

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DO SUL DE MINAS**

**BIOMEDICINA**

**JORDANA CRISTINA OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANO**

**Varginha  
2011**

**JORDANA CRISTINA OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANO**

Monografia apresentada ao curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS/MG como pré-requisito para obtenção do grau de (bacharel), sob orientação do Prof.Ms. Amilton Marques.

**Varginha  
2011**

**JORDANA CRISTINA OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANO**

Monografia apresentada ao curso de Biomedicina do Centro Universitário do Sul de Minas – UNIS/MG, como pré-requisito para obtenção do grau de (bacharel) pela Banca Examinadora composta pelos membros:

Aprovado em:

---

Ms. Amilton Marques

---

Maria Celma Pires do Prado Furlanetto

---

Roberta Ribeiro de Carvalho

**JORDANA CRISTINA OLIVEIRA**

Dedico este trabalho a todos que me ajudaram  
para a sua realização.

**Varginha**  
**2011**

## RESUMO

Nas últimas décadas a população mundial vem passando por grave problema relacionado ao grande aumento da resistência bacteriana, resultando em uma terapia sem opção de escolha, já que vários microrganismos são resistentes a mais de um antibiótico. No ambiente hospitalar este problema é mais sentido, sendo os imunocomprometidos acamados os mais prejudicados. Os mecanismos de resistência das bactérias são vários, mas os relacionados à produção de enzimas são um dos principais, sendo capaz de inativar a ação do antimicrobiano, como a produção de  $\beta$ -lactamase, sendo primeiramente encontrada na bactéria *Escherichia coli*. As enzimas  $\beta$ -lactamase de espectro estendido ESBL são mutações que aumentam o seu espectro de ação, sendo capazes de hidrolisar as cefalosporinas de amplo espectro, como a cefotaxima e ceftazidima, e os monobactâmicos, como o aztreonam. Varias bactérias gram-positivas e gram-negativas são produtoras desta enzima. As bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae* são responsáveis por 80% dos isolados clínicos entre os bacilos gram-negativos e representa 50% dos isolados nos laboratórios de microbiologia. Devido à resistência que eles apresentam são responsáveis por 50% dos casos de sepse e 70% das infecções do trato urinário (ITU). As bactérias gram-positivas estão tomando novos padrões de importância, pelos relatos de resistência, não sendo voltada somente a atenção para as bactérias gram-negativas, dentre os principais patógenos gram-positivos estão o *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulase negativos e os enterococos. Os antibióticos são os únicos fármacos que não afetam somente o paciente, mas também altera a ecologia do local, como que pode ser observado no ambiente hospitalar, sendo um dos principais veiculadores destes microrganismos os profissionais da saúde, transportando muitas vezes bactérias multirresistentes para os pacientes, ocasionando maiores transtornos. Eles são divididos em classes, onde várias características são particulares das classes, como: bacteriostáticos ou bactericidas, a sua origem, natural ou sintético, sua ação contra gram-positivos ou gram-negativos e seu local de sua ação.

**Palavras-chave:** Resistência bacteriana. Superbactérias. Antibioticoterapia.

## ABSTRACT

In the last decades the world population is going through serious problem related to the great increase of the bacterial resistance, resulting in a therapy without choice option, since several microorganisms are more than one antibiotic resistant. In the hospital atmosphere, this problem is more noticed, being the ill immunocompromised the most damaged ones. The mechanisms of resistance of the bacterias are several, but the ones related to the production of enzymes are the main capable of inactivate the action of the antimicrobial, as the production of  $\beta$ -lactamase, being firstly found in the bacteria *Escherichia coli*. The enzymes  $\beta$ -lactamase of ESBL extended spectrum are mutations that increase its action spectrum, being capable of hydrolyse the cephalosporins of wide spectrum, as the cefotaxime and ceftazidime, and the monobactams, as the aztreonam. A lot of gram positives and gram negatives bacterias are the producers of this enzyme. The bacterias belonging to the Enterobacteriaceae family are responsible for 80% of the clinical isolated ones among the gram negative bacilli and it represents 50% of the isolated ones in the microbiology laboratories. Due to the resistance that they present they are responsible for 50% of the cases of sepsia and 70% of the infections of the urinary tract (UTI). The gram-positive bacterias are taking new patterns of importance, for the resistance reports, not being turned the attention only to the gram negatives bacterias, among the principal gram positive pathogens are the *Staphylococcus aureus*, negative coagulase staphylococcus and the enterococci. The antibiotics are the only medicine that don't affect only the patient, but also alter the ecology of the place, as it can be observed in the hospital atmosphere, being one of the principal transmitter of these microorganisms the health professionals, transporting, many times, multiresistant bacterias for the patients, causing a lot of inconveniences. They are divided into classes, where several characteristics are peculiar of the classes, as: bacteriostatics or bactericidal, its origin, natural or synthetic, its action against gram positives or gram negatives and the area of its action.

Key words: Bacterial resistance. Superbacterias. Antibiotic therapy.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>5</b>
<b>2 BACTÉRIAS</b> .....	<b>7</b>
2.1 Gram-positivas.....	7
2.2 Gram-negativas.....	8
<b>3 AÇÃO ANTIMICROBIANA</b> .....	<b>12</b>
3.1 Por Inibição da Síntese.....	12
3.2 Inibição da função da membrana celular.....	12
3.3 Por Inibição da síntese de proteínas.....	13
3.4 Por Inibição da síntese de ácidos nucleicos.....	13
<b>4 CLASSES DE ANTIBIÓTICOS</b> .....	<b>14</b>
4.1 Beta-lactâmicos.....	14
4.1.1 Penicilinas.....	15
4.1.2 Cefalosporinas.....	16
4.1.3 Carbapenêmicos.....	17
4.1.4 Monobactamas ( $\beta$ -lactâmicos monocíclicos).....	18
4.2 Aminoglicosídeos (aminociclitois).....	19
4.3 Macrolídios.....	20
4.4 Fluorquinolonas e Quinolonas.....	21
4.5 Glicopeptídeos.....	22
4.6 Lincosaminas.....	23
4.7 Tetraciclínas.....	23
4.8 Anfencóis.....	24
4.9 Oxazolidinonas.....	25
4.10 Polimixinas.....	26
<b>5 RESISTÊNCIA BACTERIANA</b> .....	<b>27</b>
5.1 Alteração da Permeabilidade.....	28
5.2 Alteração do Sítio de ação do antimicrobiano.....	28
5.3 Hiperexpressão da Bomba de efluxo.....	29
5.4 Mecanismo enzimático – Produção de $\beta$ -lactamases.....	30
5.4.1 $\beta$ -lactamases.....	30
5.4.2 Classificação e nomenclatura.....	32
5.4.3 Metallo- $\beta$ -lactamases (MBL).....	34
5.4.4 Cefalosporinases.....	36
5.4.5 Carbapenemases.....	37
5.4.6 $\beta$ -lactamases de espectro estendido.....	37
5.4.6.1 Prevalência de ESBL.....	40
5.4.6.2 Testes.....	40
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo Rodrigues (2005) apud Oliveira (2005), vários microrganismos tem adquirido multi- resistência devido ao uso indiscriminado de medicamentos e, a partir da década de 70, houve um processo de aceleração do aparecimento de cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos, especialmente nos ambientes hospitalares.

Durante muitos anos, a indústria farmacêutica conseguiu a produção de fármacos eficientes contra diversas infecções microbianas, revolucionando a terapêutica, conseguindo a diminuição drástica da mortalidade por doenças infecciosas. Mas, com o uso exagerado de antibióticos fez com que ocorresse o desenvolvimento de defesas do microrganismo frente a diversos fármacos, fazendo com que o tratamento de infecções ficasse limitado, (RONG et al, 2001; VARALDO, 2002; WISE, 2003 apud SILVEIRA et al, 2006), chegando hoje a ser um problema de saúde pública.

Dentre os mecanismos mais importantes de defesa da bactéria está na produção de enzimas que degradam o antimicrobiano, tornando incapaz de atuar e matar a célula bacteriana. (ANVISA, 2007). Tem sido relatada a produção de enzimas  $\beta$ -lactamases como um importante mecanismo de resistência a antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, como penicilinas, cefamicidas e os carbapenêmicos tendo seu mecanismo de ação no anel beta-lactâmico do núcleo estrutural das penicilinas (ácido 6-aminopenicilâmico), onde há a hidrólise da ligação amida, provocando a formação do ácido penicilóico, desprovido da atividade, ou seja, o antibiótico perde a capacidade de inibir a síntese da parede celular bacteriana. (WILLIAMS, 1999 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?]; ANVISA, 2007). Existem diversas  $\beta$ -lactamases diferentes que variam do substrato e do microrganismo produtor, sendo encontradas tanto em bactérias gram-positivas quanto negativas. (ANVISA, 2007).

As  $\beta$ -lactamases de Espectro Estendido (ESBL) são uma das maiores preocupações principalmente no âmbito hospitalar, estando presente em diversas infecções causando grandes problemas para os pacientes infectados, ocasionando até mesmo no óbito dos mesmos. Ela é resultado de uma mutação, aumentando o espectro da enzima  $\beta$ -lactamase, com o aumento da sua ação ela é capaz de hidrolizar as cefalosporinas de amplo espectro como a cefotaxima, ceftazidima, os monobactâmicos, e como o aztreonam. A ocorrência destas mutações, não somente com relação a esta enzima, mas também a outros mecanismos de defesa como alterações de permeabilidade, alterações do sítio de ação e bomba de efluxo, que serão descritos posteriormente, faz com que a opção de escolha para o tratamento de



certas infecções ocasionadas por bactérias multirresistentes seja escassa, até mesmo não sendo possível a realização do tratamento.

A mutirresistência é um problema de saúde pública, tendo que ser tratada com seriedade, por isto a importância de haver mais estudos, sendo o objetivo deste trabalho verificar através de estudos já realizados, os mecanismos de resistência presentes nas bactérias frente a vários antibióticos utilizados nos tratamentos de infecções, buscando dados com as principais bactérias que possuem maior incidência em infecções com dificuldades de tratamento, as classes de antibióticos que está havendo maior incidência de resistência e os mecanismos que as bactérias apresentam que se tornam resistentes a estes antimicrobianos.

## 2 BACTÉRIAS

### 2.1 Gram-positivas

As bactérias gram-positivas são de grande importância no ambiente hospitalar, particularmente os cocos gram-positivos, como o *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulase-negativo e os *Enterococos*. Este grupo de bactérias vem tomando novos padrões de resistência, como a resistência dos *Enterococcus spp.* frente a vancomicina e o *S. aureus* frente a oxacilina, não voltando mais a atenção para os gram-negativos. (ANVISA, 2007).

Os *Staphylococcus* fazem parte da microbiota normal no nosso organismo habitando as membranas mucosas do intestino, do trato respiratório superior e na pele, sendo um dos principais responsáveis pelas gastroenterites. (GERMANO; GERMANO, 2007 apud RIZEK, 2010). Os *Staphylococcus* meticilina resistentes (MRSA) são um grande problema na saúde pública mundial nas instituições de saúde, principalmente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), (KLEVENS et al, 2006 apud VIDAL, 2007), sendo responsáveis por grande espectro de doenças infecciosas, como as septicemias, as endocardites, as pneumonias, as osteomielites, as artrites sépticas, as bacteremias, as infecções da pele, no sistema nervoso central, no trato urinário e infecções associadas a dispositivos intravasculares e corpos estranhos, envolvendo genes multirresistentes dificultando o tratamento. (CROSSLEY et al, 1997; FEIL et al, 2003; FEY et al, 2003; GORDON; LOWY, 2008 apud PALOS, 2006).

Na década de 50 os *S. aureus* que foram isolados em hemoculturas, apresentaram um nível alto de resistência à penicilina, onde esta resistência envolvia a produção de penicilinase, hoje chamada de  $\beta$ -lactamase, que possui a capacidade de degradar a droga antes dela atingir a bactéria, sendo a penicilina ineficaz contra *S. aureus*. No início da década de 60 foram relatadas cepas de *S. aureus* resistentes às penicilinas-betalactamase estáveis, como a meticilina e a oxacilina, chamando assim de *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*-MRSA/ORSA, a resistência a estes antimicrobianos foram relatadas após a utilização dos mesmos no uso terapêutico. (HIRAMATSU et al, 2002; DERESINSKI, 2005; CHAMBERS, 1997 apud TIZOTTI et al, 2011).

Segundo o *National Nosocomial Infections Surveillance System*, apresentou dados onde ultrapassa 50% das infecções ocorridas nas UTIs, dos Estados Unidos da América (EUA), tendo como o agente o *Staphylococcus* MRSA e no Brasil os índices variam de 40% a

80%, sendo as UTIs o principal local onde a prevalência desta bactéria. (NNISS, 2004 apud VIDAL, 2007; ANVISA, 2007).

Os *enterococcus spp.* apresentam aumento com relação a resistência à vários antibióticos, sendo considerado o segundo microrganismo mais isolado em infecções nosocomiais e o terceiro mais comum causador de bacteremia adquirida em hospitais nos Estados Unidos (CENTINKAYA; FALK; MAYHALL, 2000 apud HENRIQUE, 2007) sendo responsáveis por graves infecções como, endocardites, infecções da corrente sanguínea, infecções urinárias e de feridas cirúrgicas, sendo os imunocomprometidos os mais atingidos por este agente já que eles fazem parte da microbiota comensal intestinal de animais e humanos. (MURRAY, 2000; CENTIKAWA; FALK; MAYHAL, 2000; OPREA et al, 2004 apud PERUGINI, 2008).

No ambiente hospitalar uma das principais razões da sua persistência é a resistência intrínseca a diversos antimicrobianos comumente utilizados, como os  $\beta$ -lactâmicos, clindamicinas, fluoroquinolonas e também da capacidade de adquirir resistência a outros antibióticos como os aminoglicosídeos e os glicopeptídeos, sendo esta resistência adquirida através de plasmídeos e transposons. (CLEVEL, 1990; CHANG et al, 2003 apud HENRIQUE, 2007). A resistência a vancomicina é outro fator relevante sendo uma emergência dos vários perfis fenotípicos de *E. faecalis* e *E. faecium*. (GOMES, 2007). Com tudo isto existe poucas alternativas no tratamento de infecções enterocócicas, sendo a lincomicina o antimicrobiano de escolha. (CENTINKAYA; FALK; MAYHALL, 2000 apud GOMES, 2007). Mas segundo a ANVISA, (2007) o *E. faecium* é o menos sensível aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos em comparação com o *E. faecalis* por possuir baixa afinidade das proteínas de ligação da penicilina (PBPs) frente a estes compostos.

