

Marisa Neto Bernardino

Produção de carbapenamases em Enterobactérias: Impacto na saúde pública

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Marisa Neto Bernardino, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009010601, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 11 de Julho de 2014

(Marisa Neto Bernardino)

Agradecimentos

Uma vez que este trabalho simboliza o final de uma etapa de 5 anos de estudo e o final de um sonho concretizado, não posso deixar de agradecer a todos aqueles que tornaram isto possível,

À minha Estrelinha que, mesmo não estando presente todo o percurso, foi uma força fundamental, ao meu Pai, que tornou a concretização deste sonho possível, às minhas Manas, que estiveram sempre comigo, aos Amigos de Coimbra, pois foi com eles que vivi esta etapa, aos Amigos de Sempre e ao meu Namorado, que me apoiaram em tudo,

a todos os Docentes e Não Docentes da FFUC, que me proporcionaram uma formação de excelência, à Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva, que me apoiou na realização deste trabalho, A todos, muito Obrigada!

Resumo

As Enterobactérias fazem parte da flora normal do intestino do Homem, no entanto, são causa de muitas infecções, muitas delas adquiridas em meio hospitalar. Actualmente, estas infecções, devido ao aumento das resistências aos antibióticos, representam um perigo para a saúde pública, uma vez que, as opções terapêuticas para o seu tratamento estão a tornar-se cada vez mais ineficazes.

Uma das causas deste problema é a produção de carbapenemases em Enterobactérias. Este problema leva ao aumento da resistência aos carbapenemos, antibióticos utilizados em tratamentos de última linha nas infecções por Enterobactérias. As carbapenemase mais disseminadas são a *Klebsiella pneumoniae* (KPC) carbapenemase, as Metallo- β -lactamases VIM, IMP e NDM e as carbapenemases do tipo OXA-48, enzimas que actualmente se encontram disseminadas por diversos países do Mundo.

É fundamental que existam acções de sensibilização para este problema, que as mentalidades comecem a mudar e que se adquiram hábitos que previnam e travem estas infecções.

Abstract

Enterobacteriaceae are a part of the normal Human intestinal flora, nonetheless they are the cause of many infections, numerous of which are hospital-acquired. Today, these infections represent a hazard to Public Health due to the fact that the therapeutic options for their treatment are becoming more and more inefficient.

The main cause of this problem is the production of carbapenemases in Enterobacteriaceae, that leads to a rise in the resistance to carbapenems, antibiotics used in last-line treatments of infections caused by Enterobacteriaceae. The most widely disseminated carbapenemases are *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), Metallo- β -lactamases and OXA-48 carbapenemases, enzymes currently spread across various countries of the World.

It is fundamental to raise awareness towards this problem, that people's mindsets start to change and that preventative measures are taken, in order to prevent and stop these infections.

Índice

Resumo	1
Abstract	1
Índice	1
Índice de tabelas.....	3
Índice de figuras.....	3
Lista de abreviaturas	3
1. Introdução.....	4
2. Enterobactérias.....	6
2.1. Estrutura antigénica.....	6
3. Antibióticos β -lactâmicos.....	7
3.1 Carbapenemos	9
3.1.1 Evolução histórica	10
4. Mecanismos de resistência aos antibióticos.....	11
5. Carbapenemases.....	13
5.1 Classificação de Ambler	13
5.2 Carbapenemases em Enterobactérias	14
5.2.1 KPC	15
5.2.2 Metallo- β -Lactamases.....	17
5.2.3 OXA-48.....	18
6. Impacto na saúde pública.....	20
7. Conclusão	22
Bibliografia	23

Índice de tabelas

Tabela - I Espectro de acção dos diferentes antibióticos carbapenemos	9
-----------------------------------------------------------------------------	---

Índice de figuras

Figura 1 - Estrutura do peptidoglicano.....	7
Figura 2 - Estrutura das quatro famílias de antibióticos β -lactâmicos, com o anel β -lactâmico assinalado.....	8
Figura 3 – Mecanismos de resistência a antibióticos	13
Figura 4 – Aspectos epidemiológicos de produtores de KPC por país de origem.	16
Figura 5 – Distribuição geográfica de produtores de VIM e IMP, mundialmente (A) e na Europa (B).	18
Figura 6 – Distribuição geográfica de Enterobactérias produtoras de OXA-48.....	19

Lista de abreviaturas

DGS – Direcção Geral de Saúde

EU – União Europeia

IMP – Grupo das β -lactamases do tipo IMP

KPC – *Klebsiella pneumoniae* carbapenamase

MBL – Metallo- β -lactamase

NAG – N-acetil glucosamina

NAM – ácido N-acetil murânico

NDM – New Delhi metallo- β -lactamase

OMS – Organização Mundial de Saúde

PBP – Penicilin Binding Protein

VIM – Verona Integron-encoded metallo- β -lactamase

I. Introdução

Os antibióticos são substâncias químicas que podem ser naturais, produzidas por fungos ou bactérias, ou substâncias sintéticas, que têm a capacidade de inibir o crescimento bacteriano ou induzir a sua morte, considerando-se bacteriostáticos ou bactericidas, respectivamente. Estas substâncias têm efeito tóxico reduzido, sobre o Homem ou animais e são ineficazes em vírus e fungos.

O primeiro antibiótico foi descoberto em 1928 por Alexander Fleming [1]. Esta descoberta veio revolucionar o tratamento das infecções; no entanto, actualmente a sua eficácia está comprometida, uma vez que, aumentam, continuamente, as resistências das bactérias. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), as infecções resistentes a antibióticos matam 25 mil indivíduos na União Europeia por ano. Estas resistências representam perigo acrescido para o doente devido à ineficácia terapêutica, sofrimento prolongado e custos aumentados nos cuidados de saúde, sendo um encargo maior para a sociedade.

As bactérias têm uma grande capacidade de adaptação e desenvolvem resistência através da incorporação de genes de outros microrganismos por diferentes sistemas de transferência genética ou modificando o seu genoma. Estas alterações são transmitidas às gerações seguintes e permanecem na população, exigindo tratamentos mais complexos e novos antibióticos.

São muitas e variadas as causas de aparecimento deste problema de saúde pública, podendo estar relacionado com a toma excessiva de antibióticos pelos humanos, casos de auto-medicação, situações em que são utilizados antibióticos desnecessariamente, toma incorrecta, o não cumprimento dos horários e o não cumprimento da medicação até ao final do tratamento. Pode também estar relacionado com o uso destas substâncias na veterinária para fins terapêuticos, profilácticos e até como promotores de crescimento, ou ainda com o aumento de movimentação de pessoas e circulação de alimentos e matérias-primas para produção alimentar em diferentes países.

Considerando que a resistência aos antibióticos é um problema de saúde pública que está a afectar todo o mundo é necessário encontrar soluções e algumas delas poderão partir de medidas como a restrição da utilização dos antibióticos apenas às situações onde são indispensáveis, o cumprimento das regras de prescrição, que já existem, e a utilização controlada de antibióticos em agricultura, veterinária e aquacultura. A descoberta de novos fármacos é uma necessidade mas pode não ser uma solução, uma vez que é necessário um

processo de investigação muito demorado e, uma vez que as bactérias têm grande capacidade de adaptação, estes podem não ser eficazes durante muito tempo.

