

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

CURSO DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA

WALQUER VINÍCIUS ESTEVES GONÇALVES PEREIRA

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

**SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2013**

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

CURSO DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA

WALQUER VINÍCIUS ESTEVES GONÇALVES PEREIRA

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Artigo apresentado ao curso de pós-graduação em Microbiologia Clínica da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, com requisito parcial para obtenção do título em Especialista.

Orientador: Prof. Margarete T. Gotardo de Almeida.

**SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2013**

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	07
2.1 Bombas de efluxo.....	07
2.2 Perda de porinas	08
2.3 Alterações de sítio de alvo	09
2.4 Produção de enzimas.....	11
3 DISCUSSÃO	13
4 CONCLUSÃO	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

RESUMO

Pouco tempo depois do advento da Penicilina, um grande número de linhagens já se mostravam resistentes a este fármaco e, por isso, desde muito a resistência bacteriana passou a ser assunto de grande discussão por todos os profissionais da área da saúde.

Assim investiu-se em estudos e surgiram novos antibióticos, mas paralelamente emergiram novos mecanismos de resistência das bactérias. Os principais mecanismos de resistência são perda de porinas, expressão de bombas de efluxo, alteração de sítio alvo e produção de enzimas, sendo este último um dos mais relevantes.

Mesmo que novos antibióticos e possíveis vacinas contra alguns microrganismos venham sendo criados, além de alvos diferenciados para ação para novos fármacos, a contenção da resistência só vai ocorrer quando se aplique efetivamente um conjunto de ações preventivas entre toda a população (comunitária e nosocomial).

Palavras-chave: resistência bacteriana; mecanismos de resistência; antibióticos.

ABSTRACT

Shortly after the advent of penicillin, a large number of strains had grown resistant to this drug, therefore, provided much bacterial resistance has become a subject of great discussion by all health professionals.

So it was invested in research and new antibiotics have emerged, but emerged alongside new mechanisms of bacterial resistance. The main resistance mechanisms are loss of porins, the expression of efflux pumps, target site modification and enzymes production, the latter being one of the most relevant.

Even if new antibiotics and possible vaccines against some microorganisms will be established in addition to differentiated targets for action for new drugs. The containment of resistance will only occur when applied effectively a set of preventive measures among the population (community and nosocomial).

Keywords: bacterial resistance, resistance mechanisms; antibiotics.

1 INTRODUÇÃO

A resistência a antimicrobianos tem aumentado em ritmo acelerado nos últimos anos no Brasil e no mundo, determinando na necessidade crescente do conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias que mais comumente causam infecções e do modo de disseminação da resistência.

Diversos mecanismos emergentes de resistência aos antimicrobianos foram recentemente descritos e alguns deles são de difícil detecção pelas metodologias laboratoriais de rotina.

A primeira referência à resistência antibiótica surgiu nos anos 40 com as penicilinas, tendo ressurgido com o advento dos novos antibióticos nos anos 50 e 60. No ano de sua descoberta, em 1928, as penicilinas foi fator determinante na terapêutica efetiva de milhares de pessoas.

Entretanto, como funcionavam os reais mecanismos de ação, como agiam os antibióticos e o que realmente combatiam não era conhecido ainda, apenas que de alguma forma obtinha-se êxito terapêutico do quadro clínico dos pacientes.

Assim, este trabalho teve por objetivos descrever como as bactérias se tornaram resistente a muitos antibióticos, abordar os mecanismos de resistência mais importantes e discutir sobre a nova era pós-antibióticos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Mecanismos de resistência

Apesar da diversidade de mecanismos de ação dos antimicrobianos, as bactérias desenvolveram frente à exposição aos fármacos formas de resistência relacionadas à produção de enzimas inativadoras dos mesmos.

2.1 Bombas de efluxo

O bombeamento ativo de antimicrobiano do meio intracelular para o extracelular, isto é, o seu efluxo efetivo, produz resistência bacteriana a determinados fármacos. Um exemplo é a resistência às tetraciclinas codificadas por plasmídeos em *Escherichia coli* que resulta deste efluxo ativo.