O *Streptococcus pneumoniae* é considerado o principal agente causador das infecções respiratórias adquiridas da comunidade, como as otites, sinusites e pneumonias, podendo esta ser acompanhada por bacteremias. (DiFABIO et al, 1997; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2009 apud LUCAREVSCHI, 2010).

## 2.2 Gram-negativas

Foi na segunda metade do século XX, que as infecções Gram-negativas tornaram-se um grave problema principalmente em pacientes com doenças crônicas de base, idosos e

imunossuprimidos. Após a ascensão dos bacilos Gram negativos aeróbios e anaeróbios facultativos como importantes patógenos das infecções hospitalares nos anos 50 e 60, vem registrando o sucessivo confronto entre novos antibióticos beta-lactâmicos, de espectro cada vez mais ampliado, e a produção de diferentes beta-lactamases que os inativam. Como consequência quase inevitável é a emergência de cepas hospitalares cada vez mais resistentes, entre patógenos considerados comuns como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* e a importância crescente de Gram negativos intrinsecamente mais resistentes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter cloacae*

As bactérias gram-negativas são consideradas nas últimas décadas um dos principais agentes etiológicos e um grave problema de Saúde Pública, sendo destaque importante nas infecções hospitalares.

Os gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Yersinia* são considerados as bactérias gram-negativas de maior importância médica. (ABBOTT, 2007; FARMER III; BOATWRIGHT; JANDA, 2007; NATARO et al, 2007; WANGER, 2007 apud ANDRADE, 2008). As bactérias gram-negativas que pertencem à família *Enterobacteriaceae*, conhecidas como enterobactérias, possuem grande importância médica constituindo 80% dos isolados de bacilos gram-negativos e microbiológica tendo 50% dos isolados nos laboratórios de microbiologia. Devido às infecções de grande gravidade e ao surgimento de bactérias multirresistentes a antibióticos utilizados na terapêutica, as enterobactérias são responsáveis por aproximadamente 50% dos casos de sepse, mais que 70% dos casos de infecção do trato urinário e uma significativa porcentagem de infecções intestinais. (FARMER; BOATWRIGHT; JANDA, 2007 apud ANDRADE, 2008). As bactérias pertencentes a esta família são encontradas no solo, nas plantas, nas frutas, nos vegetais, na água, no leite e também como colonizantes do trato intestinal do homem e dos animais, sendo patógenos intestinais importantes como a *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* e as que colonizam o trato gastro intestinal como a *Escherichia coli* e a *Klebsiella spp.* (FARMER; BOATWRIGHT; JANDA, 2007 apud ANDRADE, 2008;).

A *Klebsiella spp.* está associada principalmente nas pneumonias de pacientes hospitalizados, tendo um índice de 12,1% - 16,9% das infecções presentes nas Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), sendo depois da *Escherichia coli* a enterobactéria mais prevalente e a quarta na ocorrência de infecções hospitalares. A *E. coli* depois da *Staphylococcus aureus* ocupa o segundo lugar no mundo na lista dos patógenos mais frequentes em infecções hospitalares, principalmente associada a infecções do trato urinário (ITU) que no Brasil é

responsável por 48%, nas infecções de corrente sanguínea é responsável cerca de 11,2% e nas infecções de tecidos moles é responsável por 7,2%. (SADER et al, 2001 apud AGUILAR, 2009) e *Enterobacter* que ocupa o terceiro lugar no mundo de prevalência entre as *Enterobacteriaceae* são as enterobactérias que frequentemente causam meningite resultando em alta taxa de mortalidade por causa da patogenicidade e da resistência aos antibióticos. (KHAN, 2004; KIM, 2001; JANDA; ABOT, 2005; PODSCHUN; ULLMANN, 1998 apud ANDRADE, 2008). Desde a década de 80 a resistência deste patógeno frente aos antimicrobianos vem causando preocupações, sendo a produção de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL), o principal mecanismo de defesa.

Em infecções hospitalares, existem outros bacilos gram-negativos importantes, conhecidos como Bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose, como a *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, entre outros. Estes bacilos possuem grande capacidade de sobreviver por longos períodos em superfícies, tendo necessidades nutricionais mínimas, e também por possuir grande tolerância às variações ambientais, por isto estão frequentemente em infecções hospitalares. Outra característica importante é a grande capacidade de desenvolver resistência a diversos antimicrobianos, além de possuir mecanismos de escape da defesa do hospedeiro, que normalmente é exposto ao uso de técnicas invasivas com fins diagnósticos e ou terapêuticos. (MENDONÇA, 1997).

A *Pseudomonas aeruginosa* no homem coloniza preferencialmente o períneo, axilas e ouvido e, no ambiente hospitalar, proliferam em equipamentos respiratórios, soluções de limpeza, pias e vegetais, e é amplamente distribuído no ambiente, com predileção por locais úmidos. (MENDONÇA, 1997).

*Acinetobacter* spp é um microrganismo ubíquo, presente em uma variedade de locais e situações. Estão amplamente distribuídos na natureza: água, solo, esgotos e animais, além de poderem ser colonizantes intestinais de indivíduos saudáveis. Os pacientes hospitalizados podem ser colonizados pela pele e intestino, surgindo assim um foco para surtos de infecção hospitalar. A transmissão nosocomial pode ocorrer através de mãos do pessoal da saúde. Pode ser encontrado no ambiente hospitalar, em locais úmidos, pias, colchões, equipamento de ventilação mecânica, assim como em superfícies secas, podendo sobreviver até 60 horas em superfície de laminado melamínico, revestimento da maioria das bancadas de postos de enfermagem e de móveis hospitalares (MENDONÇA, 1997, p. 23).

Segundo Diekema et al (1999) e Jang et al (1999), em pacientes que possuem como fatores de risco a antibioticoterapia prévia, a quimioterapia, a exposição a procedimentos

invasivos de diagnóstico ou terapêuticos, a ventilação mecânica, o cateter venoso, as doenças de base graves como as neoplasias e queimaduras extensas além de cirurgias de grande porte, os bacilos Gram negativos são capazes de causar uma grande variedade de infecções hospitalares. Sendo necessária a aplicação de um antibiótico de amplo espectro para que seja eficaz contra a infecção causando, sendo este um dos maiores problemas.

## 3 AÇÃO ANTIMICROBIANA

### 3.1 Por inibição da síntese

A parede celular é o que mantém a forma do microrganismo revestindo membrana celular bacteriana, dando a bactéria proteção e sustentação. Os antibióticos, como os todos os  $\beta$ -lactâmicos que se mostram ativos contra bactérias de crescimento, agem sobre a síntese da parede celular, inibindo a sua formação ou produzindo defeitos estruturais nas mesmas, podendo levar a lise da célula. (AWETZ et al, 2005; ONIBRAS, 2011).

Os agentes com esta ação antimicrobiana atuam sobre o processo de replicação celular, e são seletivos, quer dizer o antibiótico vai atuar apenas sobre a bactéria alvo e não sobre o hospedeiro porque os mamíferos não possuem parede celular (ONIBRAS, 2011), com isto, eles correspondem aos antimicrobianos mais seletivos, apresentando um elevado índice terapêutico. As penicilinas, ampicilina e cefalosporinas, possuem um anel  $\beta$ -lactâmico, que interage com as proteínas que são denominadas de PBPs (Penicilin Binding Protein). Estas proteínas inibem a enzima envolvida na transpeptidação, chamadas de proteínas ligadoras de penicilinas, não havendo assim a formação das ligações entre os tetrapeptídeos de cadeias adjacentes de peptidoglicano, pois a enzima inibida é responsável pela ligação das cadeias de tetrapeptídeos do peptidoglicano, resultando no não enrijecimento da parede celular. (KYAW, [2003?]).

### 3.2 Inibição da função da membrana celular

A membrana citoplasmática delimita o citoplasma de todas as células vivas, mas as membranas de fungos e bactérias possuem conformações diferentes das células animais e é mais fácil de ser rompida por determinados agentes. A função desta membrana é formar a parede celular e selecionar as substâncias importantes para o desempenho funcional da célula, sendo assim uma barreira de permeabilidade seletiva, desempenhando as funções de transporte ativo. A membrana contém lipídeos e proteínas carreadoras de substâncias, além de possuir enzimas importantes ao metabolismo celular. Se ocorrer algo que prejudique a

integridade funcional da membrana citoplasmática, as macromoléculas e os íons irão escapar e com consequência haverá lesão e morte celular. (AWETZ et al, 2005; ONIBRAS, 2011)

As polimixinas, que atuam sobre as bactérias gram-negativas, ligando-se entre os fosfolípidos, alterando a permeabilidade (detergentes) e os polienos que atuam sobre os fungos, são exemplos de antibióticos que desempenham estes mecanismos. (AWETZ et al, 2005).

### **3.3 Por inibição da síntese de proteínas**

No cromossomo celular, existem informações genéticas necessárias para que haja a produção de enzimas que atuam na síntese de RNA (síntese protéica). Para que ocorra a replicação bacteriana é necessário que ocorra de modo repetitivo a união de aminoácidos que consequentemente constituirão as proteínas microbianas. Se ocorrer alguma interrupção em qualquer ponto desta cadeia por bloqueio de alguma função, irá prejudicar no seu desenvolvimento e levando a morte celular. (ONIBRAS, 2011).

Sabe-se que o cloranfenicol, eritromicinas, lincomicinas, tetraciclinas, aminoglicídios são capazes inibir a síntese de proteínas nas bactérias. Entretanto, mecanismos precisos de ação desses fármacos não são totalmente estabelecidos. (GEO, 2005, p. 132).

### **3.4 Por inibição da síntese de ácidos nucleicos**

Algumas drogas atuam inibindo a síntese (metabolismo) dos ácidos nucleicos. Podem atuar no DNA parasitário, inibir a síntese do RNA, inibir o ácido tetrahidrofólico, alterar a estrutura do ácidos nucleicos parasitários, ou reduzir a formação de nucleotídeos. Neste grupo incluem-se as quinolonas. (ONIBRAS, 2011).



## 4 CLASSES DE ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos fazem de uma classe de fármacos, sendo compostos de origem natural ou de origem sintética que são capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de microrganismos, sendo os fungos e as bactérias. Possuem classificação que dividem em bactericidas e bacteriostáticos, os bactericidas causam a morte da célula bacteriana já os bacteriostáticos promovem somente a inibição do crescimento da bactéria. Porém sabe-se que estes agentes farmacológicos, os antibióticos, são os únicos que além de afetar os pacientes que os utilizam também há interferência no ambiente hospitalar, tendo a capacidade de alterar a ecologia microbiana do local. (WALSH, 2003 apud GUIMARÃES et al, 2010; ANVISA, 2007)

O avanço no tratamento de infecções ocorreu com a descoberta da penicilina pelo Alexander Fleming, em 1928. Este antibiótico descoberto possuía atividade maior que as sulfas e se deu através da observação de substâncias produzidas por fungos que eram capazes de controlar a proliferação bacteriana. (NICOLAOU, 2008; PROJAN, 2004 apud GUIMARÃES et al, 2010).

### 4.1 Beta-lactâmicos

Os antibióticos denominados  $\beta$ -lactâmicos, possuem em comum no seu núcleo estrutural o anel  $\beta$ -lactâmico, por isto o seu nome, sendo este o que confere sua atividade bactericida, (ANVISA, 2007), que inibe a síntese da parede celular e se ocorrer o rompimento do anel resulta na perda da função do antimicrobiano. (SOLER, 2011). Esta classe constitui a primeira derivada de produtos naturais, utilizados na terapêutica contra infecções bacterianas, com amplo espectro, eficácia clínica e excelente perfil. A sua ação, ocorre à inibição irreversível da enzima transpetidase, que é exclusiva nas bactérias, esta catalisa a reação transpetidação entre as cadeias de peptideoglicana da parede bacteriana. Este grupo possui agentes mais comumente utilizados na terapêutica, como as penicilinas, as cefalosporinas, os carbapenes e os monobactams. (GUIMARÃES, 2010).

Nos mecanismos de resistência das bactérias frente a estes antibióticos, está: a produção de enzimas que é o principal mecanismo, onde a enzima produzida chama-se  $\beta$ -

lactamases que promove a abertura do anel  $\beta$ -lactâmico, dentre outros mecanismos como a modificação estrutural das proteínas ligadoras de penicilina (PLP) que são codificadas pelo gene *mecA*; e a diminuição da permeabilidade bacteriana ao antimicrobiano que ocorre através de mutações e nas modificações das porinas. (GUIMARÃES, 2010).