Para solucionar este problema é necessário um trabalho conjunto e sincronizado de várias entidades. Nos últimos anos a União Europeia (EU) tem tido um papel de extrema importância na proibição do uso de antibióticos na produção animal e na agricultura. Em Portugal, a Direcção Geral de Saúde (DGS), implementou um sistema de vigilância de resistência a antibióticos no Homem, com o objectivo de monitorizar o aparecimento de microrganismos resistentes. [2]

Dentro deste problema as Enterobactérias surgem como um dos principais focos, uma vez que são uma família de bactérias clinicamente importante, responsáveis por diversas infecções. Este problema agrava-se devido ao aumento da resistência destas bactérias aos carbapenemos, antibióticos bactericidas de largo espectro de acção, utilizados preferencialmente, em infecções causadas por Enterobactérias, resistentes aos outros β -lactâmicos, e frequentemente a outras classes de antibióticos.

2. Enterobactérias

As Enterobactérias são uma família muito ampla de bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos, onde se encontram géneros clinicamente importantes. Estas bactérias são ubiqüitárias, podendo habitar o solo, a água, vegetação, e fazem fazer parte do microbiota do tracto intestinal de animais e do homem. São responsáveis por muitas e variadas infecções, nomeadamente 30 a 35% das septicémias, 70% das infecções urinárias e muitas infecções intestinais, [3] e são também responsáveis por grande parte das infecções hospitalares. Os géneros mais frequentemente isolados em amostras clínicas são *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Citrobacter* sp., *Morganella* sp., *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Serratia* sp., *Providencia* sp. e *Yersinia* sp..

2.1. Parede celular das Enterobactérias

A parede celular bacteriana é uma estrutura tridimensional que define a forma da bactéria e permite que esta resista à lise celular. Como esta é uma estrutura muito importante para a célula, exclusiva das células bacterianas, os processos envolvidos na sua síntese são alvo de muitos antibióticos, incluindo os antibióticos β -lactâmicos, dos quais os carbapenemos fazem parte.

A unidade estrutural da parede celular das bactérias é o peptidoglicano, um polímero composto por resíduos de N-acetilglucosamina (NAG) e ácido N-acetilmurânico (NAM) ligados por uma ligação $\beta(1,4)$. Ao NAM está ligado um peptídeo composto por três a cinco aminoácidos que tem capacidade de estabelecer ligações cruzadas com outros peptídeos. Este segundo peptídeo está ligado a um NAM de outra cadeia formando, desta forma, a estrutura tridimensional. [4](Figura 1)

A síntese do peptidoglicano processa-se em três fases. A primeira acontece no citoplasma e é responsável pela formação dos precursores dos resíduos de NAG e NAM, a segunda fase ocorre na membrana citoplasmática e é responsável pela síntese de um lípido membranar intermédio, o bactoprenol, que tem a capacidade de transportar os precursores anteriormente formados através da membrana, formando o NAG-NAM pentapeptídeo. Por fim, na parede celular, ocorre a última fase, a fase parietal, responsável pela polimerização do NAG e do NAM e pela sua incorporação na parede celular. Nesta fase são necessárias as “Penicilin Binding Proteins” (PBP's) que catalisam reacções de transpeptidação e transglicosidação. [5]

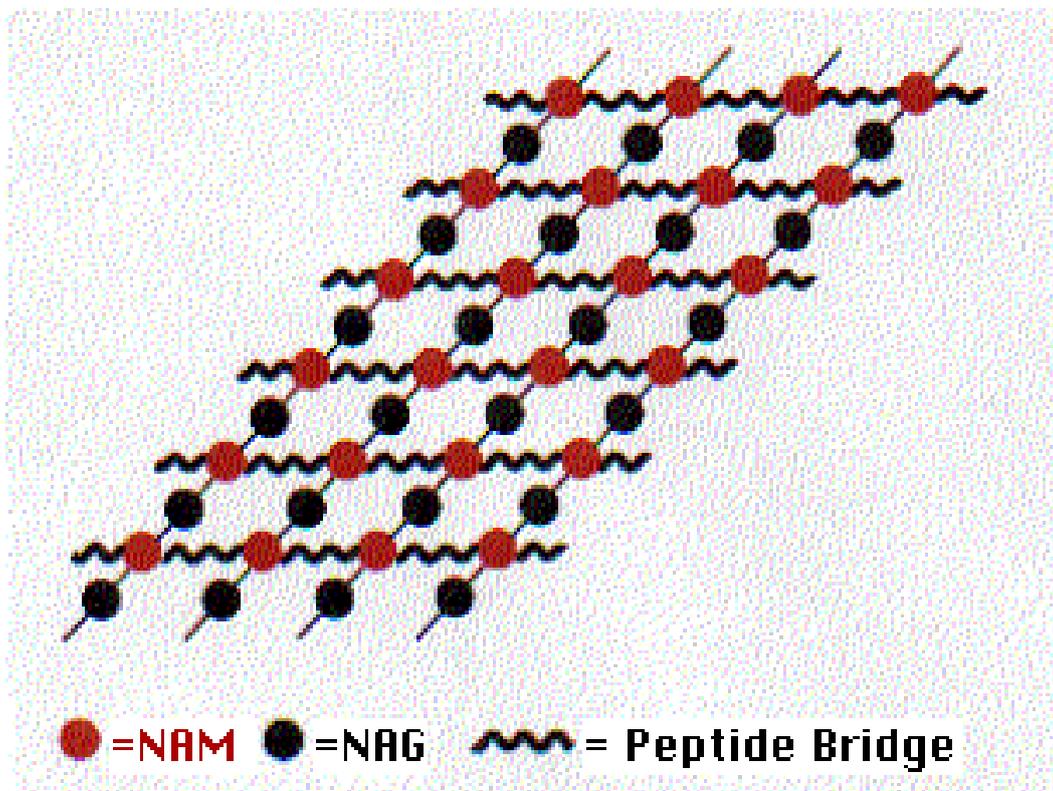


Figura 1 - Estrutura do peptidoglicano
(Adaptado de [6])

3. Antibióticos β -lactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos são um amplo grupo de antibióticos e, provavelmente, o grupo de antibióticos mais utilizado na terapêutica em todo o mundo. Este grupo de antibióticos tem, na sua estrutura molecular, um anel β -lactâmico, constituído por três átomos de carbono e um de azoto, o grupo activo da molécula (Figura 2). Fazem parte deste grupo as penicilinas, cefalosporinas, monobactamos, os carbapenemos e os inibidores das β -lactamases.

