, respectivamente, a maior e a menor taxa de tolerância, os nossos resultados levantam a questão: a tolerância pode ser induzida pela freqüência de uso do antibiótico? Eles sugerem, também, que a vancomicina deve ser a droga de preferência para o combate das infecções provocadas por aqueles *S. aureus* tolerantes. Esta tolerância, contudo, não impossibilita o emprego daqueles antibióticos no tratamento daquelas infecções, desde que as doses possam ser adequadas ao valor mínimo de 16 x CMI, em função da solubilidade e dos efeitos colaterais de cada droga.

Discussões e conclusões

Apesar de os estudos sobre os mecanismos de ação de antibióticos e mecanismos genético-bioquímicos de defesas das bactérias contra esses agentes terem feito indiscutíveis progressos nos últimos anos, a sobrevivência bacteriana à antibioterapia continua sendo um desafio em clínica^(31,32). Se, por um lado, o homem isola ou sintetiza novos antibióticos, pelo outro, as bactérias ampliam, a todo instante, o seu "arsenal" de defesas, recorrendo aos mecanismos que possibilitam a neutralização dos efeitos (inibitório, bacteriostático, bactericida e bacteriolítico) dessas drogas. Esses mecanismos vão desde a alteração da permeabilidade da parede e/ou das membranas, pas-

sando pela produção de enzimas inativadoras dos antibióticos, até a modificação dos seus sítios de ação. As bactérias dispõem, ainda, de plasmídios e transposons, por meio dos quais difundem, entre si, a competência genético-bioquímica que lhes confere esses mecanismos de defesa⁽²⁾.

À clássica resistência bacteriana aos antibióticos, caracterizada por valores aumentados das concentrações mínimas: inibitória (CMI) e bactericida (CMB), em relação aos valores das cepas sensíveis, somou-se, desde o início da década de 70, a tolerância (mais um obstáculo à antibioterapia). Na cepa tolerante, a CMI é a mesma da cepa sensível; a CMB, contudo, é muito mais alta, de tal modo que: CMB/CMI ≥ 16 . Do ponto de vista terapêutico, para matar a cepa resistente, basta alcançar a CMI (= CMB), no sítio da infecção; a morte da cepa tolerante, entretanto, exige, pelo menos, 16 x CMI. Esta exigência para combater as cepas tolerantes levanta dois aspectos importantes, no plano clínico: 1.º o conhecimento da CMB (e não apenas da CMI) é fundamental, na orientação à antibioterapia; e 2.º o aumento da concentração do antibiótico, para atingir a CMB (16 x CMI, no mínimo), no sítio da infecção. Esta necessidade de aumentar a concentração do antibiótico poderá resultar em uma das duas seguintes conseqüências: 1.ª o não atingimento da CMB, no sítio da infecção, frustrando a cura, principalmente, em pacientes imunossuprimidos⁽³³⁾; e 2.ª o desencadeamento dos chamados efeitos colaterais dos antibióticos.

No nosso exemplo com as cepas de *S. aureus*, ficou evidente que a tolerância deve ser motivo de alerta para os clínicos, na medida em que foi verificada nos testes com os 4 antibióticos usados pelo Hospital no combate às estafilococcias. O fato de aquelas cepas tolerantes serem, além de sensíveis, não tolerantes à vancomicina representa uma certa conveniência, em termos de antibioterapia. Esta conveniência, contudo, é relativa, face aos diversos efeitos desta droga, devido às suas propriedades irritantes, tóxicas e alergizantes. Desses efeitos, os mais rele-

vantes são a nefrototoxicidade e a ototoxicidade.

Concluindo, devemos afirmar que, no HUAP-UFF, como em qualquer outro hospital, há que se estabelecer uma vigilância permanente sobre a prevalência da resistência e da tolerância bacterianas aos antibióticos, a fim de que o seu corpo clínico possa realizar uma antibioticoterapia racional e efetiva. Esta tarefa é da competência dos grupos de todos os profissionais envolvidos com a saúde pública, aos quais cabe, também, a importante missão de estimular a organização de rotinas e de prescrições antimicrobianas, nas disciplinas e/ou nos setores clínicos da unidade.

Por outro lado, devemos incentivar e desenvolver estudos sobre a tolerância bacteriana a antibióticos em outras bactérias, como: *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus ducreyi*, entre outras, a fim de estabelecer as causas dos insucessos terapêuticos, condição imperativa na orientação, segura, de um tratamento eficaz.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com as ajudas materiais da PROPP-UFF, do CNPq (Proc. 406659/87-7/BM/IV), e da FAPERJ (Proc. E-29/170.660/88). Também contamos com as colaborações pessoais da Farmacêutica-Bioquímica Regina Carmen Espósito, da Bolsista de Iniciação Científica Mayre Aparecida Borges da Costa (Proc. CNPq 802152/87-2) e do Bolsista de Apoio Técnico Ivan Miguel Mendes Martins (Proc. CNPq 373028/87-3).

Um agradecimento especial a Eugênio Carlos da Rocha, pelo excelente trabalho de datilografia.