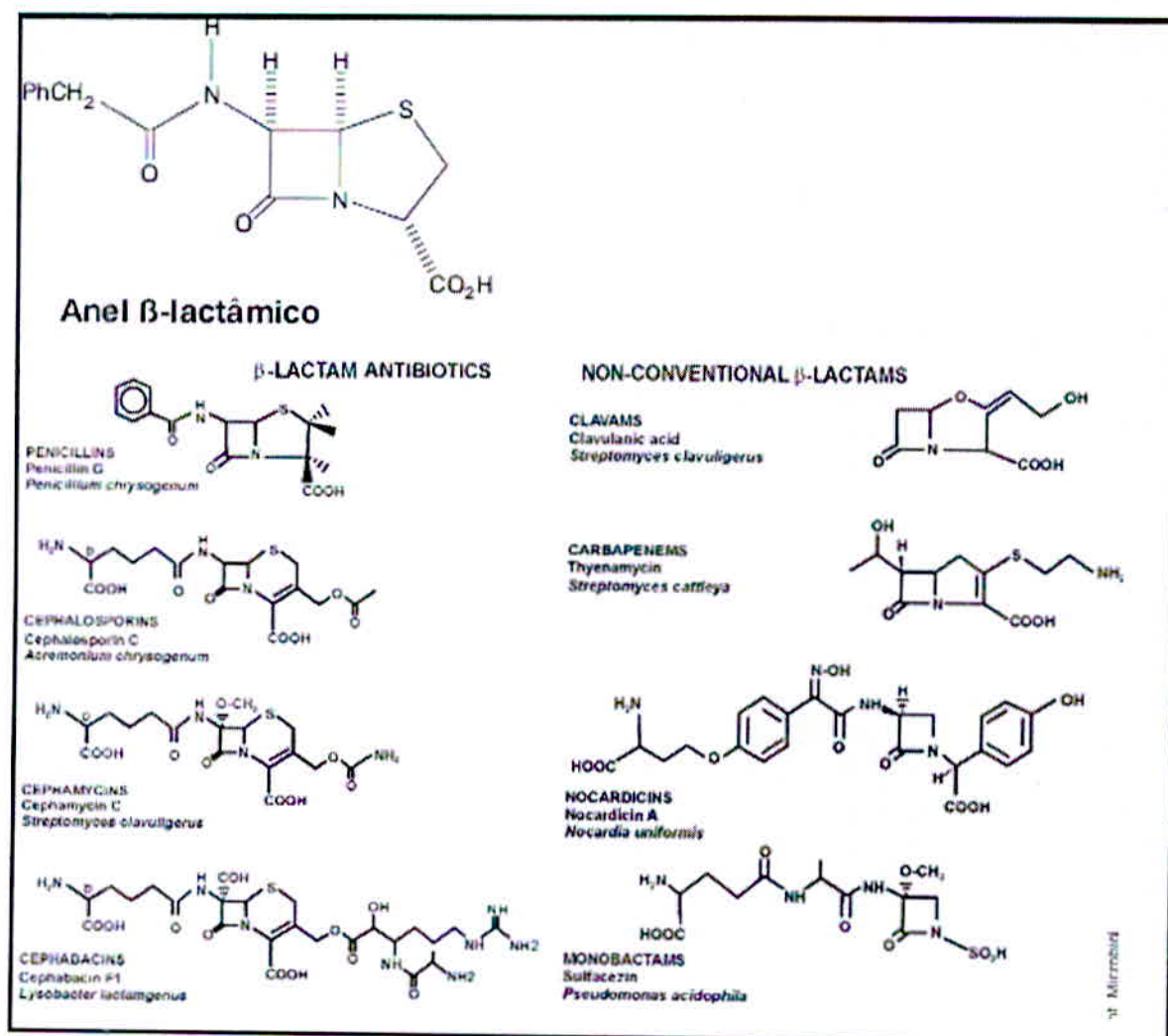


Figura 1 – Estrutura do anel beta-lactâmico nos antibióticos beta-lactâmicos.

#### 4.1.1 Penicilinas

É um grupo de antibióticos descoberto por Fleming, no ano de 1928 que possui uma estrutura geral  $\beta$ -lactâmica tiazolidínica, sendo esta a ligação do anel tiazolidínico com o anel  $\beta$ -lactâmico que dá origem ao ácido penicilânico, podendo se ligar a radicais variáveis, originando diferentes tipos de penicilinas. (SOLER, 2011).

São divididas em: benzilpenicilinas, que são consideradas as penicilinas naturais com associação de determinadas substâncias como a procaína; as aminopenicilinas que são consideradas semi-sintéticas, com ação de espectro mais amplo, com relação as benzilpenicilinas, tem como exemplos a Ampicilina e a Amoxicilina; penicilinas resistentes às penicilinases. Com a disseminação da resistência a penicilina G por produção da enzima  $\beta$ -lactamase por estafilococos, foi desenvolvido penicilinas que fossem resistentes a penicilinases, que tem como exemplo a oxacilina; e as penicilinas de amplo espectro onde após a grande produção de  $\beta$ -lactamases por diferentes tipos de bactérias, teve que desenvolver um antimicrobiano que fosse eficiente contra estas bactérias, assim associou-se os inibidores de  $\beta$ -lactamases com antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos, que se fixam as  $\beta$ -lactamases evitando a hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico. Como a associação de Ácido clavulânico, Sulbactam e tazobactam.

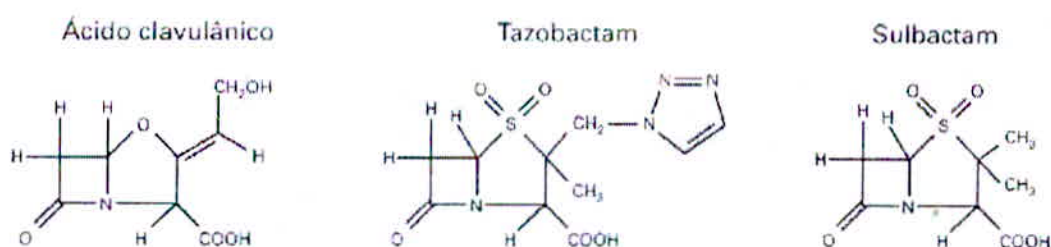


Figura 2 – Estrutura dos inibidores de beta-lactamases.

#### 4.1.2 Cefalosporinas

As cefalosporinas apresentam um grupo cefém que têm como núcleo central um anel beta-lactâmico ligado a um anel hexacíclico não saturado. São antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos de amplo espectro, que diferem entre si devido a modificações introduzidas no núcleo central, (SOLER, 2011) dividindo em gerações, que se refere à atividade antimicrobiana e das características farmacocinéticas e farmacodinâmicas. (MEDEIROS, 2007)

As cefalosporinas de primeira geração destaca-se a Cefalotina, Cefazolina, Cefalexina e Cefadroxila elas tem menor atividade que as penicilinas, mas possuem boa atividade sobre gram-positivos, mas não possuem atividade contra *H. influenzae*. As cefalosporinas de segunda geração que se destaca as Cefoxitina, Cefuroxima e Cefactor que possui atividade variada frente a gram-positivo, porém tem maior atividade sobre as bactérias

gram-negativas. As cefalosporinas de terceira como a Cefotaxima, Ceftriaxona e Ceftazidima e quarta geração como Cefepima, são representados pelas oximinocefalosporinas, que representa um aumento na potencia e no espectro de ação, em particular frente aos gram-negativos (GUIMARÃES, 2010) e possuem maior resistência à inativação por beta-lactamases, mais são importantes indutores destas enzimas. (SOLER, 2011)

Todas as cefalosporinas possuem mecanismos de ação similar às penicilinas, que inibem a síntese da parede celular através da ligação às PBPs. (SOLER, 2011).

### 4.1.3 Carbapenêmicos

Os carbapenêmicos são antibióticos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos, contendo um grupamento metileno no lugar do átomo de enxofre (HARAGUCHI, [1999?]) tendo atividade de amplo espectro. Eles foram desenvolvidos com o objetivo de atender as necessidades médicas na terapia de doenças infecciosas (SAMPAIO, 2007; NETO et al, 2007 apud AGUILAR, 2009) tendo grande potencia contra a *P. aeruginosa*. (SENDA, 1996; YANO, 2001 apud NOUÉR, 2005). Eles atuam na fase extra-citoplasmática da síntese da parede bacteriana bloqueando a transpeptidação por isto a sua ação é através da inibição da síntese da parede, pela ligação e inativação das proteínas ligadoras de penicilinas- PBPs, já que possuem estabilidade à hidrólise pela maioria das  $\beta$ -lactamases de importância clínica e por possuir a capacidade de penetrar na membrana externa da bactéria. (SENDA, 1996; YANO, 2001 apud NOUÉR, 2005).

Nas Enterobactérias, existem diversas proteínas ligadoras de penicilina com atividade transpeptidase (PBP1a, PBP1b, PBP2, PBP3) e duas com atividade D-alanina carboxipeptidase (PBP4 e PBP5). O efeito do antibiótico sobre a bactéria varia de acordo as afinidades do antimicrobiano pelas diferentes PBPs. Uma diferença dos antibióticos carbapenêmicos dos demais  $\beta$ -lactâmicos é a pouca afinidade pela PBP3, o que não induz o crescimento filamentosos septado das bactérias, seguido de uma lenta lise celular. (RODLOFF, 2006 apud AGUILAR, 2009 p. 17).

Dentre os antibióticos carbapenêmicos mais utilizados na atualidade são o imipenem sendo este o primeiro descoberto e tendo como produtor o *Streptomyces catteya*, (HARAGUCHI, [1999?]) possui uma estrutura amina derivada da tianomicina que da mais atividade bactericida e estabilidade contras as enzimas  $\beta$ -lactamases, mas tem rápida degradação no túbulo renais pela enzima dehidropeptidase -1 (DHP-1), por isto na utilização deste antibiótico é necessário a utilização combinada de um inibidor de DHP-1 como a cilastatina. Ao contrário do imipenem, os antibióticos meropenem e ertapenem não precisam de associação com um inibidor de DHP-1, pois demonstram maior estabilidade. (ZHANEL et al, 2007 apud AGUILAR, 2009).

Os mecanismos de resistências utilizados pelos carbapenêmicos, que envolve: a produção das enzimas AmpC e ou ESBL e com a associação da impermeabilidade ao antibiótico que limita o acesso da droga no meio intracelular da bactéria, através da membrana externa; também há a ação de enzimas carbapenemases do tipo serina e metalo- $\beta$ -lactamases, que hidrolisam a droga administrada; e com a modificação das PBPs. (DAVIN-REGLI et al, 2008 apud AGUILAR, 2009).

#### **4.1.4 Monobactamas (b-lactâmicos monocíclicos)**

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, chamados de monobactamas por causa de serem produzidos por bactérias monocíclicas. Estes antibióticos foram desenvolvidos com a intenção de descobrir compostos que contenham  $\beta$ -lactamas de origem microbiana, tendo como características que todos desta classe apresentam um grupo ácido 1-sulfônico-2-oxazetidina. Como exemplos destas classes estão o Aztreonam, sendo este o primeiro antibiótico  $\beta$ -lactâmico monocíclico (HARAGUCHI, [1999?]) que possuem atividade antibiótica tendo a principal ação contra as bactérias anaeróbias e gram-positivas. (PUPO, 2006; PATRICK, 1995; SUARÉZ, 2009 apud GUIMARÃES, 2010). Frente a este antibiótico os enterococcus, como o *E. faecalis* e *E. faecium* é considerado uma emergência nas últimas décadas, por possuir entre um dos principais fatores a resistência intrínseca. (ANVISA, 2007). As nocardinas apresentam frente a um pequeno grupo de bactérias gram-negativo, como a *Pseudomonas aeruginosa* uma atividade moderada. (PUPO, 2006; PATRICK, 1995; SUARÉZ, 2009 apud GUIMARÃES, 2010).

## 4.2 Aminoglicosídeos (aminociclítóis)

Os antimicrobianos chamados de aminoglicosídeos possuem um grupo amino básico e uma unidade de açúcar (VON NUSSBAUM, 2006 apud GUIMARÃES, 2010) em sua estrutura e são usualmente utilizados contra infecções graves de bactérias gram-negativas aeróbias, sendo ineficazes contra as aeróbias, (BRASIL, 2008) como a *P. aeruginosa*. (GUIMARÃES, 2010). A sua ação está na ligação à fração 30S dos ribossomos, onde impede a movimentação do ribossomo pelo RNAm, inibindo a síntese de proteínas ou até mesmo produzido proteínas defeituosas, onde para haver estes efeitos deve haver primeiramente a ligação na superfície bacteriana e depois o transporte através da parede. (PATRICK, 1995; DURANTE-MANGONI, 2009 apud GUIMARÃES, 2010; ANVISA, 2007).

O primeiro antimicrobiano desta classe a ser isolado foi a estreptomicina no ano de 1944 a partir do *Streptomyces griseus*, um fungo encontrado no solo. Este antibiótico está no tratamento de tuberculose pulmonar, mas devido a sua ototoxicidade e nefrotoxicidade, devem ser administrados com suas doses bem definidas e sobre monitoramento médico. (WALSH, 2003 apud GUIMARÃES, 2010; BRASIL, 2008; ANVISA, 2007).

Atualmente os principais antimicrobianos utilizados na terapêutica são a gentamicina sendo utilizados contra septicemias, causadas por gram-negativos aeróbios, como *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Acinetobacter*, também é utilizada em associações com outros antibióticos como vancomicina e os beta-lactâmicos; a amicacina possui maior espectro, devido à resistência frente a maioria das enzimas mediadas por plasmídeos bacterianos, como as inativadoras de aminoglicosídeos, tendo atividade contra cepas de *Pseudomonas* e enterobacteriáceas, por isto é indicada nos casos de infecções graves por bactérias resistentes a outros representantes e no tratamento empírico de infecções hospitalares em instituições com elevada prevalência de Microrganismos resistentes a gentamicina; e a tobramicina. (BRASIL, 2008)

Os mecanismos de resistência frente a estes antibióticos estão através da modificação dos sítios de ligação no ribossomo, na alteração da permeabilidade e através da modificação enzimática da droga. Esta resistência raramente é adquirida durante o tratamento, pois não é induzido pela presença do antimicrobiano sendo constitutivos e os genes que conferem resistência podem estar associados a plasmídeos conjugativos e não conjugativos e em transposons. (ANVISA, 2007). Devido a sua polaridade os antimicrobianos aminoglicosídeos são administrados por via injetável e por não serem capazes de atravessar a barreira hemato-

encefálica eficiente eles não podem ser utilizados no tratamento de meningites, a menos que sejam injetados diretamente no sistema nervoso central. (PATRICK, 1995; DURANTE-MANGONI, 2009 apud GUIMARÃES, 2010).

### 4.3 Macrolídios

Os macrolídeos são antimicrobianos constituídos por um anel macrolídeo, onde os naturais apresentam lactonas macrolídeos de 14 ou 16 membros que são ligados a um açúcar ou um amino-açúcar e os semi-sintéticos podem apresentar anel macrolídeos de 15 membros (azitromicina). (ANVISA, 2007; GUIMARÃES, 2010). Eles são agentes bacteriostáticos e foram considerados por anos os substitutos das penicilinas para tratamento de infecções em pacientes alérgicos. (BRASIL, 2008).