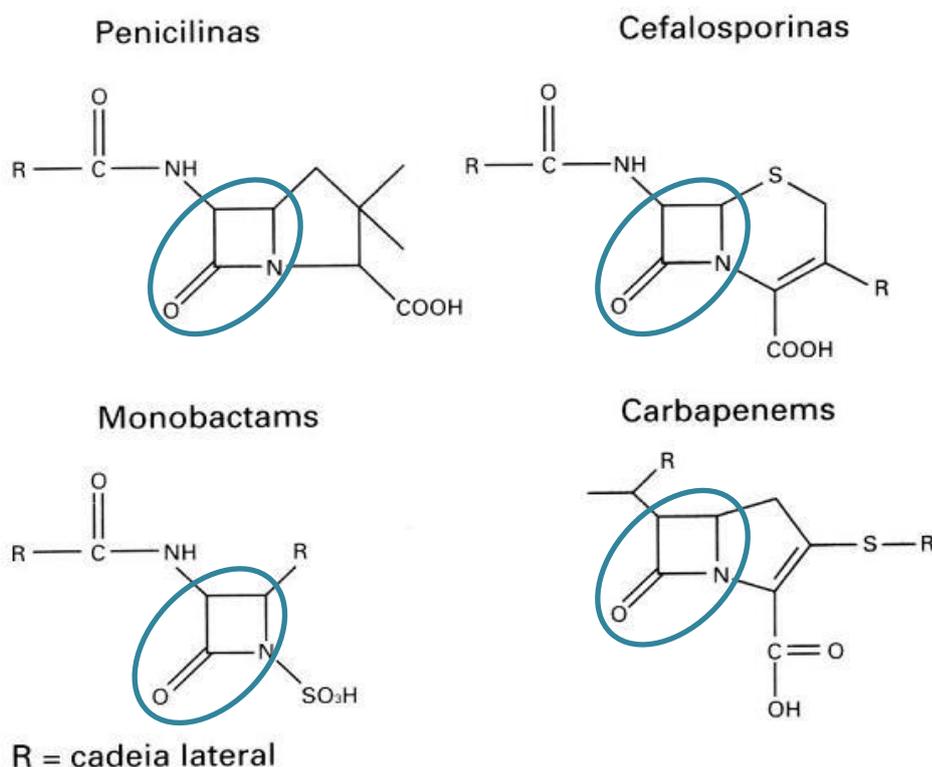


Figura 2 - Estrutura das quatro famílias de antibióticos β -lactâmicos, com o anel β -lactâmico assinalado. (Adaptado de [7])

Os antibióticos β -lactâmicos exercem a sua acção bactericida por inibição de algumas enzimas envolvidas na síntese da parede celular, actuando na fase parietal da síntese do peptidoglicano. [8]

O anel β -lactâmico é estericamente semelhante ao da porção terminal do pentapeptídeo que se liga ao NAM, o que faz com que as PBPs reconheçam, erradamente, o anel β -lactâmico como uma unidade necessária durante a síntese da parede celular. Isto faz com que ocorra a acilação das PBPs, tornando-as incapazes de catalisar mais reacções de transpeptidação. [8]

Apesar do mecanismo de acção destes antibióticos ser comum a todos eles, estes podem apresentar espectros de acção diferentes devido a diversos factores, entre eles, as diferentes afinidades para as PBPs ou a resistência à inactivação pelas β -lactamases.

3.1 Carbapenemos

Os antibióticos carbapenemos pertencem ao grupo dos antibióticos β -lactâmicos, e apresentam as características e mecanismo de acção anteriormente descritos.

Uma das diferenças deste grupo relativamente aos outros antibióticos β -lactâmicos está na sua estrutura molecular, que difere das penicilinas (primeiros β -lactâmicos a surgir), porque na posição 1 da molécula das penicilinas, o átomo de enxofre foi substituído por um átomo de carbono e foi adicionada uma insaturação à molécula (Figura 2), características importantes para a sua actividade antimicrobiana.

Os carbapenemos têm o maior espectro de acção dos antibióticos β -lactâmicos e são também, os mais potentes contra bactérias Gram positivas e Gram negativas. [9] Estes antibióticos são, por isso, utilizados como antibióticos de última linha em doentes com infecções graves nas quais existe suspeita de uma infecção por uma bactéria resistente aos antibióticos normalmente utilizados nestas infecções.

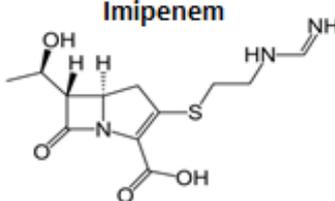
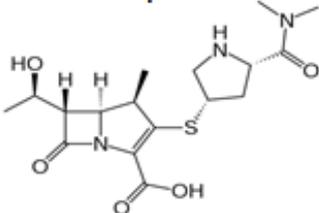
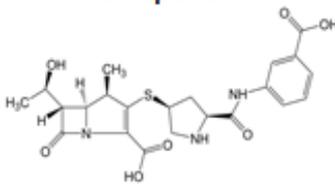
	Activo contra	Não activo contra
<p>Imipenem</p>  <p>Meropenemo</p> 	<p>Bacilos Gram negativos não fermentadores</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Acinetobacter</i> <p>Bactérias Gram positivas</p> <p>Bactérias Gram negativas</p> <p><i>E-Cloacae</i></p> <p>Grande variedade de β-lactamases</p>	<p><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></p> <p><i>Burkholderia cepacia</i></p> <p><i>C.difficile</i></p> <p><i>Staphylococcus spp.</i></p>
<p>Ertapenemo</p> 	<p><i>Escherichia coli</i></p> <p>Bactérias Gram positivas</p> <p>Bactérias Gram negativas</p> <p>Enterobactérias produtoras de β-lactamases</p>	<p>Limitado: <i>P.aeruginosa</i></p> <p><i>Acinetobacter</i></p>

Tabela - I Espectro de acção dos diferentes antibióticos carbapenemos. (Adaptado de [8])

Em Portugal, os carbapenemos que estão disponíveis para uso clínico são o imipenemo, o meropenemo e o ertapenemo que apresentam diferentes espectros de acção (Tabela 1), sendo o último o mais recente introduzido no mercado. A utilização destes antibióticos está restrita aos hospitais de forma bem controlada e justificada, uma vez que são antibióticos de largo espectro utilizados em situações de falência das terapêuticas de primeira linha.

3.1.1 Carbapenemos - Evolução histórica

Com a utilização da penicilina ao longo dos anos, a emergência de estirpes bacterianas resistentes devido à produção de β -lactamases tem aumentado, tornando necessário iniciar investigações para descobrir inibidores destas enzimas

Em 1976, foi descoberto o primeiro inibidor das β -lactamases, o ácido olivânico, este era produzido, naturalmente, pela bactéria *Streptomyces clavuligerus*, no entanto, devido à sua instabilidade química e fraca capacidade de penetração na parede bacteriana deixou de ser investigado e utilizado. [9]

Surgiram depois dois inibidores das β -lactamases com actividade superior, o ácido clavulânico, a partir de *S. clavuligerus* e a tienamicina, a partir de *Streptomyces cattleya*. A tienamicina foi, posteriormente, considerada como o primeiro carbapenemo e serviu de modelo para, praticamente, todos os carbapenemos que foram surgindo.

Embora a tienamicina fosse um composto natural, o seu processo de purificação tinha um rendimento muito baixo, pelo que, com o passar do tempo, o processo de preparação sintético começou a ganhar importância e foi a partir deste que um derivado chave foi descoberto, o imipenemo.

O interesse pela tienamicina foi crescendo, uma vez que, este composto era capaz de inibir a actividade de muitas bactérias que, até então, eram resistentes aos antibióticos. No entanto, o sucesso deste composto começou a diminuir a partir do momento em que se descobriu que este não era estável em solução aquosa, era sensível a hidrólises básicas e altamente reactivo com nucleófilos. Todas estas características fizeram com que a procura de derivados análogos, com maior estabilidade, crescesse. [9]

O primeiro derivado que surgiu, foi o imipenemo e, posteriormente, um análogo, o panipenemo. Estes eram mais estáveis e menos sensíveis a hidrólises básicas e a soluções aquosas.