O bombeamento ativo de antibióticos para o meio extracelular faz com que as bactérias diminuam a concentração citoplasmática do mesmo. Esse mecanismo chamou a atenção da comunidade científica em torno de 1980, quando pesquisadores demonstraram que o mesmo era codificado por plasmídeos em cepas de *E. coli*. A bactéria passa a produzir proteínas de membrana que funcionam como uma verdadeira bomba para tetraciclinas, bombeando ativamente o fármaco para fora da bactéria. Parecem existir, ainda, dois subtipos de sistemas de bombeamento; aquele dito “multi-drug-pump”, ou seja, bombeia inespecificamente vários antibióticos e um sistema específico para transporte de tetraciclina, muito comum em cepas de *P. aeruginosa*.

Assim, o fármaco não atinge concentrações intracelulares suficientes para promover inibição de síntese proteica ribossomal, pois quase que instantaneamente é bombeado para fora da bactéria.

2.2 Perda de porinas

A permeabilidade limitada constitui uma propriedade da membrana celular externa das bactérias Gram-negativas. A permeabilidade dessa membrana se dá pela presença de proteínas especiais, as porinas, que estabelecem canais específicos pelos quais as substâncias podem ingressar para o espaço periplasmático e, em seguida para o interior da célula.

Esta permeabilidade limitada é responsável pela resistência intrínseca dos bacilos GRAM negativos à penicilina, eritromicina, clindamicina e vancomicina e pela resistência de *Pseudomonas aeruginosa* ao trimetoprim.

As bactérias utilizam esta estratégia na aquisição de resistência. Assim, uma alteração na porina específica da membrana celular de *P. aeruginosa*, pelo qual o imipenem geralmente se difunde, pode excluir o antimicrobiano de seu alvo, tornando *P. aeruginosa* resistente ao referido fármaco.

Muitos antibióticos beta-lactâmicos conseguem penetrar em bactérias GRAM negativas através de canais proteicos, as porinas, presentes em sua membrana externa. A função fisiológica desses canais parece ser a entrada de aminoácidos na bactéria. Através desses canais, os antibióticos conseguem atingir seu receptor na parede celular e exercer sua ação bactericida. Para *E.*

coli, por exemplo, esses canais permitem a passagem de moléculas de até 600 daltons.

Como mecanismo de defesa, as bactérias, através de gerações, passam a sintetizar esse canal cada vez menor ou até codificar a ausência completa do mesmo, impedindo assim a entrada do fármaco na célula. Assim algumas bactérias não permitem, pela ausência ou modificação do canal, a entrada de antibióticos, como penicilinas, cefalosporinas e quinolonas.

Canais são componentes construtivos da membrana celular, como os formados por proteínas triméricas, as bombas de efluxo, que atuam expulsando de forma ativa os compostos tóxicos a células, assim como os antimicrobianos. Ambos os sistemas atuam de forma sinérgica. As porinas, quando expressas em pequenos números ou ausentes, diminuem drasticamente a concentração do antimicrobiano no meio intracelular, efeito este potencializado pela ação das bombas de efluxo.

2.3 Alterações de sítio de alvo

A alteração do alvo onde determinado antimicrobiano atua de modo a impedir a ocorrência de qualquer efeito inibitório ou bactericida constitui um importante mecanismo de resistência.

Para que o fármaco possa agir contra um microrganismo é imprescindível que haja a interação fármaco/receptor. A alteração do receptor para a ação do antibiótico ocorre, muitas vezes, por mutação cromossômica, onde ocorre uma alteração química do receptor, impedindo uma perfeita

ligação entre ambos. Este mecanismo se dá em um grande número de bactérias a um diversificado número de antibióticos como macrolídeos, beta-lactâmicos, cloranfenicol, quinolonas, rifampicina e glicopeptídeos.

Um bom exemplo é *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina (MRSA) e estafilococos coagulase-negativos que adquirem o gene cromossômico *mecA* e produzem uma proteína de ligação da penicilina (Penicilin Binding Protein ou PBP) resistente aos beta-lactâmicos, denominada 2a ou 2'. Esta PBP alterada é suficiente para manter a integridade da parede celular frágil que não suporta a diferença osmótica, levando a lise celular bacteriana.

Outro exemplo desse evento ocorre em *Streptococcus pneumoniae* resistentes a metilina, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* que se tornam sensíveis a ação de beta-lactâmicos através de alterações de PBP1. Um gene recém-adquirido pode modificar um alvo, tornando-o menos vulnerável a determinado antimicrobiano. Assim, um gene transportado por plasmídeo ou por transposon que codifica uma alteração dos alvos modifica a ligação dos antimicrobianos, como ocorre com eritromicina e clindamicina.