São pertencentes deste grupo a azitromicina, claritromicina, eritromicina, espiramicina, miocamicina, roxitromicina, entre outros. A eritromicina foi isolada em 1952 a partir do acitomiceto *Streptomyces erythraeus*, ela tem ação frente a maiorias dos patógenos respiratórios, (PATRICK, 1995; VON NUSSBAUM, 2006 apud GUIMARÃES, 2010) possuindo um espectro relativamente extenso, como os cocos aeróbios gram-positivos, *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, os bacilos gram-positivos, *Corynebacterium diphtheriae*, os bacilos aeróbios gram-negativos, *Campylobacter foetus*, *Legionella pneumophila* e *Bordetella pertussis*, *Chlamydia sp.*, *Treponema pallidum*, *Mycoplasma pneumoniae* e *M. avium*, (BRASIL, 2008) mais não possui ação contra as enterobacteriaceas e *Pseudomonas spp.* (MEDEIROS, 2007). Mas há o aumento de cepas resistentes a eritromicina, como *S. aureus* metilina resistente e a *S. pneumoniae* resistentes a penicilina e outros antimicrobianos macrolídeos. Hoje existem diversos congêneres semi-sintéticos, mas a azitromicina e claritromicina são as únicas que tem uso clínico corrente. (BRASIL, 2008).

A estrutura da azitromicina difere da eritromicina, por possuir no anel lactona um átomo de nitrogênio, com este arranjo fez com que este antimicrobiano possuísse maior atividade Microorganismos Gram-negativos, como a *H. influenzae* e menor frente aos Gram-positivos, pois por não penetrar a membrana externa da bactéria faz com que a maioria das enterobactérias sejam resistentes a azitromicina. A estrutura do deste antibiótico proporciona uma meia-vida tecidual prolongada fazendo com que haja a diminuição da dose a ser administrada no tratamento. (BRASIL, 2008; MEDEIROS, 2007).

A Claritromicina tem ação de 2 a 4 vezes mais ativa que a eritromicina contra as bactérias gram-positivas, entre estes os estreptococos e estafilococos sensíveis a oxacilina, entre tanto os estreptococos e estafilococos resistentes a eritromicina também são resistentes frente a claritromicina. (BRASIL, 2008; MEDEIROS, 2007). Contra as bactérias gram-negativas, os efeitos deste antimicrobiano são semelhantes à eritromicina, mas com relação a *M. catarrhalis* é um pouco mais ativa. (MEDEIROS, 2007).

A ação bacteriostática do antimicrobiano macrolídeos é devido a ligação com o RNA ribossomal na porção 50S do ribossoma na molécula 23S, com isto a interferência na alongação da cadeia peptídica durante a translocação e assim bloqueando a biossíntese de proteínas. (PATRICK, 1995; VON NUSSBAUM, 2006 apud GUIMARÃES, 2010; MEDEIROS, 2007).

#### 4.4 Fluorquinolonas e Quinolonas

Os antimicrobianos fluorquinolonas e quinolonas são utilizados nos tratamentos de infecções urinárias e também naquelas causadas por microrganismos resistentes aos antibióticos mais comumente utilizados na terapêutica. (PATRICK, 1995 apud GUIMARÃES, 2010). Em 1952 foi sintetizado o ácido nalidíxico, sendo este a matriz desta classe de antibiótico onde surgiram vários outros análogos, dentre estes a enoxacina, que foi desenvolvida em 1980, que possui uma atividade de elevado espectro contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, e também contra a *Pseudomonas aeruginosa* que é altamente resistente a diversos antimicrobianos. (PATRICK, 1995; HAPPI, 2008 apud GUIMARÃES, 2010).

A Fluoroquinolonas possuem um átomo de flúor que não é observado nas quinolonas. Eles exibem atividade contra gram-negativos como *Pseudomonas aeruginosa* e gram-positivos sendo o *Staphylococcus aureus*, já contra os pneumococos a sua atividade é limitada e contra os estreptococos é praticamente nula. A sua ação envolve a inibição da topoisomerase IV de bactérias gram-positivas e possuem grande seletividade para células bacterianas de até 1000 vezes. Nas bactérias gram-negativas o alvo do antimicrobiano é a topoisomerase II, conhecida como DNA-girase, que é essencial para a sobrevivência da celular bacteriana, ao inibir esta enzima o DNA passa a ocupar grande espaço no interior da



bactéria e as suas extremidades vão fazer com que ocorra a síntese descontrolada de RNA mensageiro e de proteínas, ocasionando a morte celular. (MEDEIROS, 2007; BRASIL, 2008).

A resistência frente a estes antimicrobianos ocorre principalmente pela alteração da enzima DNA girase fazendo com que não haja ação do antimicrobiano. Esta resistência pode ocorrer por mutação cromossômica nos genes que são responsáveis pela DNA girase e pela topoisomerase IV ou através da alteração da permeabilidade à droga pelas porinas. E é possível que possa envolver o mecanismo de bomba efluxo. (MEDEIROS, 2007).

#### 4.5 Glicopeptídeos

Os antimicrobianos glicopeptídeos possuem atividade contra o *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* *meticilina-resistentes*, conhecidos como MRSA, por isto têm se tornado a primeira linha no tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes. Neste grupo estão os antimicrobianos, Vancomicina e Teicoplanina. (BRASIL, 2008; MEDEIROS, 2007).

A vancomicina foi introduzida no uso clínico em 1958, e hoje é a primeira linha de escolha nos casos de infecções graves como as causadas pela *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* oxacilina-resistentes e por ter tido a redução da toxicidade. A teicoplanina, é similar a vancomicina, mas apresenta maior penetração tecidual e meia-vida prolongada, sendo utilizada amplamente na Europa no tratamento de gram-positivos. (BRASIL, 2008; MEDEIROS, 2007).

Este grupo de antimicrobianos possui múltiplo mecanismo de ação, sendo a inibição da síntese do peptidoglicano, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática e interferindo na síntese de RNA citoplasmático, com isto eles inibem a síntese da parede celular da bactéria. (MEDEIROS, 2007).

O mecanismo de resistência é mais lento neste grupo, mas pode ocorrer alterações genéticas que diminui a afinidade da droga pelo microrganismo, como acontece com os enterococos. Nos estafilococos, não se sabe ao certo, mas sugerem que possa ser pelo espessamento da parede celular da bactéria e também pode ser pela transferência de genes de resistência entre o enterococo e o estafilococo. (WALSH, 2003; PACE, 2006 apud GUIMARÃES, 2010; MEDEIROS, 2007).

#### 4.6 Lincosamidas

Em 1962, foi isolado a partir do *Streptomyces lincolmsis*, o antimicrobiano Lincosamidas com propriedade antibacterianas similares aos macrolídeos com o mesmo mecanismo de ação. Neste grupo possuem a lincomicina que é um antibiótico de origem natural e a clindamicina que é um derivado semi-sintético que tem maior taxa de absorção oral e com uma atividade de espectro aumentado, com a característica de possuir maior atividade e menor taxa de resistência e é o fármaco de escolha para infecções causadas pelo *Bacillus fragilis* e outras bactérias anaeróbicas penicilina resistentes, com isto hoje não se vê a necessidade de utilizar a lincomicina. (PATRICK, 1995; VON NUSSBAUM, 2006; MUKHTAR, 2005 apud GUIMARÃES, 2010; BRASIL, 2008; MEDEIROS, 2007).

O mecanismo de ação deste grupo está na inibição da síntese protéica nos ribossomos, ligando-se a subunidade 50S, sendo considerados bacteriostáticos, alterando a superfície bacteriana, facilitando a opsonização, fagocitose e destruição intracelular dos microrganismos. Os mecanismos de resistência desenvolvidos contra este grupo de antibióticos são iguais as do macrolídeos, com a alteração do sítio receptor do ribossomo, e possui outra forma que é a mudança mediada por plasmídeo, no RNA 23S da subunidade 50S do ribossomo. (MEDEIROS, 2007).

#### 4.7 Tetraciclinas

As tetraciclinas possuem amplo espectro sendo muito eficazes frente várias bactérias aeróbicas e anaeróbicas. São considerados policetídicos bacteriostáticos, sendo que a eficácia dos representantes desta classe é similar. (PATRICK, 1995; WRIGHT, 2005 apud GUIMARÃES, 2010; BRASIL, 2008).

A grande proporção de cepas resistentes determinou que o uso de tetraciclinas ficasse restrito a poucas infecções. Como primeira opção, estão indicadas em infecções por *Chlamydia* (uretrite, salpingite, psitacose, tracoma, linfogranuloma venéreo), *Calymatobacterium granulomatis* (granuloma inguinal) e *Rickettsia* (tifo exantemático). (FUCHS, 2004 apud BRASIL, 2008).

O ponto negativo da utilização da tetraciclina é por apresentar efeitos adversos frequentes, como alterações dentárias e de crescimento ósseo e raramente há insuficiência hepática devido a infiltração gordurosa, com isto é contra indicado para gestantes e crianças até os oito anos de idade. (FUCHS, 2004 apud BRASIL, 2008).

O primeiro derivado deste grupo foi a clortetraciclina. (BRÖTZ-OESTERHELT, 2008 apud GUIMARÃES, 2010). Hoje o representante das tetraciclina está a Doxiciclina que possui vantagens farmacocinéticas por isto tem menos efeitos adversos. Possui rápida absorção oral, tendo menor irritação digestiva, não sofre interferência de alimentos, os portadores de insuficiência renal podem utilizar este antimicrobiano por ter excreção extrarenal e é indicado para infecções sexualmente transmissíveis por atuar em microrganismos causais. (BRASIL, 2008).

A ação do antibiótico é através da inibição da síntese de proteínas através da ligação com a subunidade 30S dos ribossomos, que impede a ligação do aminoacil-tRNA, e ocorre o bloqueio da adição de novos aminoácidos para o aumento da cadeia protéica e também há a inibição da liberação de proteínas. (PATRICK, 1995; VON NUSSBAUM, 2006 apud GUIMARÃES, 2010).

O uso como primeira escolha na terapia antibiótica da tetraciclina tem diminuído devido ao aumento da resistência bacteriana, porém foi desenvolvido a tigeciclina, que é um derivado semi-sintético desta classe, que tem tido um interesse contínuo desta classe que consegue inibir a bomba de efluxo. (WALSH, 2003; YAMASHITA, 2003 apud GUIMARÃES, 2010).

O mecanismo de resistência se dá pelo acúmulo no interior da célula do antimicrobiano administrado. Esta resistência pode ser de origem cromossômica ou da maneira que é mais freqüente a mediada por plasmídeos ou transposons. (MEDEIROS, 2007).

#### **4.8 Anfenicóis**

No grupo de anfenicóis está presente os antimicrobianos cloranfenicol e tianfenicol, que são bacteriostáticos de amplo espectro, tendo atividade com a maioria das bactérias gram-negativas e gram-positivas. (BRASIL, 2008).

O cloranfenicol isolado pela primeira vez do microrganismo *Streptomyces venezuela*, onde atualmente é sintetizado e somente o isômero R,R é ativo. Ele possui uso restrito no tratamento de infecções do sistema nervoso central que seja grave e na epiglote aguda em crianças. Hoje este antibiótico não é primeira escolha em quase nenhum tipo de infecção, ele só é utilizado devido ao seu baixo custo. Na década de 50 ocorreu a acentuada retração do emprego deste antimicrobiano, pois ocasionou anemia aplástica e inúmeros casos fatais foram relatados, na atualidade um em 25.000 a 40.000 ocorre este tipo de evento. (PATRICK, 1995; VON NUSSBAUM, 2006 apud GUIMARÃES, 2010; BRASIL, 2008).

O cloranfenicol liga-se à subunidade 30S do ribossomo e parece inibir o movimento dos ribossomos ao longo do mRNA, provavelmente pela inibição da peptidil transferase, responsável pela extensão da cadeia peptídica. Uma vez que o cloranfenicol se liga à mesma região que os macrolídeos e as lincosamidas, eles não podem ser administrados em associação. Os grupamentos nitro e ambos grupamentos álcool estão envolvidos nas interações. O grupo dicloroacetamida também é importante, porém pode ser substituído por outros grupos eletronegativos. (PATRICK, 1995; VON NUSSBAUM, 2006 apud GUIMARÃES, 2010, p. 11 - 12).

O mecanismo de resistência é devido a produção de uma enzima, a acetiltransferase ou nitrorredutase, que é capaz de inativar o antimicrobiano. Ela pode ser adquirida através de plasmídeos ou alterações na permeabilidade à droga. (MEDEIROS, 2007).

#### 4.9 Oxazolidinonas

Este antimicrobiano tem propriedades bacteriostáticas, sendo a linezolida o único antibiótico comercializado pertencente deste grupo. Possui um amplo espectro de ação e atividade frente a bactérias resistentes a outros antibióticos que inibem a síntese de proteínas. (SUARÉZ, 2010 apud GUIMARÃES, 2010; MEDEIROS, 2007).

A ação deste antimicrobiano é através da inibição da síntese proteica, onde há a ligação da subunidade 50S ribossomal, impedindo que haja a ligação da subunidade 30S para formação do ribossomo 70S, que é o processo essencial para o início da síntese proteica, fazendo com que a translocação não possa ser iniciada. Porém a etapa atingida é diferente dos outros antimicrobianos, onde a atuação do antimicrobiano é no próprio processo de

translocação. (PATRICK, 1995; BOZDOGAN; 2004 apud GUIMARÃES, 2010; MEDEIROS, 2007).

A linezolida é eficaz no tratamento de infecção de pele e partes moles causadas por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), além disto, tem a característica de que o seu uso pode antecipar à alta, reduzir os custos e minimizar as complicações ocasionadas pela internação. (GRINBAUM, et al, 2005 apud NASCIMENTO, 2009). Geralmente está reservada para tratamentos de infecções graves. Possui atividade eficaz contra Gram-positivas, como *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* e *S. pyogenes*. Contra as bactérias Gram-negativas elas não possuem quase efeito nenhum e são apenas bacteriostáticos contra a maioria dos *Enterococcus*. (PALADINO. 2002 apud NASCIMENTO, 2009).