Em 1985, o imipenemo tornou-se o primeiro carbapenemo disponível para o tratamento de infecções por bactérias resistentes às opções terapêuticas até então conhecidas, demonstrando ter alta afinidade para as PBPs e capacidade de resistir às β -lactamases até então conhecidas. No entanto, era susceptível à desactivação pela deihidropetidase renal humana, pelo que exigia, e exige, a co-administração de inibidores desta enzima, como a cilastatina, sendo os dois fármacos administrados, simultaneamente, por via intravenosa.

Ao longo de todo o processo de investigação de carbapenemos mais estáveis e com largo espectro de acção, outros carbapenemos foram surgindo, como é o caso do meropenemo e do ertapenemo, actualmente disponíveis. [9]

4. Mecanismos de resistência aos antibióticos

A resistência bacteriana é definida como a capacidade de resistir às concentrações inibitórias do antibiótico [1], levando a uma ineficácia terapêutica e tem-se desenvolvido como uma resposta natural das bactérias à exposição a estes fármacos. A resistência pode ser intrínseca ou extrínseca.

A resistência intrínseca, tal como o nome indica, ocorre naturalmente e é a resistência característica de todos os microrganismos de determinado género ou espécie ocorrendo sem uma exposição prévia ao antibiótico. Refere-se à existência de genes, no seu genoma, que podem gerar fenótipos de bactérias resistentes. Este tipo de resistência acontece por diversos motivos, entre os quais a ausência de um processo metabólico que influencie a acção do fármaco, a existência de enzimas com capacidade para inactivar o antibiótico ou pela presença de características morfológicas inerentes à bactéria.

No que diz respeito à resistência adquirida, esta, do aspecto clínico, é mais preocupante devido à possibilidade de propagação dos genes de resistência a populações de bactérias anteriormente sensíveis. Este tipo de resistência pode acontecer pela aquisição de genes através de diferentes mecanismos de transferência genética, ou através de mutações

espontâneas que surgem durante o crescimento bacteriano e que se vão mantendo e propagando pelas populações.

De uma forma geral, podem distinguir-se quatro mecanismos [1] através dos quais as bactérias se protegem dos antibióticos, tornando-se resistentes (Figura 3):

- Alteração do local de acção: estas alterações são provocadas por mutações no gene do sítio alvo, originado um sítio alvo com estrutura diferente, este mantém as suas funções celulares mas torna impossível o acesso do antibiótico;
- Alteração da permeabilidade da membrana externa: as células bacterianas têm capacidade de restringir a entrada de moléculas devido à sua membrana externa composta por fosfolípidos, polissacáridos e proteínas. Esta membrana, típica das bactérias Gram negativas, funciona como uma barreira eficaz contra os agentes antimicrobianos.

Algumas das proteínas presentes na membrana formam canais hidrofílicos que se chamam porinas, por onde é permitida a passagem de pequenas moléculas hidrofílicas, como é o caso de alguns antibióticos β -lactâmicos. Alterações funcionais nas porinas podem levar a uma diminuição, ou mesmo incapacidade, na entrada dos antibióticos, podendo dar origem a resistências. [10]

- Bombas de efluxo: estas bombas são constituídas por proteínas transmembranares utilizadas pela bactéria para expulsar metabolitos específicos e substâncias tóxicas para a célula, como antibióticos, para fora, podendo funcionar como mecanismo de resistência.

A resistência da bactéria *P. aeruginosa* aos carbapenemos é um exemplo deste tipo de resistência. Acontece pela sobre-expressão de um sistema de efluxo (MexAB-OprM) que expulsa os antibióticos carbapenemos para fora da célula.

- Inactivação enzimática do antibiótico: consiste na produção de enzimas capazes de hidrolisar o agente antimicrobiano e torná-lo inactivo. A produção de β -lactamases, capazes de inibir a acção dos antibióticos β -lactâmicos é, provavelmente, o exemplo mais comum deste tipo de resistência. [1]

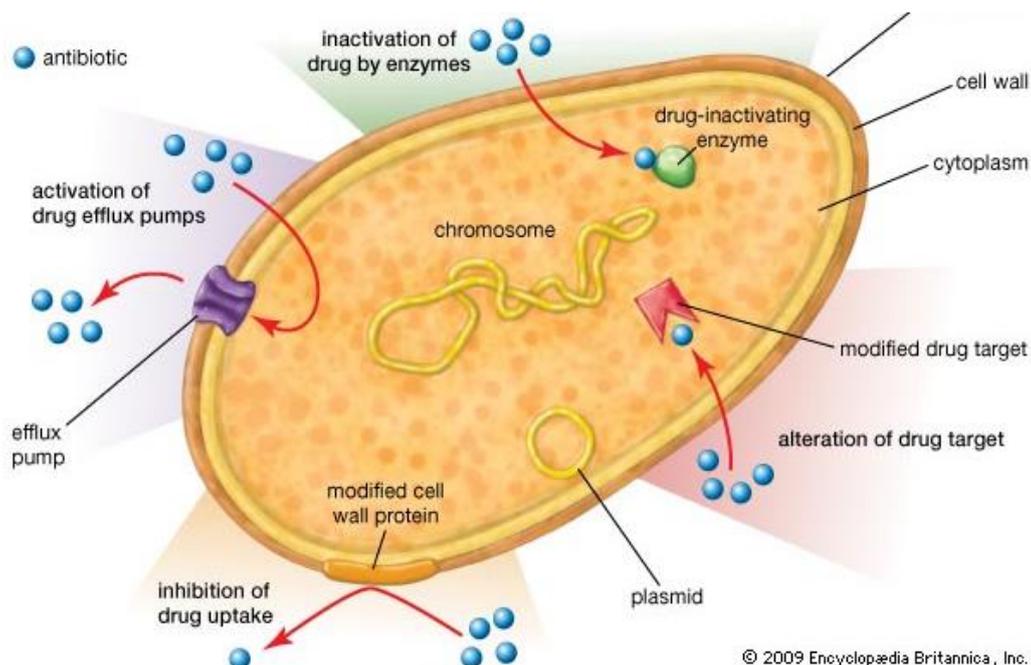


Figura 3 – Mecanismos de resistência a antibióticos (Adaptado de [11])

5. Carbapenemases

5.1 Classificação de Ambler

As β -lactamases são hidrolases que actuam na ligação amida do anel β -lactâmico dos antibióticos β -lactâmicos, tornando-os inativos antes de atingirem as PBPs. Estas enzimas são a principal causa de resistência aos antibióticos β -lactâmicos.

Deste vasto grupo de enzimas fazem parte as carbapenemases, enzimas capazes de hidrolisar, não só antibióticos carbapenemos, mas também outras classes de antibióticos β -lactâmicos como penicilinas, cefalosporinas e monobactams, sendo as que apresentam maior espectro de acção. [12]

A classificação das β -lactamases mais largamente utilizada é a classificação de Ambler, que divide as β -lactamases em quatro classes distintas, A, B, C e D com base nas sequências de aminoácidos destas enzimas.

Inicialmente Ambler distinguiu apenas duas classes de β -lactamases; classe A e a classe B, que incluem as β -lactamases que têm a serina como local activo (β -lactamases do tipo serina) e as metalo- β -lactamases que requerem um ião metálico bivalente, geralmente Zn^{2+} , para exercer a sua actividade, respectivamente.

