ARTIGO DE REVISÃO

IMPORTÂNCIA DA ENZIMA METALO β LACTAMASE

PAULA CAROLINE SANTOS DE OLIVEIRA
Graduada em Biomedicina pela Universidade de Uberaba
Pós Graduanda em Microbiologia Clínica pela Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto

RESUMO

O uso indiscriminado e inadequado de antibióticos frente ao estado de saúde do paciente, está causando o aparecimento de bactérias resistentes. Observa-se que no ambiente hospitalar isso vem ocorrendo de forma rápida, com bactérias que antes eram apenas patógenos oportunistas. Com o passar do tempo estuda-se novas enzimas que degradam os antibióticos e o mais grave é que essas enzimas podem ser passadas de uma bactéria para outra. A peça chave para a detecção dessas bactérias com uma metalo β lactamase é através da atualização do setor de Microbiologia, com técnicas fenotípicas que podem ser realizadas no dia e dia, como também a utilização de técnicas de biologia molecular, neste caso apenas por laboratórios especializados.

Palavras chave: Multiresistência, Metalobetalactamase, enzima betalactamase, Resistência bacteriana, enzima metalobetalactamase.

INTRODUÇAO

O laboratório de Microbiologia tem a finalidade de informar a presença ou ausência de microrganismos em amostras clínicas, e ainda realizar testes de sensibilidade dos microrganismos, com o objetivo de orientar a terapêutica antimicrobiana. Cada vez mais as técnicas para detectar as possíveis resistências estão se aprimorando e a resistência bacteriana tem assustado médicos, estudiosos e também toda a população. No Brasil, o alto índice de infecções hospitalares e o uso inadequado e indiscriminado de antibióticos, frente ao estado do paciente, favorecem o aparecimento de bactérias que apresentam resistência a vários tipos de antibióticos. [(1), (2)]

O tratamento dessas infecções é caro, gerando um problema econômico para os sistemas de saúde como também para os hospitais. [(3)]

A resistência bacteriana aos antibióticos pode ocorrer por diversos mecanismos bioquímicos, como produção de enzimas que torne a droga inativa, alteração na

permeabilidade celular da bactéria, pode ocorrer também alteração nas PBPs (Proteinas fixadoras de penicilina), o que dificulta a entrada e ação do antibiótico na bactéria. [4]

Um importante mecanismo de resistência encontrado em bactérias gram negativas não fermentadoras e fermentadoras é a produção de enzimas metalobetalactamases (MBLs), as quais se caracterizam por ser cromossomicamente codificadas e transmitidas por plasmídeos. Podem ser inibidas apenas por compostos derivados de tiol e EDTA, degradam todos os beta lactâmicos disponíveis, e necessitam de cátions divalentes ou o íon zinco para a atividade catalítica. [5] [6].

Essas enzimas para facilitar seu espectro de ação, possuem sítios com vários encaixes para diversos substratos. As beta lactamases são classificadas de acordo com a atividade de hidrolisar, sendo a classe A são as beta lactamases que agem sobre os cabarpenens, as quais são denominadas penicilinases; a classe B, são as metalo betalactamases, as quais tem ação contra os carbapenêmicos por isso representam um grande problema, e classe D as oxcilinases. [6]

Metalobetalactamases e seu mecanismo de ação

As MLBs podem ser produzidas intrinsecamente, ou seja, são codificadas pelo cromossomo da bactéria, isso ocorre em microorganismos como *Bacillus cereus*, *Aeromonas spp, Stenotrophomonas maltophifia, Legionela gamani, Caulobacter crecentus, Chyseobacterium indologenes e Chyseobacterium meningosepticum.* Existem novos genes que codificam essas enzimas e estes genes podem ser passados entre bactérias, com isso as MBLs passaram a ser denominadas adquiridas. Hoje, há 4 subclasses de MBLs adquiridas, sendo elas, IMP (Imipenemase) possuindo 14 variantes, ela confere a resistência a Cefalosporinas de amplo espectro e ao Imipenem, já se observa essa enzima presente em bactérias como *Klebsiella pneumoniae; Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter sp.* [7][6].