#### 4.10 Polimixinas

As polimixinas são antimicrobianos polipeptídeos que possuem mecanismo de ação diferentes dos demais antimicrobianos utilizados atualmente. Com isto, a possibilidade de ocorrer resistência cruzada com outros antimicrobianos é muito remota, fazendo assim que este antibiótico seja eficaz contra muitas espécies de bactérias multirresistentes. Como exemplo no comércio tem-se a colistina (polimixina E) e polimixina B. (ANVISA, 2007).

Com relação a resistência as polimixinas, os cocos gram-positivos e algumas espécies de bacilos gram-negativos apresentam resistência intrínseca, como *Burkholderia cepacia*, *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* e *Enterobacter* spp.). (ANVISA, 2007).

## 5. RESISTÊNCIA BACTERIANA

A indústria farmacêutica, nas últimas décadas desenvolveu diversos fármacos com excelente eficácia no combate de infecções bacterianas levando a redução drástica da mortalidade por doenças microbianas, mas por outro lado a disseminação destes antibióticos levou a seleção de cepas resistentes que desenvolveram defesas aos agentes antibacterianos. (RANG et al, 2001; VARALDO 2002; WISW, 2003; apud SILVEIRA et al, 2006). Esses mecanismos de defesas podem ser naturais, onde o caráter é hereditário, que é transmitida verticalmente às células filhas e codificado por genes cromossômicos ou pode ser adquiridas, onde surge a resistência a um ou mais antimicrobianos em uma população bacteriana que antes era sensível, ocorrendo modificações na estrutura ou no funcionamento da célula bacteriana. (TAVARES, 2001 apud MOURA, 2010).

A resistência bacteriana aos antibióticos é um processo adaptativo que resulta de alguns eventos, como, mutações em genes que passam a conferir resistência e transmissão vertical e horizontal de genes de resistência, eventos estes que contribuem para que bactérias resistentes sejam selecionadas quando há pressão de antibióticos. Em função desses eventos, a emergência e disseminação de genes de resistência aos antibióticos tornaram-se um problema tanto hospitalar, como na comunidade. (LIVERMORE; WOODFORD, 2006; RICE, 2006; SHAH et al, 2004; SNYDER; CHAMPNESS, 2007 apud ANDRADE, 2008, p. 25).

Existem numerosos mecanismos distintos pelos quais os microrganismos podem exibir resistência aos fármacos, (AWETZ et al, 2005), como: a alteração da permeabilidade da membrana impedindo à penetração do antibiótico na célula; o efluxo ativo de antibiótico, a alteração no sítio alvo do antibiótico e a produção de enzimas que degradam ou inativam o fármaco. (BONOMO; TOLMASK, 2007; PATERSON, 2006; RICE, 2006; TENOVER, 2006 apud ANDRADE, 2008).

## 5.1 Alteração da permeabilidade

A membrana celular externa das bactérias Gram-negativas é a primeira barreira contra a entrada de compostos tóxicos, na face externa é composta por lipopolissacarídeos e na face interna da membrana composta por fosfolipídios. Na formação de canais de transporte estão presentes as proteínas de membrana externa (OMPs) ou *porinas* que estabelecem canais específicos por onde substâncias podem passar para o espaço periplasmático e, em seguida para o interior da célula. (VILA et al, 2007 apud MOURA, 2010; MOSTACHIO, 2010).

Esses canais são utilizados por muitos antibióticos, incluindo os  $\beta$ -lactâmicos para acessar o periplasma da bactéria. A sua entrada vai depender das características físico-químicas e das propriedades das porinas. (ISHI; NAKAE, 1993 apud MOSTACHIO, 2010). A perda ou a diminuição da expressão dos genes que codificam as proteínas de membranas externas conferem a permeabilidade limitada que é responsável pela resistência intrínseca dos bacilos Gram-negativos à penicilina, eritromicina, clindamicina e vancomicina e pela resistência de *Pseudomonas aeruginosa* frente ao trimetopim. (LIVINGSTONE et al, 1995 apud ANVISA, 2007; MOURA, 2010). Esta alteração da permeabilidade da membrana externa vai ocorrer somente nas bactérias Gram-negativas. (NOGUEIRA, 2005 apud MOURA, 2010).

## 5.2 Alteração do sítio de ação do antimicrobiano

Um dos mais importantes mecanismos de resistência é a alteração do local-alvo, que é onde atua determinado antimicrobiano. Essa alteração ocorre principalmente nas chamadas proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs) que são carboxipeptidases localizadas na membrana citoplasmática, que tem um importante papel na estruturação do peptideoglicano (constituente da parede celular) das bactérias, catalisando a transpeptidação entre duas subunidades de mureína. (SPRATT; CROMIE, 1988 apud FRANCO, 2007).

As PBPs são os principais sítios para atividade dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, que se ligam covalentemente a essas estruturas impedindo a formação da parede celular, levando a lise celular. (GOTOH et al, 1998 apud FRANCO, 2009). As bactérias podem substituir o alvo

original, quando adquirem gene que irá codificar um produto resistente ao antibiótico. Como o *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina e estafilococos coagulase-negativos que adquirem o gene cromossômico Mec A e passa a produzir uma proteína de ligação da penicilina (PBP ou PLP) que são resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos denominada 2<sup>a</sup> ou 2', que mantêm a parede celular íntegra durante o crescimento, quando outras PBPs são inativadas por antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. (ANVISA, 2007). Esse mecanismo de resistência está presente mais comumente nas bactérias gram-negativas. (GOTOH et al, 1998 apud FRANCO, 2009).

### 5.3 Hiperexpressão da bomba de efluxo

O mecanismo de efluxo está presente em todas as células vivas, com objetivo de proteger as mesmas de componentes tóxicos. Nas bactérias gram-negativas este mecanismo é mais complexo, devido à diversidade do envelope celular destas bactérias. (KUMAR; SHWEIZER, 2005 apud MOSTACHIO, 2010). É um mecanismo que depende de genes induzíveis localizados nos plasmídeos e é inespecífico podendo funcionar com diversas classes de antibióticos, sendo causa da resistência intrínseca natural às fluoroquinolonas observada em *Bacteroides fragilis*. (TAVARES, 2001 apud MOURA, 2010). A resistência bacteriana é dada pelo bombeamento ativo do antimicrobiano do meio intracelular, para o meio extracelular, sendo este um mecanismo de resistência da *Escherichia coli* frente às tetraciclina, de cepas de *Staphylococcus* frente aos macrolídeos e estreptomicinas. A bactéria passa a produzir proteínas de membrana que funcionam como uma verdadeira bomba sobre as tetraciclina, expulsando-as para fora da célula. (SCHNAPPINGER, 1996 apud FIO, 2008). Nesta expulsão a gasto de energia, mas não provoca alteração e nem degradação da droga. (KUMAR; SHWEIZER, 2005 apud MOSTACHIO, 2010).

A hiperexpressão da bomba efluxo faz com que haja a diminuição de antibióticos dentro da célula bacteriana. (LIVINGSTONE et al, 1995 apud MOURA, 2010). O mecanismo de hiper-expressão da bomba efluxo ocorre quando há a mutação ou a deleção nos genes que regulam este sistema. Geralmente são genes presentes no genoma bacteriano, podendo assim causar a resistência intrínseca do microrganismo, sem a necessidade de adquirir novos genes, porém, sabe-se que bactérias podem adquirir este gene. (LIVINGSTONE et al, 1995; HANCOCK; BRINKMAN, 2002 apud MOURA, 2010).



## 5.4 Mecanismo enzimático – produção de $\beta$ -lactamases

Um dos mecanismos mais importantes está na produção de enzimas capaz de inativar a ação do antibiótico. Os  $\beta$ -lactâmicos podem ser substratos de três tipos de enzimas produzidas por bactérias que são: as amilases, capazes de quebrar a ligação amida na posição 6-amino do núcleo das penicilinas e na posição 7-amino do núcleo das cefalosporinas. Mas sabe-se, que a ação das amilases é reversível e varia de acordo com as condições de pH e também da temperatura; a esterases que são capazes de desacetilar as cefalosporinas que têm um radical acetoximetila na posição C-3, sendo estas produzidas tanto por gram-positivas quanto por gram-negativas; e as  $\beta$ -lactamases, sendo a principal causa de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos, (TAVERES, 2001 apud MOURA, 2010) que são enzimas codificadas em cromossomos ou sítios extracromossômicos através de plasmídios ou transposons, possuem a capacidade de hidrolisar a ligação amida do anel beta-lactâmico, destruindo o local da ação dos antimicrobianos irreversivelmente, que é através da ligação dos mesmos às PBPs.

Este é um mecanismo mais importante e mais freqüente, sendo o utilizado pelo *S. aureus* frente à penicilina. (ANVISA, 2007).

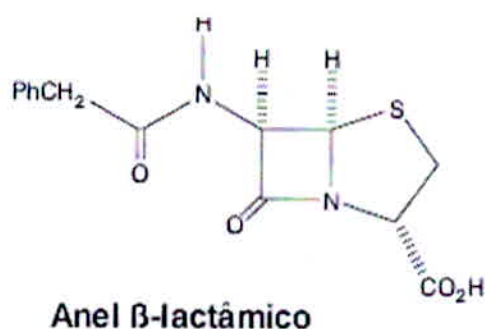


Fig. 3 Anel  $\beta$ -lactâmico

### 5.4.1 $\beta$ -lactamases

A resistência a agentes antimicrobianos não é um fenômeno recente. A detecção das  $\beta$ -lactamases, tanto em bactérias Gram-positivas quanto em Gram-negativas, remonta-se aos

inícios dos anos 40, antes do uso generalizado da penicilina no mundo todo (ABRAAM; CHAIN, 1940; KIRBY, 1944 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?]). A primeira beta-lactamase foi relatada na *E. coli* sendo mediada por genes cromossômicos, antes mesmo da liberação da penicilina para o tratamento de infecções bacterianas. (BONOMO; TOLMASKY, 2007; BRADFORD, 2001; GRACE; WANG; DAVIES, 2006; JACOB, 2006 apud ANDRADE, 2008).

Numerosas  $\beta$ -lactamases diferentes foram descritas em muitas espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, que variam de substrato e microrganismo produtor. Sendo classificadas de acordo com sua estrutura primária (classe de A à D), e de acordo com as características funcionais e bioquímicas (grupo de I à IV). (AMBLER, 1980; BUSH et al, 1995 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?] apud ANVISA, 2007). Algumas são mediadas por plasmídeos (p. ex., a penicilinase de *Staphylococcus aureus*), e outras por cromossomos. Todas as  $\beta$ -lactamases mediadas por plasmídios, são produzidas constitutivamente e possuem alta propensão a transferir de uma espécie de bactéria para outra (p. ex., *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, enterococos produtores de  $\beta$ -lactamases). As mediadas por cromossomos também podem ser produzidas constitutivamente (p. ex., *Bacteroides*, *Acinetobacter*) ou induzíveis (p.ex., *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*). (AWETZ et al, 2005).

As  $\beta$ -lactamases de origem cromossômica são universais em algumas espécies de bactérias e as de origem plasmidial são variáveis, transferindo assim a outras espécies. A mobilidade genética é importante, pois é ela que permite a disseminação dos genes resistentes, a sua ampliação pode ser por meio de transposons, os quais são responsáveis por transportar os genes da  $\beta$ -lactamase desde os plasmídeos até os cromossomos. (WILLIAMS, 1999 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?]).

O papel das  $\beta$ -lactamases na resistência bacteriana nas bactérias Gram-negativas é complexo e extenso. Elas são secretadas no espaço periplasmático, que em conjunto com a barreira de permeabilidade da parede celular externa atuam e produzem resistência significativa a antimicrobianos clinicamente. Verifica-se a presença de grandes quantidades de enzimas, muitas capazes de inativar vários antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos, e os genes que codificam essas  $\beta$ -lactamases estão sujeitos as mutações que são transferidas de modo relativamente fácil e que expandem a atividade enzimática. (ANVISA, 2007). A produção destas enzimas é considerada causas do insucesso terapêutico de penicilinas e análogos diante de vários microrganismos como a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* etc. (ANVISA, 2007; MEDEIROS, 1984 apud FIO, 2008).

#### 5.4.2 Classificação e nomenclatura

Já foram descritos e classificados diferentes tipos de  $\beta$ -lactamases, mas existem duas que são consideradas de maior importância, que é a classificação de Ambler e a de Bush-Jacoby-Medeiros. (AMBLER, 1980; BUSH et al, 1995 apud FRANCO, 2009). Ambler (1980) apud Franco (2009) classificou os tipos de  $\beta$ -lactamases baseando-se na estrutura molecular usando a homologia da sequência de nucleotídeos e aminoácidos para agrupá-las em quatro classes, designadas A, B, C e D. Bush (1989) apud Franco (2009) correlacionou o substrato preferencial e propriedades inibitórias à estrutura molecular da enzima, e em 1995 ocorreu à atualização de sua classificação que passou a combinar características estruturais e funcionais das beta-lactamases e foi dividida em 4 grupos, denominados 1, 2, 3 e 4, e subgrupos que relaciona características bioquímicas, enzimáticas e imunológicas. (AMBLER, 1980; BUSH; JACOB; MEDEIROS, 1995 apud ANDRADE, 2008).

Na Tabela abaixo apresenta uma representação simplificada da correlação entre a classificação de Ambler (1980) e a classificação funcional de Bush-jacoby-Medeiros (1995).