A classe A é constituída por diferentes β -lactamases, as β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases que incluem três famílias principais de enzimas, as NMC/IMI e SME e KPC, mediadas por cromossomas e por plasmídeos, respectivamente. [12]. A SME foi descoberta em *Serratia marcescens* em Inglaterra, a IMI (imipenem-hydrolyzing β -lactamase) e a NMC (not metalloenzyme carbapenemase) foram descobertas em isolados clínicos de *Enterobacter cloacae*, nos Estados Unidos, França e Argentina. [12]

Posteriormente, surgiu a classe C, uma classe também composta por β -lactamases do tipo serina, mas onde as enzimas têm sequências de aminoácidos pouco similares às até então conhecidas. As enzimas pertencentes a esta classe são também conhecidas como “AmpC” β -lactamases ou cefalosporinas.

A classe D surgiu como outra classe de β -lactamases do tipo serina. As enzimas desta classe são conhecidas como “OXA β -lactamases” porque inicialmente tinham actividade sobre a oxaciclina, sendo consideradas oxaciclinaes. Actualmente esta classe conta com mais de 30 variantes destas enzimas. [13]

As três classes de β -lactamases do tipo serina, embora estruturalmente diferentes, têm semelhanças suficientes para perceber que são homólogas, isto é, descendem de um antepassado comum. [14]

5.2 Carbapenemases em Enterobactérias

Desde 2000, a disseminação de Enterobactérias que produzem β -lactamases de largo espectro (β -lactamases capazes de hidrolisar as penicilinas, as cefalosporinas de estreito e largo espectro e os monobactamos), tem sido reportada mundialmente, tornando obrigatório manter a eficácia dos carbapenemos. No entanto, também resistências a estes fármacos têm sido reportadas, como consequência da aquisição de genes de carbapenemases.

A primeira Enterobactérias produtora de carbapenemases foi identificada em 1993 a partir de um isolado clínico de *Enterobacter cloacae* [15] e desde essa altura que têm sido identificadas outras pertencentes às classes A, B e D de Ambler. [16]

Existem diversas e variadas carbapenemases disseminadas pelo Mundo, no entanto, as mais frequentes são a *Klebsiella pneumoniae* carbapenamase (KPC), metalo- β -lactamases e OXA-48 β -lactamases.

5.2.1 KPC

A KPC é a enzima mais frequente e clinicamente mais importante da classe A de Ambler. Esta enzima tem capacidade de hidrolisar uma grande variedade de antibióticos β -lactâmicos incluindo carbapenemos, cefalosporinas, penicilinas e o aztreonam, sendo inibidas pelo ácido clavulânico e pelo tazobactam. [12]

A primeira KPC foi identificada em 1996, na zona Leste dos Estados Unidos, [16] a partir de um isolado de *K. pneumoniae*. Posteriormente, surtos devido a bactérias produtoras destas enzimas, foram sendo identificados, predominantemente, na zona nordeste dos Estados Unidos, onde se encontra disseminada. Nos anos seguintes, verificou-se uma propagação global de produtores de KPC, sendo identificados em países como Porto Rico, Grécia, Colômbia, China e Israel (Figura 4), onde algumas instituições de saúde reportaram um aumento no número de Enterobactérias produtoras de KPC, desde 2006. [17]

Em Portugal, foram identificados isolados produtores destas enzimas a partir de 2009. [18]

Bactérias produtoras de KPC têm sido identificadas em isolados de *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* e outras espécies de Enterobactérias, colhidos de amostras de infecções nosocomiais, tendo sido a maioria identificada em *K. pneumoniae*.

O gene *bla*_{KPC}, presente no elemento genético transposição Tn4401, é responsável pela existência destas β -lactamases e tem capacidade de se inserir em diferentes plasmídeos de bactérias Gram negativas, facilitando a sua disseminação.

As bactérias produtoras de KPC são frequentemente multirresistentes, resistindo a todos os antibióticos β -lactâmicos. No que diz respeito aos carbapenemos, o grau de resistência varia, sendo o ertapenemo o carbapenemo que apresenta a actividade mais reduzida. As opções terapêuticas para infecções provocadas por organismos produtores de KPC são limitadas e as taxas de mortalidade associadas a estas infecções são altas, superiores a 50%. [16]

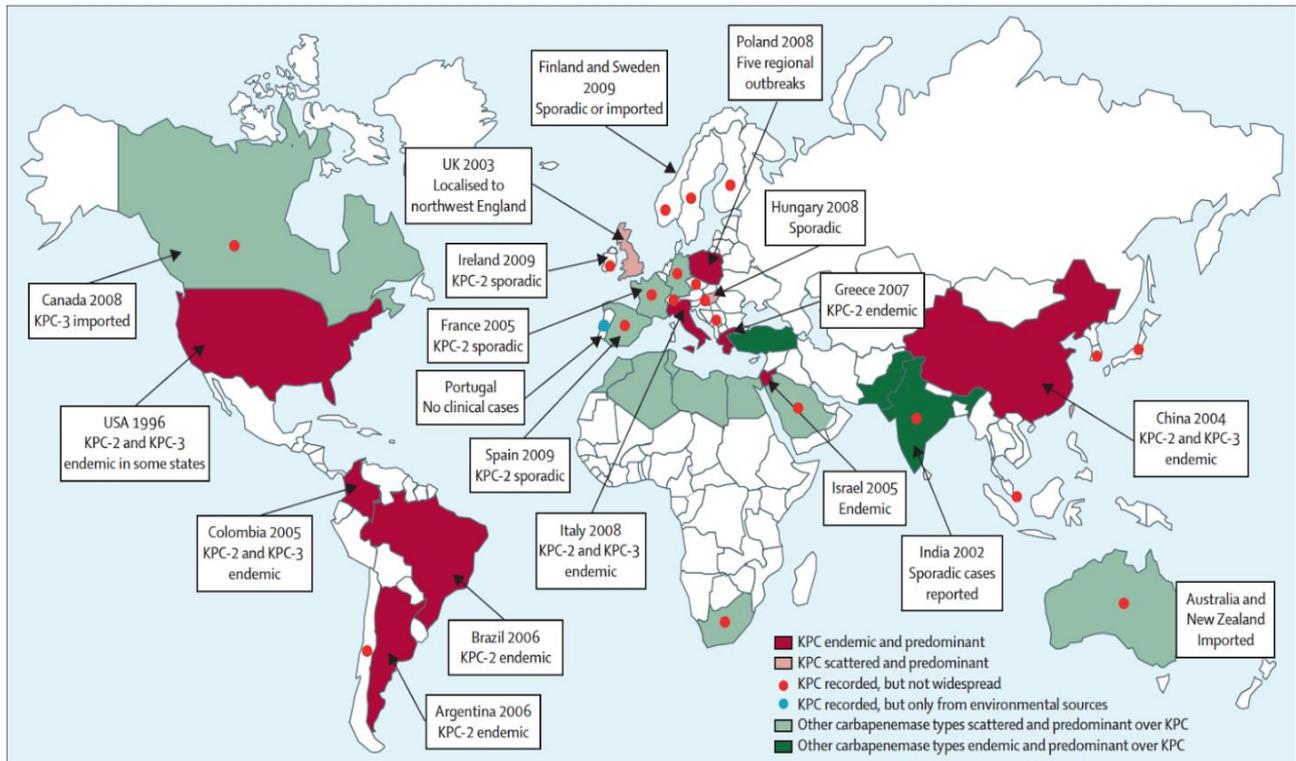


Figura 4 – Aspectos epidemiológicos de produtores de KPC por país de origem.
(Adaptado de [19])

5.2.2 Metallo- β -Lactamases

As Metallo- β -Lactamases (MBLs) pertencem à classe B de Ambler e utilizam um íão de zinco no sítio activo para exercer a sua acção. Este é o grupo de β -lactamases que surge com maior frequência e é constituído por diferentes grupos, pertencendo a maior parte, ao grupo das “**V**erona **I**ntegron-encoded **M**etallo- β -lactamase” (VIM) e ao grupo das imipenases (IMP). Mais recentemente, surgiu um novo tipo destas enzimas, as **N**ew **D**elhi **M**etallo- β -lactamases (NDM). Frequentemente, os genes que codificam as MBLs estão inseridos em integrões, um elemento genético móvel, factor que facilita a sua propagação.