Alterações nos ribossomos bacterianos também são responsáveis por resistência a um grande número de antibióticos. Mediante da metilação em um resíduo de adenina no RNA ribossômico ocorre a diminuição da afinidade do fármaco pelo receptor.

2.4 Produção de enzimas

O mecanismo de resistência bacteriano mais importante e frequente é a degradação do antimicrobiano por enzimas que promovem alterações estruturais na molécula do fármaco tornando-o inativo contra aquele microrganismo. Dentre as mais conhecidas e descritas encontram-se as beta-lactamases, que hidrolisam a ligação amida do anel beta-lactâmico, destruindo, assim, o local onde os antimicrobianos se ligam às PBPs bacterianas e através do qual exercem seu efeito antibacteriano. Foram descritas numerosas beta-lactamases diferentes. Essas enzimas são codificadas em cromossomos ou sítios extras cromossômicos através de plasmídeos ou transposons, podendo ser produzidas de modo constitutivo ou ser induzido.

A resistência quase universal de *Staphylococcus aureus* à penicilina é mediada por uma beta-lactamase induzível, codificada por plasmídeo. Por causa disto, foram desenvolvidos os beta-lactâmicos capazes de se ligarem irreversivelmente às beta-lactamases inibindo-as. Esses compostos (ácido clavulânicos, sulbactam, tazobactam) foram combinados com as penicilinas para restaurar sua atividade, a despeito da presença de beta-lactamases em estafilococos e hemófilos.

Nas bactérias GRAM negativas, o papel das beta-lactamases na resistência bacteriana é complexo e extenso. Verifica-se a presença de quantidades abundantes de enzimas; muitas delas inativam vários antimicrobianos beta-lactâmicos e os genes que codificam essas enzimas estão sujeitos a mutações que expandem a atividade enzimática e que são transferidos de modo relativamente fácil. Além disso, as beta-lactamases de

bactérias GRAM negativas são secretadas no espaço periplasmático, onde atuam em conjunto com a barreira de permeabilidade da parede celular externa, produzindo resistência clinicamente significativa a antimicrobianos. As beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), mediada por plasmídios, inativam as cefalosporinas de terceira geração e os manobacâmicos como ocorre em *klebsiella pneumoniae*. As beta-lactamases mediadas por cromossomos são produzidas em baixos níveis por *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* e outros bacilos GRAM negativos. Quando esses microorganismos são expostos a antimicrobianos beta-lactâmicos, são induzidos altos níveis de beta-lactamases, produzindo resistência às cefalosporinas de terceira geração, cefamicinas e combinações de beta-lactâmicos/ácido clavulânico ou sulbactam.

Existem, ainda, enzimas bacterianas que em vez de quebrar a estrutura molecular do antibiótico, apenas alteram a sua conformação promovendo adenilação, acetilação e fosfoliração de aminoglicosídeos. Isto reduz sua afinidade pelo receptor ribossômico, impedindo a síntese proteica bacteriana, permitindo que ocorra a multiplicação e reprodução normal. Essas enzimas são encontradas em maior quantidade nas bactérias GRAM negativas.

Na América Latina, a resistência bacteriana vem alcançando níveis muito altos, ameaçando uma evolução favorável na terapêutica de doenças infecciosas tanto de pacientes comunitários quanto hospitalizados. O tratamento empírico já não pode ser mais utilizado. Todo esforço para fornecer ao clínico o resultado de resistência bacteriana deve ser feito.

5 DISCUSSÃO

O contínuo uso de antibióticos tem cada vez mais a resistência de várias bactérias a antimicrobianos. Como um exemplo disso, em um estudo de corte realizado com 271 pacientes e com duração de 3810 dias verificou-se que *Pseudomonas aeruginosa* apresentou resistência ao imipinem, também a ciprofloxacina, ceftazidima e piperaciclina, resultando em panorama de restrição de antimicrobianos para sua erradicação.

O que ocorre é que a escolha do antimicrobiano é orientada pela eficácia microbiológica e farmacológico-clínica. A eficácia microbiológica é determinada *in vitro* e corresponde a capacidade de um antibacteriano eliminar (efeito bactericida) ou inibir a multiplicação das bactérias (efeito bacteriostático). A menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano é denominada Concentração Inibitória Mínima (MIC) determinada *in vitro*. Assim, depois do isolamento do germe e considerado o tipo de infecção, é mais fácil fazer a escolha correta do antimicrobiano, de preferência com o espectro mais reduzido, capaz de cobrir os germes envolvidos, a fim de evitar a reinfecção e a indução da resistência bacteriana.