Tabela 1 - Classificação de beta-lactamases

Classificação Bush-Jacoby-Medeiros, 1995		Classificação de Ambler, 1980	Características
Grupo Funcional	Subgrupo	Classe Molecular	
1		C	Enzimas cromossômicas e plasmídias dos gram-negativos. Conferem resistência isoladamente a todos os $\beta$ -lactâmicos, exceto os carbapenêmicos. Eles não são inibidos pelo ácido clavulânico.
2		A, D.	A grande maioria das enzimas é inibida pelo ácido clavulânico.
	2 <sup>a</sup>	A	Penicilinas produzidas por <i>Staphylococcus</i> spp. E <i>Enterococcus</i> spp. Conferem altos níveis de resistência às penicilinas.
	2b	A	$\beta$ -lactamases de espectro reduzido de bactérias gram-negativas. Incluindo as TEM-1 e SHV-1
	2be	A	$\beta$ -lactamases de espectro estendido e conferem resistência às cefalosporinas de amplo espectro e monobactâmicos. São inibidos pelo ácido clavulânico.
	2br	A	$\beta$ -lactamases derivadas da TEM resistentes ao inibidor de $\beta$ -lactamases (IRIT).
	2c	A	Enzimas que hidrolisam a carbenicilina.
	2d	D	Enzimas que hidrolisam a cloxacilina (oxacilina), oximinocefalosporinas e carbapenêmicos, pouco inibidas pelo ácido clavulânico.
	2e	A	Cefalosporinases inibidas pelo ácido clavulânico
	2f	A	Enzimas que hidrolisam carbapenêmicos com sítio ativo serina, inibidas pelo ácido clavulânico.
3	3a, 3b, 3c	B	Metalo- $\beta$ -lactamases que conferem resistência aos carbapenêmicos e todos os outros $\beta$ -lactâmicos com exceção dos monobactâmicos. Não são inibidas por ácido clavulânico.
4		Não determinada	Enzimas não seqüenciadas que não se encaixam em outros grupos

Fonte: (BUSH, 1995 apud FRANCO, 2009, p. 10).

#### 5.4.3 Metallo- $\beta$ -lactamases (MBL)

As MBLs estão no grupo B de Ambler e no grupo 3 de Bush-Jacoby-Medeiros (AMBLER, 1980; BUSH et al, 1995 apud FRANCO, 2009), elas são notáveis pelo seu amplo espectro de atividade contra a maioria dos  $\beta$ -lactâmicos, incluindo os carbapenêmicos, pela resistência frente aos inibidores de  $\beta$ -lactamases (LARAKI et al, 1999 apud FRANCO, 2009) e são capazes de aumentar muito os casos de resistência às cefalosporinas de espectro estendido no ambiente hospitalar. (MOURA, 2010). Possuem como característica a atividade hidrolítica frente os carbapenêmicos, não hidrolisam os monobactâmicos, como o aztreonam, também não são inibidas pelos inibidores de  $\beta$ -lactamases, mas são inibidas por agentes quelantes como o EDTA e derivados do tiol, (LARAKI et al, 1999 apud FRANCO, 2009) necessitam de zinco e outros cátions divalente como co-fator para a ocorrência de uma atividade, ao contrário de outras  $\beta$ -lactamases que necessitam da serina no seu sítio ativo. (PELEG et al, 2005; DALMARCO, 2006 apud MOURA, 2010).

Segundo Mendes et al (2006) apud Moura (2010) as MBLs são produzidas intrinsecamente. Elas podem ser constitutivas sendo normalmente carregadas em cromossomo no microrganismo, ou podem ser adquiridas. A maioria das MBLs adquiridas é carregada por elementos genéticos que auxiliam no movimento de um elemento genético para o outro. (LEE et al, 2005; CASTANHEIRA et al, 2004; LAURETTI et al, 1999; SENDA et al, 1996 apud FRANCO, 2009). Aquelas que são carregadas por cromossomos são usualmente derivadas de microrganismos que têm como habitat natural o meio ambiente, e raramente são patogênicos. (WALSH et al, 1994; CHEN et al, 2003 apud FRANCO, 2009). São produzidas constitutivamente por algumas bactérias como os *Bacillus cereus*, *Bacteroides fragilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas spp.* e *Chryseobacterium meningosepticum*. (NORDMANN; POIREL, 2002 apud FRANCO, 2009), mas desde o início da década de 90 os genes codificadores de MBLs têm sido descritos no mundo em patógenos clinicamente relevantes como os diferentes espécies de *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e membros da família *Enterobacteriaceae*. (RICCIO et al, 2000; YAN et al, 2001 apud FRANCO, 2009).

As MBLs podem ser divididas em três subclasses, sendo elas B1, B2 e B3. As classes B1 e B3 têm uma capacidade ampla de hidrolisar  $\beta$ -lactâmicos. (BEBRONE et al, 2005 apud MOURA, 2010). As enzimas da subclasse B1 como o IMP-1 e VIM-2 e VIM-4 para ter a capacidade de hidrolisar as penicilinas, como as carbenicilinas, penicilinas e ampícilinas, também as cefalosporinas e os imipenens elas possuem um ou dois zínco no seu

sítio ativo, sendo representadas no grupo 3a. (BUSH, 1998; HORSFALL et al, 2007 apud MOURA, 2010). A subclasse B2 possui a capacidade de hidrolisar os carbapenêmicos e apresenta pouca atividade sobre as penicilinas e sobre as cefalosporinas, (BEBRONE et al, 2005 apud MOURA, 2010), por conter a enzima CphA. Esta enzima, CphA é ativada ao se ligar com um íon de zinco e é inibida quando se liga a um segundo zinco. (BUSH, 1998; BEBRONE et al, 2005; HORSFALL, 2007 apud MOURA, 2010). Os inibidores de  $\beta$ -lactamases como ácido clavulânico e o tazobactam e o imipenem, parece que podem induzir a expressão do gene *cphA* ou *ampH*. (SAAVEDRA et al, 2007).

A subclasse B3 possui alta atividade de cefalosporinase e é ativada quando se liga a dois íons de zinco. (BUSH, 1998, HORSFALL, 2007, MOURA, 2010).

As classes de MBLs, são conhecidas como móveis ou adquiridas, sendo elas: IMP (Imipenemase), VIM (Verono imipenemase), SPM (São Paulo metalo- $\beta$ -lactamase), GIM (German imipenemase), SIM – 1 (Seul Imipenemase). (MENDES et al, 2006 MOURA, 2010) e a última descrita AIM-1 (Austrália Imipenemase). A primeira foi caracterizada no Japão no isolamento de *Serratia marsecens*, (WATANABE et al, 1991 apud FRANCO, 2009), já a segunda MBL foi isolada em uma amostra de PA da em Verona na Itália, sendo denominada VIM-1 (LAURETTI et al, 1999 apud FRANCO, 2009). EM várias regiões geográficas já foram descritas 18 variantes de IMP e 14 tipos de VIM, sendo a maior parte descrita na Europa. (WALSH et al, 2005 apud FRANCO, 2009). Em amostras urinárias em São Paulo foi isolada a SPM-1. (TOLEMAN et al, 2002 apud FRANCO, 2009). A quarta classe das MBLs isolada na Alemanha em 2002 é denominada GIM-1, e possui características similares as das outras MBLs adquiridas. Até o momento esta não foi reportada em outro lugar do mundo. (LEE et al, 2005 apud FRANCO, 2009). E a quinta foi descrita na Korea e tem similaridade com a família IMP cerca de 64 a 69%, sendo ela denominada de de SIM-1. A última descrita é a AIM-1 foi descoberta na Austrália, publicado por Grupta (2008).

Os genes codificadores das enzimas IMP, VIM, GIM e SIM se apresentam como cassetes gênicos contidos em integrons de classe 1, (LEE et al, 2005 apud FRANCO, 2009) que são elementos genéticos constituídos por uma região conversora. (MENDES et al, 2006 apud FRANCO, 2009). Sendo que o gene *bla*SPM o primeiro gene de MBLs não encontrado em um cassete genético inserido em um integron, mas é inserido em um novo elemento genético transferível, chamado de CR4. (NOUÉR, 2005).

#### 5.4.4 Cefalosporinas

As cefalosporinas cromossomais ou AmpC é uma  $\beta$ -lactamase que faz parte do grupo funcional 1 da classe molecular C e não são inibidas pelo ácido clavulânico (AMBLER, 1980; BUSH et al, 1995 apud FRANCO, 2009). Elas são encontradas constitutivamente na *Pseudomonas aeruginosa* ou *Enterobacteriaceae*, geralmente elas são produzidas em pequenas quantidades, mas na presença de alguns antibióticos como ampicilina ou cefoxitina podem desreprimir esta enzima, induzindo fortemente passando a produzir em grandes quantidades, isto devido à mutação que ocorre no gene codificador dessas enzimas. (LISTER et al, 1999; TAVARES, 2001, REISBIG et al, 2004 apud FRANCO, 2009; MOURA, 2010). Quando ocorre a hiper-expressão de AmpC, que é a produção de grandes quantidades da enzima, ocorre a resistência a quase todos os  $\beta$ -lactâmicos com exceção das cefalosporinas de quarta geração, como cefepime, cefpirone e também dos carbapenêmicos. (REISBIG et al, 2004 apud MOURA, 2010).

#### 5.4.5 AmpC

O gene *ampC* é responsável por codificar nas enterobactérias a produção das  $\beta$ -lactamases cromossômicas, nas bactérias *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Providencia spp.*, *Proteus spp* e *M. morganii* a expressão desta enzima é induzida pelos agentes  $\beta$ -lactâmicos, como a cefoxitina e pelo imipenemo. (SOUSA, 2005; HEMALATHA, 2007 apud FERREIRA, 2007). A partir do final dos anos 70 as  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC emergiu como um dos mediadores da resistência dos bacilos gram-negativos frente aos antimicrobianos. No final dos anos 80, detectaram-se estes genes em plasmídeos sendo transferidos para microrganismos que não expressavam  $\beta$ -lactamases cromossomais, como as *K. pneumoniae* e *E. coli*, entre outras. (THOMSON, 2001 apud OLIVEIRA, 2008).

#### 5.4.6 Carbapenemases

São pertencentes do grupo funcional 2 da classe molecular A, são inibidas pelo ácido clavulânico e possuem principalmente a capacidade de hidrolisar os antimicrobianos carbapenêmicos, conferindo assim resistência aos mesmos, não significando que não sejam capazes de hidrolisar outros  $\beta$ -lactâmicos. (AMBLER, 1980; BUSH et al, 1995 apud FRANCO, 2009; MOSTACHIO, 2010).

São serino-carbapenemases e incluem três famílias principais, sendo elas: NMC/IMI, SME e KPC. A família GES que inicialmente era identificada como ESBL, passou a ser classificada como carbapenemases da classe A (QUEENAN; BUSH, 2007 apud FRANCO, 2009), elas não demonstram atividade carbapenemase. (KE et al, 2007 apud FRANCO, 2009). A KPC antes detectada somente em enterobactérias está recentemente encontrada em isolado de *Pseudomonas aeruginosa* na Colômbia. (VILLEGAS et al, 2007 apud FRANCO, 2009).

As enzimas podem ser divididas em dois grupos de acordo com suas características, sendo a primeira relacionada com as que possuem um grupamento serino no seu sítio alvo e a segunda possuem átomo de zinco no seu sítio alvo. Elas podem ser encontradas em dois grupos no esquema de Bush e colaboradores: grupo 2f e grupo 3. (QUEENAN; BUSH, 2007 apud MOSTACHIO, 2010).

#### 5.4.6 $\beta$ -lactamase de espectro estendido

Mutações nos genes de resistência aumentam o espectro de atividade das  $\beta$ -lactamases de amplo espectro ou espectro estendido (ESBL – Extended Spectrum  $\beta$ -lactamases) (PHILIPPON et al, 1989 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?]). As enzimas ESBL são capazes de hidrolisar as cefalosporinas de amplo espectro, como a cefotaxima e ceftazidima, e os monobactâmicos, como o aztreonam (JACOBY; MEDEIROS, 1991 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?]). Estudos têm sugerido que a pressão seletiva causada pelo uso constante de cefalosporinas nos centros de saúde contribui para o aparecimento e disseminação desses microrganismos resistentes (RICE et al, 1990; COUNDRON et al, 1997 apud ANDRADE, 2008). Monnet et al (1997) apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?] observaram que a resistência



bacteriana causada pela produção de ESBL pode aumentar num período de 2 anos em até 57% em um único hospital. A presença de microrganismos que expressam novas enzimas capazes de hidrolisar carbapenêmicos, como imipenem e meropenem, vem cada vez mais sendo observada. (PHILIPPON et al, 1989; JACOBY; MEDEIROS, 1991; RICE et al, 1990; COUNDRON et al, 1997; MONNET et al, 1997; RASMUSSEN; BUSH, 1997 apud NAKANO; NISHIYAMA; AVILA-CAMPOS, [2001?]).

As cefalosporinas de 3<sup>o</sup> geração (oxiamino-cefalosporinas), na década de 80 foram instituídas como alternativas terapêuticas para infecções graves, provocadas principalmente por bactérias Gram-negativas produtoras de beta-lactamases de espectro restrito como TEM, TEM-1 e SHV-1. Elas eram estáveis à hidrólise pelas beta-lactamases de espectro restrito possuindo ainda um amplo espectro de atividade antibacteriana e eram menos nefrotóxicas comparadas aos aminoglicosídeos e as polomixinas. (BONOMO; TOLMASKY, 2007; BRADFORD, 2001; JACOB; BUSH, 2008; PETERSON; BONOMO, 2005 apud ANDRADE, 2008).

Como exemplo no Brasil recentemente uma situação se alarmou quando identificou-se a *K. pneumoniae* com expressão concomitante de metalo-beta-lactamase IMP-1 e de beta-lactamase de espectro estendido CTX-M, sendo que a produção conjunta dessas enzimas resultou em uma resistência a todos os antibióticos disponíveis para o tratamento de infecções causadas por esta bactéria incluindo os carbapenêmicos. Estudos já realizados revelaram que os principais veículos de transmissão desta bactéria multi-resistentes são os profissionais da saúde que transmitir a mesma para os pacientes e outro fator importante abordado nos estudos é o dado em que revela que o surgimento dos surtos da *Klebsiella* ESBL é devido ao uso de cefalosporinas de terceira geração. (DIPERSIO JR et al, 2005; BLACK et al, 2004; GRUPTA, 2004; GASTMEIER et al, 2003; BOSZCZOWSKI et al, 2005; LINCOPAN et al, 2005; RAHAL et al, 1998; JACOBY et al, 1997 apud CASSETTARI et al, 2006).