A primeira MBL foi descoberta em *Serratia marcescens*, em 1991, no Japão e era do tipo IMP, no entanto, a partir dessa altura, estas enzimas passaram a ser descritas por todo o Mundo, [16] estando presentes em diferentes bactérias clinicamente importantes, como é o caso das Enterobactérias.

As enzimas VIM e IMP são endémicas em alguns países como Grécia, Taiwan e Japão mas surtos destas β -lactamases têm sido reportados em muitos outros países. (Figura 5)

As MBLs têm capacidade de hidrolisar todos os antibióticos β -lactâmicos, incluindo as cefalosporinas de largo espectro e os carbapenemos. A sua actividade não é inibida pelos inibidores das β -lactamases, como o ácido clavulânico, mas sim por quelantes de iões metálicos, como é o caso do EDTA.

As bactérias produtoras destas enzimas representam uma preocupação para a sociedade por serem multirresistentes, uma vez que têm capacidade de hidrolisar grande parte dos antibióticos disponíveis e devido à sua taxa de mortalidade, que varia entre 18% e 67%. [16]

A primeira NDM foi descoberta em 2009 na Suécia, num isolado de *K. pneumoniae* de um doente indiano hospitalizado anteriormente em Nova Deli. [17] Actualmente, as Enterobactérias produtoras destas enzimas são um dos principais focos de atenção da população mundial, uma vez que, desde Agosto de 2010, têm sido identificados produtores destas enzimas em todos os continentes.

O gene *bla_{NDM}* é responsável pela existência destas enzimas de resistência e está presente em plasmídeos, permitindo a sua rápida disseminação, através de transferência horizontal de genes. Este gene encontra-se maioritariamente, em *K. pneumoniae* e *E. coli*, estando, numa extensão menor, presente noutras bactérias da família *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* e *Moraxellaceae*.

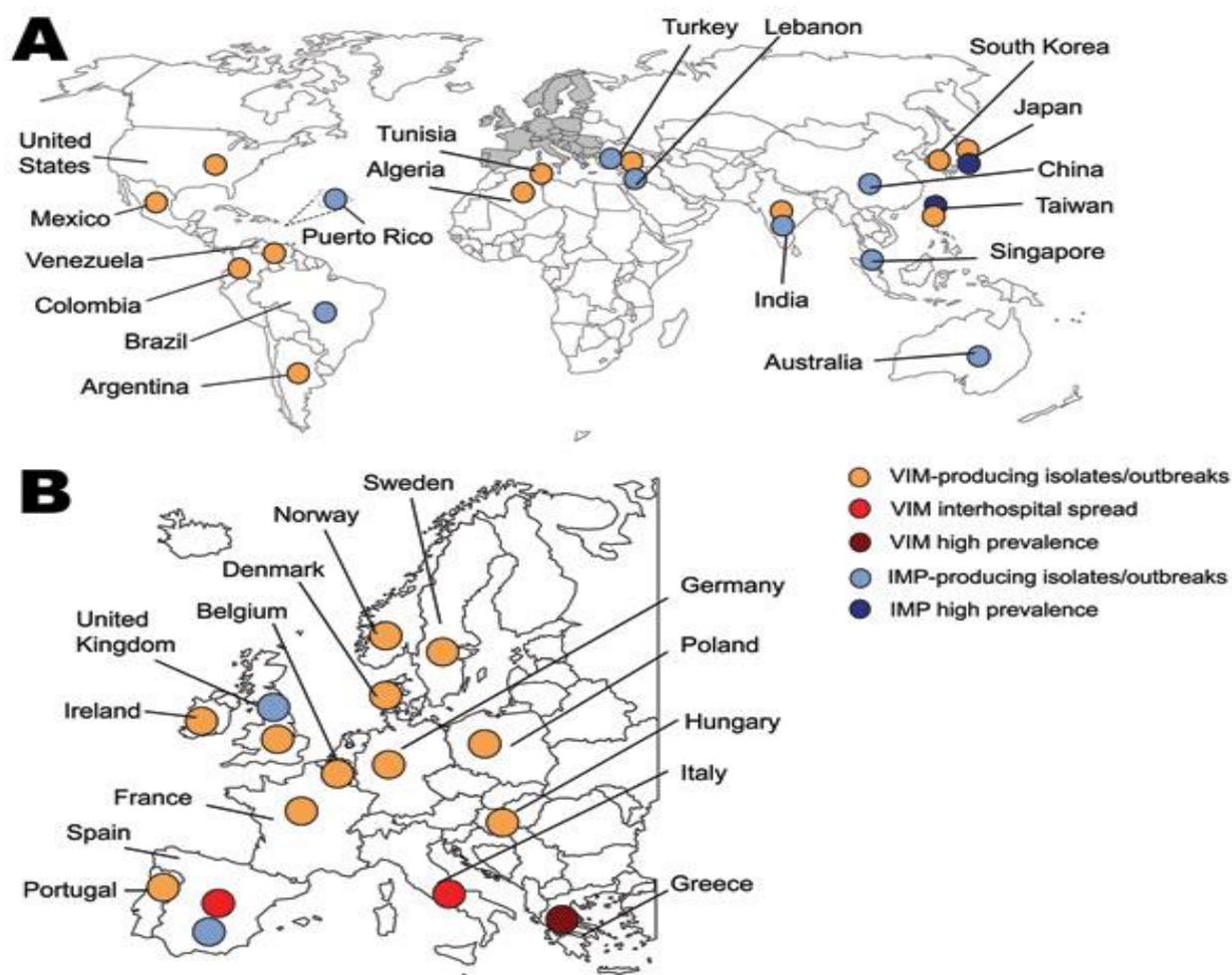


Figura 5 – Distribuição geográfica de produtores de VIM e IMP, mundialmente (A) e na Europa (B). (Adaptado de [16])

5.2.3 OXA-48

As carbapenemases OXA-48 pertencem à classe D de Ambler e são cada vez mais comuns em Enterobactérias. Estas enzimas são capazes de hidrolisar penicilinas, carbapenemos e, em menor extensão, cefalosporinas de largo espectro, não sendo susceptíveis aos inibidores das β -lactamases.