Há também a VIM (Verona imipenemase) denominada assim devido o local que foi encontrada e confere resistência aos carbapenêmicos; SPM (São Paulo metalo β lactamase), essa enzima é incapaz de hidrolisar o Azetreonan, Tiarciclina e Ácido Clavulâmico, porém inativa os beta lactâmicos principalmente Cefalosporinas, e por fim SIM (Seul) a qual confere multiresistência. A MBL SPM adquirida pode ser codificada por genes cassetes presentes no cromossomo ou no plasmídeo bacteriano, já as demais são codificadas por genes

presentes nos integróns, os denominados genes bla, o que facilita a sua disseminação clonal. [7][8].

O grande problema é que essas enzimas estão presentes em patógenos importantes como *Pseudomonas, Acinetobacter* e membros da família Enterobacteriaceae. [7].

As MBLs possuem mecanismo de hidrólise complicado e difere de uma para outra, devido não se conhecer bem a estrutura desta enzima. Sabe-se que esta degrada o anel β lactâmico dos betalactâmicos, inativando o antibiótico.

Essas enzimas destroem o anel betalactâmico dos antibióticos devido uma hidroxilação do grupo amina, ocasionando a inativação de antibióticos como Penicilinas, Cefalosporinas e Carbapenens, podendo atuar também no Ácido Clavulâmico, Tazobactam e Sulbactam; desta forma restringindo o tratamento. [5].

O íon zinco é o íon capaz de coordenar através de duas moléculas de água a hidrólise da ligação amida do anel β lactâmico facilitando a ligação no sitio alvo, com isso o antibiótico perde a função do anel, inativando –o. [6].

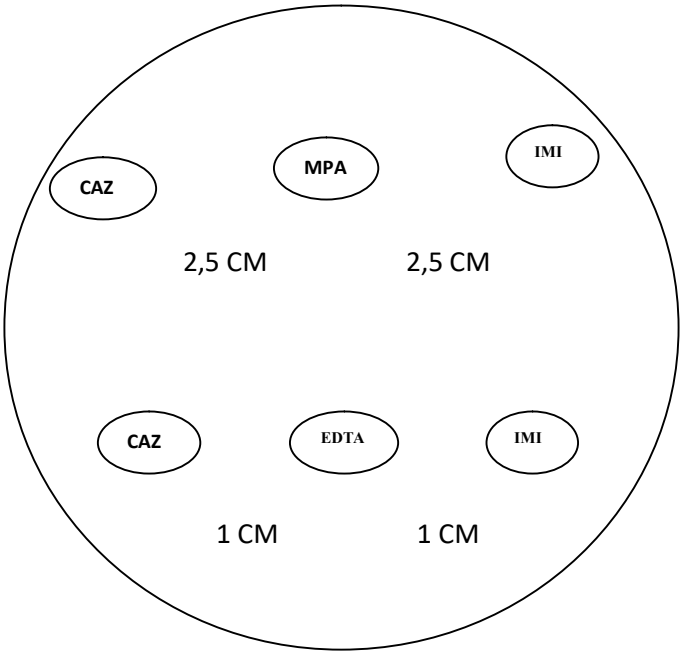
DISCUSSÃO

Segundo Bertoncheli e Horner, 2008, no Brasil existem bactérias que possuem essas enzimas, já foram identificadas bactérias possuindo os tipos IMP e SPM em microorganismos importantes como Klebsiella pneumoniae e Pseudomonas aeruginosa.

Portanto se faz importante a identificação fenotípica da presença dessa enzima em bactérias da rotina clínica, com o intuito de evitar a disseminação dos genes de resistência e melhores opções para o tratamento. Ainda não se tem uma padronização para os testes de identificação das metalobetalactamases, mas existem técnicas que podem ser realizadas na rotina clínica.