Com os diferentes tipos de mecanismos de defesa conhecido hoje através de estudos por todo o mundo, destaca-se a enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) que é produzida por Gram-negativas (enterobactérias), tendo este nome por ter sido descrita primeiramente na bactéria *Klebsiella pneumoniae* em 2001 nos Estados Unidos (EUA), pertencendo funcionalmente ao grupo das  $\beta$ -lactamases de Espectro Ampliado (ESBL). A ação desta enzima, KPC está na clivagem por hidrólise nos antibióticos beta-lactâmicos da classe Penemes e da subclasse Carbapenemes e na inativação das penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. (HIRSCH, 2010 apud BALBINO, 2011).

A enzima KPC já foi documentada em diferentes bactérias por meio de estudos moleculares e diferenciada em KPC-1 a 4, com a seguinte descrição: KPC-1 em isolados de *Klebsiella pneumoniae*; KPC-2 em *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella enterica* e em *Enterobacter* sp.; KPC-3 em *K. pneumoniae* e *Enterobacter cloacae*. Para KPC-4, não foram encontrados microrganismos relacionados. (MONTEIRO et al, 2009; CAI et al, 2008 apud DIENSTMANN et al, 2010, p. 2).

A CLSI, a partir de 2009 passou a recomendar que houvesse a pesquisa da KPC nos isolados de enterobactérias com resistência as cefalosporinas da subclasse III, sendo eles o cefoperazona, o cefotaxima, o ceftazidima, o ceftizoxima e o ceftriaxona e com sensibilidade diminuída frente a carbapenens. Com isto, fica a importância de se pesquisar na rotina laboratorial a presença de KPC em isolados de *Enterobacteriaceae* com a sensibilidade reduzida às cefalosporinas de amplo espectro. (CLSI, 2009 apud DIENSTMANN et al, 2010).

Por não ter tanta opção de escolher no tratamento contra bactérias produtoras de beta-lactamases, está aumentando as associações de antibióticos com inibidores de  $\beta$ -lactamase, como os de penicilinas com as cefalosporinas de segunda e terceira geração. Os inibidores de  $\beta$ -lactamases estruturalmente são semelhantes às penicilinas, assim impedem a ligação da amida do grupo  $\beta$ -lactâmico mas possui na sua cadeia lateral uma modificação. Estes aspectos estruturais fazem com que os inibidores se liguem irreversivelmente às  $\beta$ -lactamases fazendo com que elas permaneçam inativas. Os inibidores que atualmente estão sendo utilizados são: sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico associado com os  $\beta$ -lactâmicos (ampicilina + sulbactam, amoxicilina + clavulanato, ticarciclina + clavulanato e peperaciclina + tazobactam). (WILLIAMS, 1999 apud ROSSI, 2011).

Os microrganismos produtores de ESBL ocorrem com frequência em surtos e causam um dilema terapêutico devido ao padrão de resistência à múltiplas drogas. Esses microrganismos também causam uma preocupação com o controle da infecção devido à disseminação de cepas de paciente para paciente e pelo aparecimento de cepas policlonais devido à transmissão de elementos genéticos entre cepas e gêneros distintos de bacilos Gram-negativos. As características epidemiológicas dos surtos de ESBL têm sido estudadas por vários pesquisadores. Dentre os fatores de risco associados à aquisição de microrganismos que produzem ESBL, podemos citar o uso de cateteres (arterial, venoso central e urinário), colonização intestinal, duração da estada na UTI ou mesmo no hospital, administração anterior de ceftazidima ou aztreonam, cirurgia abdominal de emergência e assistência ventilatória. (DeCHAMPS et al, 1991; PIROTH et al, 1998 apud ROSSI, 2011, P. 9 -10).

#### 5.4.6.1 Prevalência de ESBL

As principais bactérias produtoras de ESBL são a *E.coli* e *K.pneumoniae*, mas a Família *Enterobacteriaceae*, como exemplos: *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Salmonella spp.*, e *Citrobacter spp.* (BRADFORD, 2001; COUDRON, 1997; EMERY, 1997; LUZZARO, 2006; MINARINI, 2007; STEWARD, 2001; VENEZIA, 2003 apud OLIVEIRA, 2008). Pela produção de ESBL, estas bactérias estão ligadas ao aparecimento de infecções graves no ambiente hospitalar, principalmente por causa da utilização de cefalosporinas. (EMERY, 1997; LUZZARO, 2006; MINARINI, 2007; RODRIGUEZ-BANO, 2004 apud OLIVEIRA, 2008). Através dos dados do SENTRY realizado em projeto entre 1997 e 1998, as variações na prevalência de isolados de *K.pneumoniae*, com um número de 4600 produtoras de ESBL são: na América Latina 45,4%, no Canadá 4,9%, nos Estados Unidos 7,6% e na Europa 22,6% já para *E.coli* com um número de 12800 na América Latina 8,5%, no Canadá 4,2%, nos Estados Unidos 3,3% e na Europa 5,3%. (WINOKUR, 2001 apud OLIVEIRA, 2008)

No Brasil estes dados mostram com alta prevalência sendo, cerca de 50,3% para *K.pneumoniae* e 9,1% para a *E.coli*. (SADER, 2001 apud OLIVEIRA, 2008). A CLSI padronizou devido ao grande aumento da multirresistência no mundo para que haja a pesquisa da ESBL nas bactérias *E.coli*, *K.pneumoniae* e *P.mirabilis*, por isto, a importância de nos Laboratórios de Análises Clínicas haver a pesquisa da enzima ESBL. (NOGUEIRA, 2006 apud OLIVEIRA, 2008).

#### 5.4.6.2 Testes

Para a interpretação dos testes de sensibilidade para Enterobactérias, houve modificações feita pela CLSI, apresentada no quadro:

Antimicrobiano	Sensível (µg/mL)	Intermediário (µg/mL)	Resistente (µg/mL)	Potência do Disco (µg)	Sensível (mm)	Intermediário (mm)	Resistente (mm)
Cefepima <sub>a</sub>	≤ 1	2 – 4	≥ 8	30	≥ 24	21 - 23	≤ 20
Ceftazidima <sub>a,b</sub>	≤ 1	2 – 4	≥ 8	-	-	-	-
Aztreonam <sub>a</sub>	≤ 1	2 – 4	≥ 8	30	27	24 – 26	23
Ertapenem <sub>a</sub>	≤ 0,5	1	≥ 2	10	≥ 25	22- 24	≤ 21
Imipenem <sub>c</sub>	≤ 1	2	≥ 4	10	≥ 23	20 – 22	≤ 19
Meropenem <sub>c</sub>	≤ 1	2	≥ 4	10	≥ 23	20- 22	≤ 19
Colistina ou Polimixina B <sub>a</sub>	≤ 2	-	≥ 4	-	-	-	-
Tigeciclina <sub>a</sub>	≤ 1	2	≥ 4	15	≥ 18	15 - 17	≤ 14

Fonte: ANVISA

a. Pontos de corte preconizados pelo *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

b. Não há critérios interpretativos para o método Kirby-Bauer segundo o EUCAST, para discos de ceftazidima com potência de 30 µg.

c. Pontos de corte preconizados pelo CLSI.

Nota: Sempre que forem utilizados os critérios interpretativos preconizados nesta tabela, incluir a seguinte nota no resultado: “Para a interpretação dos testes de sensibilidade foram utilizados os critérios preconizados na nota técnica da ANVISA Nº. 01/2010”.

Existe o teste de triagem, que é preconizado pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), que quando haver em um antibiograma a diminuição dos halos de inibição para determinado antibiótico, nas bactérias *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. pxytoca* e *P. mirabilis*, pode ser indicativo da presença de produção de ESBL, embora que na interpretação convencional a interpretação dos halos pode ser considerado sensível ao antibiótico. Por isto, é necessária a realização de testes confirmatórios, como discos combinados, aproximação de disco e determinação da concentração inibitória mínima. (CLSI, 2007 apud OLIVEIRA, 2008

No teste de discos combinados, a CLSI, no Agar Mueller Hinton inoculada a colônia de interesse, coloca-se os quatro discos (cefalosporinas isoladamente e com clavulanato), que após incubação de 16 a 18 horas faz-se a comparação dos halos. Quando há o aumento de 5mm do halo de inibição no disco combinado, com clavulanato o resultado é positivo para ESBL. (CLSI, 2004 apud OLIVEIRA, 2008).

O teste de aproximação de disco, é feito o mesmo preparo que no teste anterior, e na placa coloca-se no centro um disco com amoxicilina + ácido clavulânico, e no redor coloca-se discos β-lactâmicos, com uma distância de 30mm centro a centro. Após a incubação de 16 a 18 horas, verifica a formação de uma deformação no halo de inibição do β-lactâmico próximo ao disco contendo clavulanato considera-se um resultado positivo. (BRADFORD, 2001 apud OLIVEIRA, 2008). No teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima,

faz-se dois métodos, como Microdiluição em caldo e Fita de E-teste. Nos dois testes utiliza-se um antibiótico  $\beta$ -lactâmico com adição de clavulanato e sem adição do mesmo. Considera-se resultado positivo, quando há a redução significativa da CIM ( $\geq 3$  diluições) na presença do inibidor ou no caso do E-teste com a deformação da elipse de inibição na fita. (CLSI, 2007; STURENBURG, 2004 apud OLIVEIRA, 2008).

Também para a detecção fenotípica de carbapenemases existe o teste de Hodge modificado, onde se prepara o inóculo da cepa ATCC 25922 da bactéria *Escherichia coli* correspondente a 0,5 da escala de McFarland, através da suspensão direta da colônia ou pelo método de crescimento. (ANVISA, 2008

Com auxílio de uma alça, estriar a amostra teste do centro do disco de  $\beta$ -lactâmico até a periferia da placa de Petri, com o cuidado para não tocar o disco de  $\beta$ -lactâmico. Semear da mesma maneira a cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603 como controle negativo, como ilustrado na **Figura 21**. Após incubação à temperatura de  $35\pm 2^\circ\text{C}$ , em ar ambiente, por 16 a 18 horas, observar o crescimento da *E. coli* ATCC 25922 no halo de inibição do imipenem (distorção do halo de inibição). A amostra de *E. coli* ATCC 25922 é sensível ao imipenem, e este crescimento só foi possível porque a amostra teste produziu uma enzima que foi capaz de inativar o imipenem. Notar que não houve distorção do halo, quando a amostra de *K. pneumoniae* ATCC 700603 foi semeada. (ANVISA, 2008).

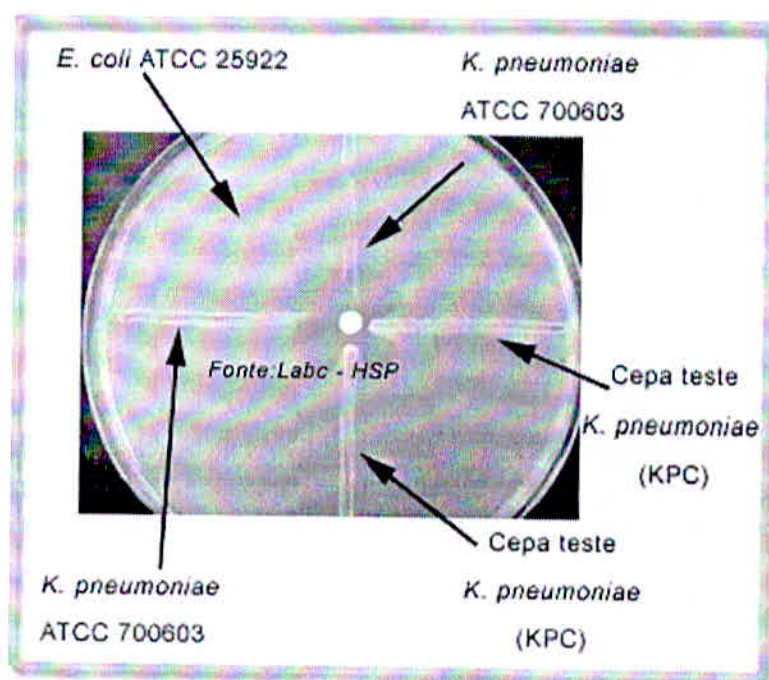


Figura 4 - Teste de Hodge modificado

Segundo a Anvisa (2010), ao realizar o teste de sensibilidade a antimicrobianos de enterobactérias isoladas em pacientes hospitalizados, o laboratório de microbiologia deverá testar o imipenem e meropenem, sendo que a resistência ou a sensibilidade intermediária ao ertapenem não será mais utilizado para triagem na *Klebsiella pneumoniae* que são produtoras de carbapenemases. Nos resultados dos testes de sensibilidade frente aos carbapenêmicos, devem liberar de acordo com os critérios a cima, sem alterar as categorias. Em amostras não sensíveis a imipenem ou a meropenem, a liberar no laudo deverá conter a nota: *Enterobactéria* possivelmente produtora de carbapenemase (KPC, IMP dentre outras). Deverá enviar para os Laboratórios Centrais de Saúde Pública as amostras suspeitas de produção de carbapenemase os laboratórios que não possuir capacidade de comprovação molecular do mecanismo de resistência ou tipagem de microrganismos. As culturas deverão ser puras, crescida em ágar nutriente ou TSA, em microtubo de tampa rosqueada ou equivalente. Para os usuários de sistemas de automação, deverá verificar a possibilidade de adequação do sistema aos critérios interpretativos deste documento. Quando não puder realizar a adequação, deverá realizar de modo suplementar o TSA aos carbapenêmicos por disco difusão ou pelo método dilucional não automatizado.