A resistência bacteriana causada pelo uso inadequado de fármacos preocupa especialistas do mundo inteiro e mobiliza os grandes fabricantes de medicamentos. Além de novos antibióticos é necessário grande cautela na prescrição, além de um trabalho de prevenção.

Atualmente, cerca de 75% das bactérias associadas a doenças das vias aéreas representam novas classes bacterianas, a maioria delas provenientes de mutações causadas pelo mau uso de antibióticos.

O Brasil assim como os Estados Unidos, é um dos países que mais prescrevem antibióticos indiscriminadamente.

Novos alvos para ação de antibióticos também vem sendo estudados, um exemplo é a mupirocina que tem como alvo a t-Rna sintetase, essencial para a síntese proteica bacteriana, atua de modo distinto dos clássicos inibidores de síntese proteica. Alternativamente, alguns peptídeos de cadeia curta com ação em membranas bacterianas vêm sendo estudados, estes são retirados das mais diversas fontes, porém ainda é grande o número de efeitos colaterais, porém são drogas com ação completamente diferentes daquelas disponíveis em clínica. Uma das coisas mais novas e promissoras são estudos que abordam utilizar como alvo genes que se expressam apenas em indivíduos infectados.

Algumas vacinas veem sendo testadas e usadas com sucesso em doenças de etiologia bacteriana, principalmente naqueles em que o agente é multirresistente.

6 CONCLUSÃO

Com o surgimento dos antimicrobianos para solucionar o problema das infecções bacterianas tudo parecia estar resolvido, com o passar dos anos

aparecem as bactérias resistente, relacionados a vários pontos, como resistência adquirida naturalmente ou de várias formas.

Mas com toda certeza o problema que existe hoje em relação à multirresistência das bactérias advém do uso indiscriminado desses medicamentos, inclusive na agricultura, pecuária e na avicultura onde selecionou microrganismos altamente multirresistentes.

Os antibióticos devem ser prescritos com extrema cautela e nunca usados em demasia ou de maneira não controlada. A prescrição médica deveria ser obrigatória, com proibição de venda sem receita.

As orientações de uso devem ser seguidas à risca, sem falha na frequência e dosagem preconizadas e sem prolongar o uso orientado pelo médico. Os médicos, por sua vez, deveriam somente prescrever estes antimicrobianos na certeza de infecção bacteriana.

A prescrição ideal seria baseada na identificação do microrganismo e sua suscetibilidade. Quando isso não for possível, recomenda-se indicar o antibiótico considerando a bactéria mais provavelmente envolvida naquela infecção, evitando assim o uso de antibioticoterapia de amplo espectro. A profilaxia antibiótica deve ser feita por tempo curto, com fármacos bactericidas e, também, visando o microrganismo mais provavelmente envolvido naquela determinada cirurgia ou trauma.

Todos os profissionais de saúde devem ser informados e conscientizados do real e grande problema que isto significa. Paralelamente, o uso hospitalar deve ser altamente controlado, pois é neste ambiente que se criam a maioria das cepas multirresistentes e a venda em farmácias deve ser igualmente controlada. Para tanto, a partir do dia 27 de outubro de 2010 já

começa um avanço no controle da resistência bacteriana com a nova RDC 44 da ANVISA, onde está descrito que todo e qualquer antibiótico só será vendido mediante apresentação e contenção de receita.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- LACEY, R. Antibiotic Resistance plasmids of *Staphylococcus aureus* and their clinical importance . **Rev. de Bacteriologia**, v. 39. 1995.

2- NASCIMENTO , C. M; MARQUES, H. S. Recomendação da Sociedade Brasileira de Pediatria para antibióticoterapia em crianças e adolescentes com pneumonia comunitária. **Rev. Panamericana de saúde pública**, v.15, n.6. 2004.

3- HOEFEL, H. H. K; LAUTERT,L. Administração endovenosa de antibióticos e resistência bacteriana: responsabilidade da Enfermagem. **Revista eletrônica de Enfermagem**, v. 8, n.3. 2006.

4- LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia Médica e Imunologia. 7.ed.** Porto Alegre: Artmed. 2005.

5- MOREIRA, L. B. Princípios para uso racional de antimicrobianos. **Revista Eletrônica AMRIGS**, v.48, n. 2, abr-jun, 2004.

6- RUSSEL, A. D. **In understanding antibacterial action and resistance. 1ª ed**, Londres. 1990.

7- SILVEIRA, G. ; GESSER, J. C; SÁ, M. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Rev. Química Nova**, v.29, n. 4. 2006.

8- MARTINEZ, R; GIRONI, R; SANTOS, V. Sensibilidade bacteriana a antimicrobianos, usados na prática médica. **Rev. Medicina**, v. 29, São Paulo, abr-set. 2006.

9- LIVERMORE, D.M. Evolution of beta-lactamases inhibitors. **Rev. Intensive Care Med.** v.20. 1994.

10- RATTI, R P. *Staphylococcus aures* metilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. **Rev de Ciências Farmacêuticas Básicas Aplicadas**, v. 30, n. 9. 2009.

- 11- MEDEIROS, A. A. Beta-lactamases. **Rev. Med Bull**, v.40, n.1, 1984.
- 12- HAWKEY, P M, The origins and molecular basis of antibiotic resistance. **Journal. BMJ**, v. 317. 1998.
- 13- SPEER, B. S.; SHOEMACKER, N.B.; SALYEARS, A.A. Bacterial Resistance to Tetracycline: Mechanisms, Transfer and Clinical Significance. **Rev. Clin Microbiol**, v.4, n.3. 1992.
- 14- CHAMBERS, H. F. Penicillin-Binding Protein – mediated resistance in pneumococci and staphylococci. **Journal Infectology**, v. 179. 1999.
- 15- CHAMBERS, H. F. Penicillin-Binding Protein – mediated resistance in pneumococci and staphylococci. **Journal Infectology**, v. 179. 1999.
- 16- AUSTIN, D. J, The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and frequency of resistance. **Proc. Nat. Acad.USA**, v.96. 1999.
- 17- HART, C.A. antibiotic resistance: an increasing problem? **Journal BMJ**, v. 316. 1998.
- 18- SMITH, A. J., et al. Contributors to antibiotic resistance. **Journal BMJ**. 318: 669-73. 1999.
- 19- LIVERMORE, D.M, Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? **Rev.Clin Infec Dis**, v.34. 2002.
- 20- RIVAS, C.M. Antibióticos, ayer, hoy y mañana. Departamento de química biológica. Universidad de Buenos Aires. Disponível em: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v5n2/sanchez.html>. Acesso em 25 out. 2010.
- 21- WILLETTS, N. The conjugation system of F-like plasmids. **Rev. Genetic**, v. 14. 1980.

22- LOPES, A. A; SALGADO, K.; MARTINELLI R. Aumento da frequência de resistência a norfloxacin e ciprofloxacina em bactérias isoladas em uroculturas. **Revista Ass. Med. Brasil**, v.44, n.3. 1998.

23- Who, Global strategy for containment of antimicrobial resistance. Anti-infective drug resistance surveillance and containment. Disponível em: <http://www.who.int/emc/amr.html>. Acesso em: 29 mai 2013.

24- HYDER, S. L. Transfer of erythromycin resistance from clinically isolated lysogenic strains of Streptococcus pyogenes their endogenous phage. **Journal Infect.** , v. 138. 1978.

25- HYDER, S. L. Transfer of erythromycin resistance from clinically isolated lysogenic strains of Streptococcus pyogenes their endogenous phage. **Journal Infect.** , v. 138. 1978.

26- TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistencia do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Rev. **da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 33:281-301, mai-jun. 2000.

27- MOURA, J. GIR, E. Conhecimento dos profissionais de enfermagem referente à resistência bacteriana a multiplas drogas. **Acta Paul Enferm.** 20(3):351-6. 2006.

28- LENITA, Wannmacher; Uso indiscriminado de antibióticos e resitência microbiana: Uma Guerra Perdida?, **ISSN**, vol 1, n.4, Brasília , março 2004.

29- WISE, R. et al. Antimicrobial Resistance - Major threat to public health. **BMJ.** 317: 609-610. 1998.

30- ANVISA RDC 44. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/html>. Acesso em: 30 mai 2013.