A primeira OXA-48 foi identificada num isolado de *K. pneumoniae*, em 2001, em Istambul, na Turquia. A bactéria produtora desta enzima era multirresistente e não apresentava susceptibilidade a nenhum antibiótico β -lactâmico, incluindo cefalosporinas de largo espectro, monobactâmicos e carbapenemos. [20] Desde essa altura têm sido

identificados outros produtores desta enzima na Turquia que são fontes de surtos nosocomiais. [16]

Mais recentemente, o gene responsável por esta enzima, o *bla*_{OXA-48}, tem sido identificado noutros países, principalmente, em isolados de *K. pneumoniae* e *E. coli*. Os países do Médio Oriente e do Norte de África, como Marrocos, Tunísia, Líbia e Egipto, passaram a ser considerados importantes reservatórios de bactérias produtoras de OXA-48. Também no Senegal e na África do Sul foram identificados produtores destas enzimas.

Ao longo dos anos tem aumentado o número de bactérias produtoras de OXA-48 em países como França, Alemanha, Espanha, Holanda e Inglaterra, devido ao número de transferências de doentes hospitalizados, provenientes de áreas endémicas. (Figura 6)

As bactérias produtoras de OXA-48 são, os produtores de carbapenemases mais difíceis de identificar, sendo por isso, a sua verdadeira prevalência subestimada. A taxa de mortalidade associada a infecções provocadas por bactérias produtoras desta enzima é também desconhecida. [16]

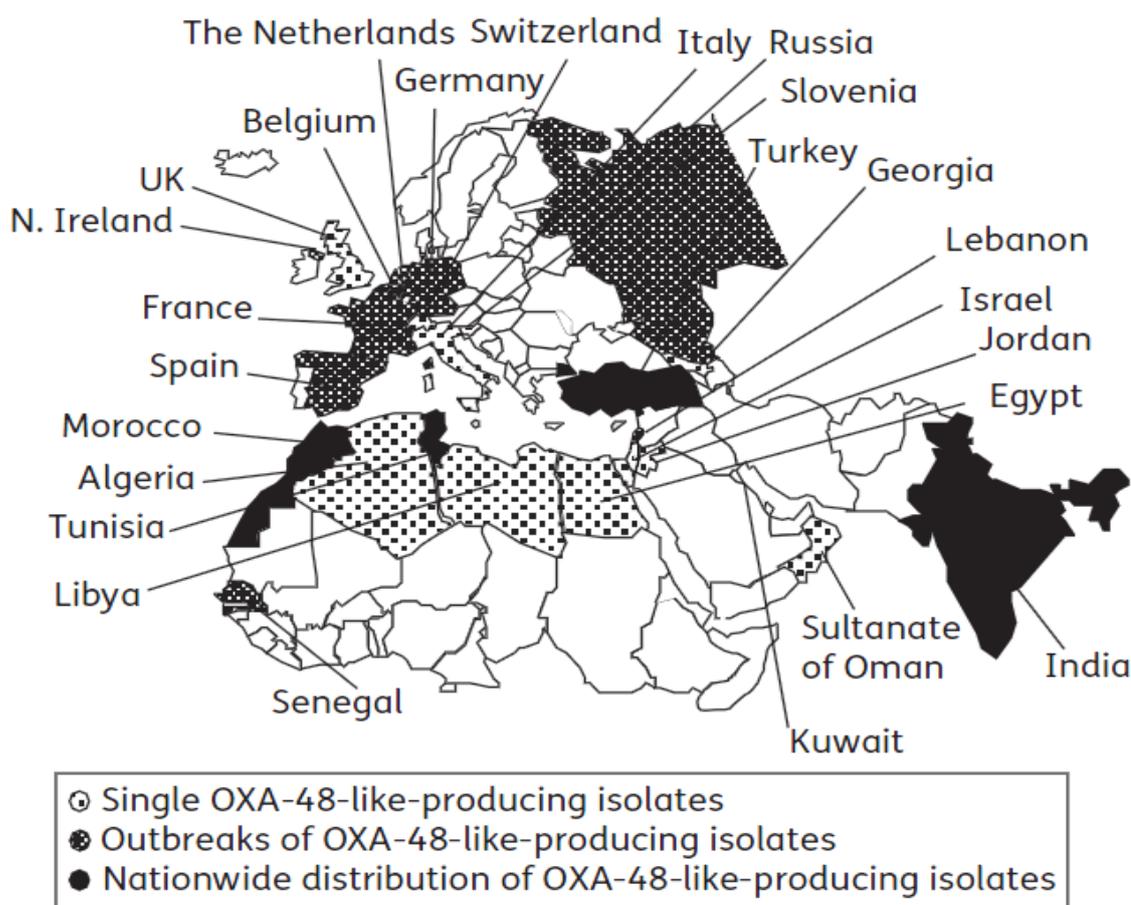


Figura 6 – Distribuição geográfica de Enterobactérias produtoras de OXA-48

(Adaptado de [21])

6. Impacto na saúde pública

A OMS considera a resistência bacteriana como um enorme problema de saúde pública do século XXI e, em Abril de 2014, fez o seu primeiro relatório sobre a resistência global aos antibióticos, abrangendo dados de 114 países. Este relatório revelou que a ameaça da resistência aos antibióticos já não é só uma predição para o futuro, mas sim um problema que está a acontecer, afectando qualquer pessoa, de qualquer idade, em qualquer país.[22]

O Director geral para a Segurança na Saúde da OMS, Dr.Keiji Fukuda, defende que sem acções coordenadas, urgentes, de todas as pessoas interessadas, o Mundo está a dirigir-se para uma era pós-antibióticos, onde infecções comuns e doenças leves, que durante décadas eram tratáveis, vão matar de novo. Realça ainda que a eficácia dos antibióticos tem sido um dos factores que nos permite viver mais, com mais saúde e beneficiar de uma medicina moderna e que se não mudarmos as atitudes para esforços que previnam infecções e que mudem a forma como são produzidos, prescritos e utilizados os antibióticos, o Mundo vai perder a sua saúde pública e as consequências serão devastadoras. [22]

Este relatório da OMS diz-nos que as resistências estão a afectar diferentes agentes infecciosos, no entanto, foca-se apenas em sete espécies de bactérias diferentes, responsáveis por doenças sérias mas comuns, como septicemia, diarreia, pneumonia, infecções do tracto urinário e gonorreia.

Os resultados apresentados neste relatório são motivo para grande preocupação, uma vez que, estão documentadas resistências a antibióticos, especialmente a antibióticos de última linha, como é o caso dos carbapenemos, em todas as regiões do Mundo.

Uma das principais conclusões deste relatório diz respeito a resistências ao tratamento de última linha de infecções provocadas por *K. pneumoniae*. A resistência destas bactérias aos carbapenemos propagou-se por todas as regiões do mundo e em alguns países, devido a esta resistência, os carbapenemos não são eficazes em mais de metade da população tratada para estas infecções, pondo a vida em perigo.

No caso de Portugal, embora ainda não sejam muitas as estirpes resistentes a antibióticos de última linha, onde se incluem os carbapenemos, o problema já é uma realidade.

Uma vez que este é um problema que afecta a saúde pública e que precisa de ser travado, ou, pelo menos, reduzido, a DGS já publicou duas normas que dizem respeito a este tema. Uma das normas diz respeito à vigilância epidemiológica das resistências aos

antimicrobianos e tem diversos objectivos, entre os quais a detecção imediata de surtos de estirpes resistentes com possibilidade de elaboração de um plano de resposta eficaz. [2]

A outra norma publicada pela DGS refere-se às Enterobactérias produtoras da carbapenemase NDM e especifica um plano que deve ser cumprido quando são detectadas estirpes resistentes e produtoras destas enzimas. Esta norma diz-nos que, em Portugal, a resistência aos carbapenemos é, em estirpes invasivas de *K. pneumoniae*, inferior a 1% e, que em *P. aeruginosa*, atinge os 17,7%. [23]

7. Conclusão

A disseminação mundial de Enterobactérias produtoras de carbapenemases, representa uma forte ameaça à saúde pública e tem que ser travada, adoptando medidas que permitam identificar e controlar estas infecções, em estabelecimentos de saúde.