Os testes fenotípicos que podem ser realizados, de acordo Bertoncheli e Honer, 2008, são o teste de sinergismo com disco aproximação utilizando EDTA com Imipenem (IMI) e ceftazidima (CAZ), sendo este o mais utilizado, mais prático e de fácil manipulação, pode-se utilizar também o ácido 2- mercaptopropiônico com IMI e CAZ, teste de Hodge modificado, teste do disco combinado de CAZ ou IMI com EDTA, tiras de Etest MβL, microdiluição utilizando EDTA e 1,10 Fenantrolina com IMI, ensaio microbiológico com IMI-EDTA, e teste fenotípico utilizando ácido dipicolínico, inibidor de MβL. As tiras de Etest possibilita detectar as MβLs tanto de origem cromossômica ou plamidial. Técnicas de Biologia

molecular também podem ser utilizadas, como a detecção do gene de resistência, sendo esta realizada apenas por laboratórios especializados. [6].



Técnica de disco aproximação utilizando EDTA e Ácido 2- mercaptopropiônico.

Mesmo não havendo uma padronização por parte do CLSI e de outros comitês internacionais o teste fenotípico se faz necessário, pois auxilia a CCIH do hospital, a qual saberá tomar as possíveis medidas para tratamento e evitar a disseminação dessa bactéria. [7].

CONCLUSÃO

A incidência de infecções tem aumentado muito nos últimos anos, com isso o uso indiscriminado e inadequado de antibióticos tem favorecido o aparecimento de bactérias multiresistentes. Com isso os laboratórios de microbiologia devem estar preparados para a possível identificação de resistências, pois as bactérias se comunicam e se reproduzem rápido. Portanto se faz necessário o uso de técnicas adequadas tanto para identificação bacteriana, teste de susceptibilidade ao antimicrobiano, como a realização de testes fenotípicos para se detectar enzimas causadoras de resistências.

REFERÊNCIAS

1. ANDREAZZI, DB; ROSSI F. Resistência Bacteriana, interpretando o antibiograma. **Atheneu**, São Paulo, 2005.

2. OLIVEIRA, AC; SILVA, RS; DIAZ, MEP, IQUIAPAZA, RA. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Rev. Latino Am. Enfermagem**; vol 6, 2010.

3. CARDOSO, AM; PEREIRA, CN. Prevalência de *Enterococcus spp.* Resistente à vancomicina em amostras de pacientes internados em um Hospital Filantrópico de Goiânia-GO, no período de 2008-2010. **News Lab**; vol 112, 2012: 188-196.

4. GOULART, SL; SEIBERT, F. Isolamento de *Staphylococcus spp.* Resistente à Oxacilina de profissionais da equipe de enfermagem**.** **News Lab**; vol 88, 2008: 134-140.

5. MORSCH, F; PICOLI, SU; ZANOL, FM. Detecção Fenotípica de metalobetalactamase em isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* me hospitais de Caxias do Sul**. J. Bras Patol e Med Lab**; vol 46, 2010: 309-314.

6. HORNER, R; BERTOCHELI, CM. Uma revisão sobre metalo β lactamase. **Rev Bras Ciên Farmacêuticas**.; vol 44, 2008: 577-599.

7. GALES, AC; PIGNATARI, ACC; CASTANHEIRA, M; MENDES, RE. Metalo-β-lactamase. **J. Bras Patol Med Lab**; vol 42, 2006: 103-113.

8. FERNANDES, TA; PEREIRA, CAP; PETRILI, AS; PIGNATARI, ACC. Caracterização molecular de Pseudomonas aeruginosa resitentes a carbapenêmicos e produtoras de metalobetalactamase isoladas em hemoculturas de crianças e adolescentes com câncer. **Rev. Sociedade Bras. Med Topical**, vol 4, 2010: 372-376.