As amostras suspeitas de produzirem carbapenemases, o laboratório de microbiologia deverá notificar o serviço de controle de infecção hospitalar (SCIH). Por causa da dificuldade de tratamento das infecções por enterobactérias não sensíveis aos carbapenêmicos, recomenda-se que faça a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para tigeciclina, polimixina B ou colistina pelo método dilucional não automatizado. Na continuidade no tratamento com a polimixina B ou colistina deve ser subsidiada pela confirmação da sensibilidade por determinação da CIM. Para o método de Kirby-Bauer não há critérios interpretativos, segundo EUCAST, para os discos de ceftazidima com potência de 30 µg. Portanto, o seu uso clínico deve ser subsidiado pela avaliação da sensibilidade por determinação da CIM. (ANVISA, 2010)

## 4 CONCLUSÃO

A utilização de antimicrobianos indiscriminadamente está associada com emergências de cepas microbianas, como os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp.* entre outros. Mas a resistência frente aos antimicrobianos também está envolvida com a transferência de genes para novos hospedeiros e às mutações que podem ocorrer nos genes responsáveis pela resistência fazendo os microrganismos com amplo espectro de resistência, como aumentando a atividade das enzimas  $\beta$ -lactamases, sendo assim,  $\beta$ -lactamases de amplo espectro ou espectro estendido (ESBL). (VASQUEZ; MOSQUERA, 1999; BAQUERO, 1999; GARAU et al, 2000; TENOVER; HUGHES, 1996; PHILIPPON et al, 1989 apud ROSSI, 2011 ).

As infecções sintomáticas do Trato Urinário (ITU) estão como uma das mais frequentes ocorridas no humano e a segunda mais freqüente na população em geral. Nos achados clínicos da ITU frequentemente há a presença da *Escherichia coli*, que é um bacilo gram-negativo responsável 85% das infecções urinárias adquiridas na comunidade, sendo que 95% das infecções do trato urinário são causadas por bacilos gram-negativos, pelos *Enterococcus faecalis* e pelo *Staphylococcus saprophyticus* nas mulheres sexualmente ativas. (BACHELLER et al, 1997; KUNIN, 1987; SVANBORG et al, 1991; KAYE, 1972; KUNIN, 1987; PLATT, 1983 apud DACHI, 2011).

Outro patógeno que vem apresentando significativa importância é o *Enterococcus spp.* ele é considerado um microrganismo intrinsecamente resistente às drogas que comumente são eficazes, resultando em um desafio clínico principalmente no ambiente hospitalar. A vancomicina é um antimicrobiano de escolha para infecções graves por enterococos multirresistentes, mas já não está sendo eficaz pois já há resistência frente a este antimicrobiano, aumentando mais a seriedade quanto a infecção causada por enterococos por não ter opção de tratamento. (MARTINEZ et al, 2003; FURTADO et al, 2005; SUNG; LINDSAY, 2007 apud KOBAYASHI et al, 2011).

Dentre os patógenos multi-resistentes que preocupa a saúde pública nos dias de hoje está o *Staphylococcus aureus*. Ele é um patógeno que habitualmente faz parte da microbiota transitória da pele e de outros sítios anatômicos, sendo um fator de risco para infecções endógenas e na disseminação no ambiente hospitalar, (CAVALCANTI et al, 2005 apud TIZOTTI et al, 2011), sendo descrita no mundo como um dos principais causadores de infecções nos humanos, (OLIVEIRA et al 2002; TRINDADE et al, 2005 apud TIZOTTI et al,

2011), sendo importantes nas Infecções relacionadas a Assistência à Saúde (IrAS) e em especial as Infecções Primárias da Correntes Sanguínea (IPCS). (SALOMÃO et al, 1993 apud MOURA, 2011). A sua importância está relacionada à sua virulência, resistência aos antimicrobianos e sua versatilidade ao amplo espectro de doenças, (CROSSLEY et al, 1997; FEIL et al, 2003; FEY et al, 2003; GORDON; LOWRY, 2008 apud CRUVINEL et al, 2011) como a alta-mortalidade, como as foliculites, intoxicações gastrointestinais, a doença sistêmica fatal e a síndrome do choque tóxico. (LOWRY, 1998 apud CRUVINEL et al, 2011).

Nas últimas décadas a frequência deste patógeno no ambiente hospitalar está aumentando, mostrando através de pesquisas que acima de 80% dos *S. aureus* isolados a partir de indivíduos hospitalizados e 70% das bactérias que são isoladas da comunidade apresentam resistência aos antimicrobianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos, principalmente a penicilina e a amoxicilina (BAUER et al, 1960; PINTO et al, 1996; RANGEL et al, 1995 apud CRUVINEL et al, 2011). Em outro estudo feito CUEVAS et al, na Espanha, demonstrou que esta aumentando progressivamente a resistência a meticilina, de 1,5% em 1986 para 31,2% em 2002, sendo esta resistência responsável por 40% a 70% por todas as infecções estafilocócicas do mundo. (CUEVAS et al, 2004; LUCET, 2003 apud MANFREDINI, 2011).

Na população humana, cerca de 20% são portadores de algum tipo de *Staphylococcus aureus*, que são considerados os carreadores persistentes, cerca de 60% são considerados carreadores intermitentes dessa bactéria e os outros 20% nunca apresentaram nenhum tipo desta bactéria. Sendo que as taxas de maiores índices estão entre os profissionais da saúde. (KLUYTMANS; BELKUM; VERBRUGH, 1997 apud MOURA, 2009).

A *Klebsiella pneumoniae* também está lista das bactérias importantes na saúde pública, ela é um bacilo gram-negativo, que está presente no trato gastrointestinal de indivíduos hígidos, sendo importante nas infecções hospitalares.

A resistência bacteriana é um grande problema de saúde pública sendo necessária a total atenção, principalmente dos profissionais da saúde, já que estes são os principais veiculadores de microrganismo no ambiente hospitalar podendo até mesmo levar para a comunidade bactérias multirresistentes através do contato.

Com o crescente aumento de cepas bacterianas produtoras de  $\beta$ -lactamases, tanto por gram-positivas quanto por gram-negativas no ambiente hospitalar e na comunidade, tem exercido um impacto considerável na prescrição de antimicrobianos, aumentando as associações de antibióticos com inibidores de  $\beta$ -lactamase. Alguns antimicrobianos como a penicilina, está cada vez mais menos prescrita em infecções do trato urinário (ITU), otite



médica ou broncopneumonia. Os mecanismos de defesa estão se tornando mais amplo, não desempenhando sua ação somente a um antimicrobiano, mais sim contra vários e até mesmo de classes diferentes. A descoberta de novos antimicrobianos eficazes é necessário, mas a consciência de todos também se torna indispensável para que não haja a promoção de novas resistências a antibióticos novos no mercado.

## REFERÊNCIAS

1. ANVISA. **Resistência microbiana: mecanismos e impacto Clínico.** [S. l.: s.n.] 2007.
2. ANVISA. **Medidas para identificação, prevenção e controle de infecções relacionadas à assistência à saúde por microrganismos multirresistentes.** [S. l.: s.n.] out. 2007.
3. ANDRADE, L. N. de. **Estudo Fenotípico e molecular de beta-lactamases de espectro estendido e AmpC em enterobactérias isoladas de pacientes com suspeitas de meningite.** 2008. 103f. Dissertação (Mestrado em Biociência Aplicadas à Farmácia) - Universidade de São Paulo. 2008.
4. AGUILAR, M. A. P. **Caracterização molecular da resistência aos carbapenêmicos em Enterobactérias isoladas em hospitais brasileiros.** 2009. 133f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. 2009.
5. AWETZ, Ernest et al. **Microbiologia médica.** 22. ed. São Paulo: Mc Gran - Hill, 2005. p. 131–137
6. BALBINO, C. A; AMADIO, J. R. *Klebsiella pneumoniae* Produtora de Carbapenemase (KPC). **Acessoria Técnica Científica**, [S. l.] n. 01, fev. 2011.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Formulário Terapêutico Nacional – Brasília : Ministério da Saúde, 2008.** 897 p. (Série B. Normas e Manuais Técnicos).
8. CASSETTARI, V. C. et al. Surto em berçário por *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido atribuído à colonização de profissional de saúde portador de onicomiose. **Jornal de Pediatria, Porto Alegre**, v.82, n. 4, 6 p. jul./ agos. 2006.
9. CRUVINEL, A. R. et al. Perfil Antimicrobiano de *Staphylococcus aureus* isolado de pacientes hospitalizados em UTI no distrito federal. **Cenarium Farmacêutico, Brasília**, ano 4, n. 4 maio/nov. 2011.
10. DALMARCO, E. M.; BLATT, S. L; CÓRDOVA, C. M. M. de. Identificação Laboratorial de  $\beta$ -lactamases de Espectro Estendido (ESBLs) – Revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 3, p. 171–177, abr. 2006.

11. DACHI, S. P. Infecção do trato urinário. **Editora Moreira Jr.** Disponível em: <[http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id\\_materia=282](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=282)>
12. DIENSTMANN, R. et al. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) em Enterobacteriaceae de ambiente hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 1, fev. 2010.
13. FERREIRA, Susana C. de M. L. **Deteção de  $\beta$ -lactamases de Espectro Expandido em *E. coli* e *K. pneumoniae*.** 2007. 77f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade de Aveiro. 2007.
14. FIO, Fernando de Sá. Resistência Bacteriana. Campinas: UNICAMP - SP, 2008. Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/estetica/artigos/2835/resistencia-bacteriana>> Acesso em: 18 abr. 2011.
15. FRANCO, M. R. G. **Deteção de Metallo- $\beta$ -lactamases em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de infecção sistêmicas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.** 2009. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo. 2009.
16. GUIMARÃES, Denise O. et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3 2010.
17. HARAGUCHI, Toshio. **Antibióticos:** classificação geral. São Paulo: USP, [1999?].
18. HENRIQUE, P. M. **Caracterização molecular de elementos VanA em enterococos com genótipo e fenótipo discrepantes relativos à resistência aos glicopeptídeos.** 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Farmácia) – Universidade de São Paulo. 2007
19. KOBAYASHI, Cláudia C. B. A. et al. Resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Enterococcus spp.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 3, maio 2011.
20. KYAW, C. M. Antibióticos e Quimioterápicos. Brasília: UNB – DF, [2010?]. Disponível em: <<http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/index.html>>

21. LUCAREVSCHI, Bianca R. **Custos hospitalares da meningite causada por *Streptococcus pneumoniae* na cidade de São José dos Campos, SP.** 2010. 108f. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo. 2010
22. MANFREDINI, Caroline et al. Comparação de métodos na determinação de sensibilidade à vancomicina em *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Bras. Patol. Med. Lab.**, Porto Alegre, v. 47, n. 2, p. 141 – 145, abr. 2011.
23. MEDEIROS, E. A. S. de et al. Medidas de prevenção e controle da resistência microbiana e programa de uso racional de antimicrobianos em serviços de saúde. **Comissão de Epidemiologia Hospitalar do Hospital São Paulo, São Paulo. 2007.**
24. MENDES, Flaviana A. Infecção sintomática do trato urinário (ITU) e a ocorrência de cepas de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL (Extend-Spectrum Beta-Lactamases). **Artigonal.** 2010. Disponível em: <<http://www.artigonal.com/medicina-artigos/infeccao-sintomatica-do-trato-urinario-itu-e-a-ocorrencia-de-cepas-de-enterobacteriaceae-produtoras-de-esbl-extended-spectrum-beta-lactamases-entr-3550952.html>>. Acesso em: 30 nov. 2011.
25. MENDONÇA, J. S. Mecanismos de resistência bacteriana e suas implicações. In: RODRIGUES, E. A. C. et al. **Infecções hospitalares prevenção e controle.** São Paulo: Sarvier, 1997. p 561–72.
26. MOSTACHIO, A. K. Q. **Caracterização de carbapenemases e proteínas de membrana externa de *Acinetobacter* spp. Resistentes aos carbapenêmicos isolados de sangue.** 2010. 121f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo. 2010
27. MOURA, E. M. M. **Análise do perfil de resistência a antibióticos e detecção dos genes de virulência e resistência em *Aeromonas* provenientes de amostras ambientais.** 2010. 115f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo. 2010.
28. NASCIMENTO. S. R.; SAMPAIO. M. L.; MELO. W. B. Antibioticoterapia: novos antibióticos utilizados na terapêutica das bactérias gram-positivos. [s. l], [s. n.] mar. 2009.
29. NAKANO, V.; NISHIYAMA, S.; AVILA-CAMPOS, M. J. **Beta-lactamases: sua importância na resistência bacteriana.** São Paulo: [s. n.], [2004?].

30. NOUÉR, S. A. **Aspectos clínicos e fatores de risco relacionados com colonização ou infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente.** 2005. 144f. Dissertação (Doutorado em Medicina) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2005.
  
31. OLIVEIRA, G. F. **Avaliação da atividade antimicrobiana, in vitro, do extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Jambolão).** 2005. 93f. Dissertação (Mestrado em Promoção da Saúde) – Universidade de Franca. 2005
  
32. OLIVEIRA, Katia R. P; BARTH, Afonso.  **$\beta$ -lactamases na família *Enterobacteriaceae*: Métodos de detecção e prevalência.** 2008. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008
  
33. ONIBRAS. **Informações técnicas.** Ribeirão Preto, 11 jul. 2011.
  
34. PALOS, Marinesia A. P. ***Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) em profissionais de saúde e as interfaces com as infecções nosocomiais.** 2006. 175f. Dissertação (Doutorado em Enfermagem) – Universidade de São Paulo. 2006.
  
35. PERUGINI, M. R. E. **Avaliação do impacto de medidas de intervenção no controle de *Enterococcus spp.* resistente a vancomicina em unidade de terapia intensiva.** 2008. 179f. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo. 2008.
  
36. ROSSI, Lia M. Tratamento das infecções respiratórias com inibidores das  $\beta$ -lactamases. **Técnicas em Otorrinolaringologia**, [S.l.], ed.1, p. 8 – 12, jan./mar. 2011.
  
37. SILVEIRA, G. P. et al. Estratégias Utilizadas no Combate a Resistência Bacteriana. **Química Nova**, Florianópolis, v. 29, n. 4, mar. 2006.
  
38. SOLER, K. A. G. S. **Isolamento e identificação molecular de *Vibrio metschnikovii* em amostras ambientais e análise do perfil de suscetibilidade a antibióticos.** 2011. 93f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo. 2011.
  
39. TIZOTTI, Máisa K. et al. **Prevalência e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* isolados em Hospital Escola na cidade de Santa Maria, Brasil.** Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas: Santa Maria, RS, [s.n.].

40. VIDAL, Paula Marques de. **Fatores associados à infecção de corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* portador de SCCmec tipo IV.** 2007. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade de São Paulo. 2007.