Os carbapenemos são utilizados como terapêutica de última linha para o tratamento de infecções por Enterobactérias multiresistentes e estão a tornar-se ineficazes devido ao aumento do número de espécies produtoras de carbapenemases, o que origina um menor controlo sobre estas infecções e um aumento da taxa mortalidade associada a estas infecções.

A falta de opções terapêuticas para o tratamento de infecções provocadas por Enterobactérias produtoras de carbapenemases deve ser considerada uma prioridade de investigação e novos tratamentos deveriam surgir. No entanto, uma vez que o processo de aparecimento de novos fármacos é demorado, medidas de controlo e prevenção de infecções têm que ser adoptadas. Estas medidas podem passar por medidas básicas de higiene como lavar as mãos com regularidade e não partilhar águas de banhos, ou por medidas de sensibilização que alertem as populações para a utilização de antibióticos apenas quando prescritos pelos médicos e para a não partilha de antibióticos.

O primeiro passo para controlar estas infecções pode passar pela identificação precisa, das Enterobactérias produtoras de carbapenemases em indivíduos colonizados, de forma a prevenir a sua progressão para formas de infecção grave, sem tratamento. Uma grande preocupação deste tema é a rápida disseminação destes microrganismos pelas populações, com esgotamento das opções terapêuticas disponíveis. [24]

Concluindo, se os carbapenemos são a última linha de tratamento para infecções causadas por Enterobactérias produtoras de carbapenemases e estes já são ineficazes, que outras opções de tratamento existem? Este é um problema grave que deve ser travado, para evitar o aumento do número de mortes por estas infecções.

Bibliografia

- [1] CHROMA, M., KOLA, M. - **Genetic Methods for Detection of Antibiotic resistance: Focus on Extended-spectrum β -Lactamases.** Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 4 (2010) 289-296.
- [2] Norma nº004/2013 - **Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos,** DGS. (2013)
- [3] MURRAY P. R. - **Microbiologia Médica.** 6ª Edição, 2006.
- [4] JOHNSON, J. W., FISHER, J. F., MOBASHERY, S. - **Bacterial cell-wall recycling.** Ann N Y Acad Sc. 1277 (2014) 57-75.
- [5] SCHCFFERS, D.J., PINHO, M. - **Bacterial cell-wall sythesis: New insights from localization studies.** Microbiology and molecular Biology Reviews. 69 (2005) 586-607.
- [6] **Antibiotics: Antibacterial Agents.** 2014 [Acedido em 10 Junho 2014]. Disponível na internet: <http://users.rcn.com/>.
- [7] NAKANO, V., NISHIYAMA, S.A, CAMPOS, M.J. - **β -lactamases: Sua importância na resistência bacteriana.** [Acedido em 10 Maio 2014] Disponível na internet: <http://www.icb.usp.br>.
- [8] DRAWZ, S.M, BONOMO, R.A. - **Three Decades of β -Lactamase Inhibitors.** Clinical Microbiology Reviews. 23 (2010) 160-201.
- [9] PAPP-WALLACE K.M., ENDIMIANI A, TARACILA M.A., BONOMO R.A. - **Carbapenems: Past, Present, and Future.** Antimicrobial agents and Chemotherapy. 55 (2011) 4943-4960.
- [10] LI, H., LUO, Y.F., WILLIAMS, B.J., BLACKWELL, T.S., XIE, C.M. - **Structure and function oh OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: From antibiotic resistance to novel therapies.** Int J Med Microbiol. 302 (2012) 63-68.
- [11] **Antibiotic resistance: mechanisms of antibiotic resistance.** 2009 [Acedido em 2 Junho 2014]. Disponível na internet: <http://www.britannica.com>.
- [12] QUEENAN, A.M., BUSH, K. - **Carbapenemases: The Versatile β -Lactamases.** Clinical Microbiology Reviews. 20 (2007) 440-458.
- [13] POIREL, L., GIRLICH, D., NAAS, T., NORDEMANN, P. - **OXA-28, an extended-**

- spectrum variant of **OXA-10 β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its plasmid-and integron-located gene. Antimicrob agents chemother. 45 (2001) 447-453.**
- [14] HALL B.G, BARLOW, M. - **Revised Ambler classification of β -lactamases.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 55 (2005) 1050-1051.
- [15] NAAS, T., NORDMANN, P. - **Analysis of a carbapenem-hydrolysing class A β -lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein.** Proc Natl Acad Sci, 91 (1994) 7693-7697.
- [16] NORDMANN, P., NAAS, Poirel, L. - **Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.** Emerging Infectious Diseases.17 (2011) 1791-1798.
- [17] GUPTA, N., LIMBAGO, B.M., PATEL, J.B., KALLEN, A.J.- **Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and Prevention.** Helthecare Epidemiology. 53 (2011). 60-67
- [18] CALISTO, F., CANEIRAS, C., CERQUEIRA, S., LITO, S., MELO-CRISTINO, J., DUARTE, A. - **Carbapenemase KPC-3 em estirpes de *Klebsiella pneumoniae* num unidade hospitalar.** Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas, 8 (2012) 127-134
- [19] **Controversies in hospital infection prevention.** 2013. [Acedido em 2 Junho 2014] Disponível na internet: <http://haicontroversies.blogspot.pt..>
- [20] POIREL, L., POTRON, A., NORDMANN, P. - **OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 67 (2012)1597-1606
- [21] WALTHER-RASMUSSEN, J., HOIBY, N. - **OXA-type carbapenemases.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 57 (2006) 373-383.
- [22] WHO - **WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health.** 2014. [Acedido em 2014 Junho 10]. Disponível na internet: www.who.int.
- [23] Norma nº 006/2010 - **Enterobacteriaceae produtoras das carbapenemases New Delhi metalo - β -lactamases.** DGS (2010).
- [24] NORDMANN P., COUARD, J. P., SANSOT D., POIREL L. - **Emergence of an autochthonous and community-acquired NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Europe.** Clean Infect dis. 54 (2012) 150-151.

- [25] DAVIES J., DAVIES, D. - **Origins and Evolution of Antibiotic Resistance**. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 3 (2010) 417-433.
- [26] ARNOLD, R. S., THOM, K.A., SHARMA, S., PHILLIPS, M., JOHNSON, J.K., MORGAN, D. J. - **Emergence of Klebsiella pneumoniae Carbapenemase (KPC)-Producing Bacteria**. South Med J. 104 (2011) 40-45.
- [27] NAAS, T., CUZON, G., VILLEGAS, M-V., LARTIGUE, M. F., QUINN, J. P., NORDMANN, P. - **Genetic Structures at the Origin of Acquisition of the B-Lactamase *bla*_{KPC} gene** . Antimicrobial agents and Chemotherapy. 52 (2008) 1257-1263.
- [28] BAUTISTA, E., - **Bacilos entéricos Gram negativos**. 2013. [Acedido em 25 Abril 2014] Disponível na internet: <http://microbiologia2a.blogspot.pt..>