Referências

1. LORIAN V — The mode of action of antibiotics on Gram-negative bacilli. *Arch Intern Med*, 128: 623-632, 1971.
2. FREITAS CC — Aspectos Genético-bioquímicos da Resistência Bacteriana aos Antibióticos. Em: Zanon U, Neves J — Infecções Hospitalares: prevenção, diagnóstico e tratamento. MEDSI, Rio de Janeiro, 1987.
3. COSTERTON JW — Cell Envelope as a Barrier to Antibiotics. In: Schlessinger D (ed) — Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1977.
4. BROWN MRW, WILLIAMS P — The influence of environment on envelope properties of bacteria in infections. *Ann Rev Microbiol*, 39: 527-556, 1985.
5. WILLIAMS P — Role of the cell envelope in bacterial adaptation to growth *in vivo* infections. *Biochemie*, 70: 987-1011, 1988.
6. LORIAN V, ATKINSON B — Abnormal forms of bacteria produced by antibiotics. *Am J Clin Pathol*, 64: 678-688, 1975.
7. SHIBLAM — Effect of antibiotics on adherence of microorganisms to epithelial cell surfaces. *Rev Infect Dis*, 7: 51-65, 1985.
8. BROWN MRW, MELLING J — Loss of sensitivity to EDTA by *Pseudomonas aeruginosa* grown under conditions of Mg-limitation. *J Gen Microbiol*, 54: 439-444, 1969.
9. BROWN MRW, MELLING J — The role of divalent cations in the action of polymyxin B and EDTA on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Gen Microbiol*, 59: 263-274, 1969.
10. MALOUIN F, BRYAN LE — Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of beta-lactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 30: 1-5, 1986.
11. TOMASZ A, ALBINO A, ZENATI E — Multiple antibiotic resistance in a bacterium with suppressed autolytic system. *Nature*, 227: 138-140, 1970.
12. RAJASHEKARAIKH KR, RICE T, RAS VS, MARCH D, RAMAKRISHNA B, KALLICK CA — Clinical significance of tolerant strains of *Staphylococcus aureus* in patients with endocarditis. *Ann Intern Med*, 93: 796-800, 1980.
13. TUOMANEN E, DURACK DT, TOMASZ A — Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 30: 521-527, 1986.
14. TOMASZ A — From penicillin-binding proteins to the lysis and death of bacteria: a 1979 review. *Rev Infect Dis*, 1: 434-467, 1979.
15. FLEMING A — On the antibacterial action of cultures of penicillin, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol*, 10: 226-236, 1929.
16. ABRA-

- HAMER, CHAIN E, FLETCHER CM, FLOREY HW, GARDNER AD, HEALTEY NG, JENNINGS MA — Further observations on penicillin. *Lancet*, 2: 177-188, 1941.
17. MITSCHER LA — Chemistry of newer antibiotics directed toward overcoming bacterial resistance. *Bull NY Acad Med*, 63(3): 269-294, 1987.
18. SHAW WV — Bacterial resistance to chloramphenicol. *Br Med Bull*, 40: 36-41, 1984.
19. PHILLIPS IA, SHANNON K — Aminoglycoside resistance. *Br Med Bull*, 40: 28-35, 1984.
20. HANCOCK REW — Role of porins in outer membrane permeability. *J Bacteriol*, 169: 929-933, 1987.
21. CHOPRA J — Antibiotic resistance resulting from decreased drug accumulation. *Br Med Bull*, 40: 11-17, 1984.
22. CUCHURAL GJ, HURLBUT S, MALAMY MH, TALLY FP — Permeability to beta-lactams in *Bacteroides fragilis*. *J Antimicrob Chemother*, 22: 785-790, 1988.
23. REYNOLDS PE — Resistance of the antibiotic target site. *Br Med Bull*, 40: 3-10, 1984.
24. BEST GK, BEST NH, KORAL AV — Evidence for participation of autolysins in bactericidal action of oxacillin on *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 6: 273-277, 1974.
25. MAYHALL CG, MEDOFF G, MARR JJ — Variation in susceptibility of strains of *Staphylococcus aureus* to oxacillin, cephalothin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother*, 10: 707-712, 1976.
26. SABATH LD, LAVADIER M, WHEELER N, BLAZEVIC D, WILKINSON BJ — A new type of penicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, i: 443-444, 1977.
27. HANDWERGER S, TOMASZ A — Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Rev Infect Dis*, 7: 368-386, 1985.
28. PULLIAM L, INOKUCHI S, HADLEY WK, MILLIS J — Penicillin tolerance in experimental streptococcal endocarditis. *Lancet*, ii: 957, 1979.
29. BRENNAN RO, DURACK DT — Therapeutic significance of penicillin tolerance in experimental streptococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother*, 23: 273-277, 1983.
30. LOWY FD, NEUHAUS EG, CHANG DS, STEIGBIGEL NH — Penicillin therapy of experimental endocarditis induced by tolerant *Streptococcus sanguis* and non-tolerant *Streptococcus mitis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 23: 67-73, 1983.
31. REUBEN AG, MUSER DM, HAMILL RJ, BROUQUE I — Polymicrobial bacteremia: clinical and microbiologic patterns. *Rev Infect Dis*, 11 (2): 161-183, 1989.
32. FREITAS CC, ESPÓSITO REC, CABALLIDO JM, ARAGÃO VGT — Resistência e tolerância a antibióticos em cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de pacientes do HUAP-HFF. *Rev Bras Med*, 46 (7): 312-316, 1989.
33. SANDE MA — Antimicrobial therapy of infections in patients with AIDS — An overview. *J Microb Chemother*, 23: 63-65, 1989.

Jornada do Instituto Alfred Fournier

SIMPÓSIO EUROPEU SOBRE PAPILOMAVIRUS NA PATOLOGIA HUMANA

Diretor Científico: Dr. Joseph Monsonogo
25, Boulevard Saint-Jacques — 75014 — Paris
Tel.: (1) 45.81.45.11 — Telex: 205925 F

Inscrições e Solicitação de Programa:
MFC

10, Rue de la Paix — 75002 — Paris
Tel.: (1) 45.65.28.89 — Telex: 205925