

Antimicrobianos: Resistência Bacteriana

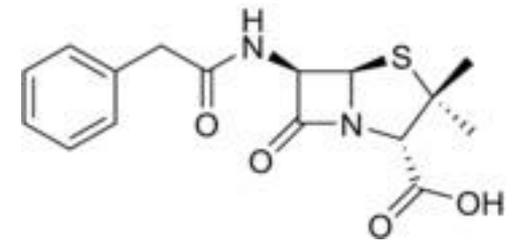
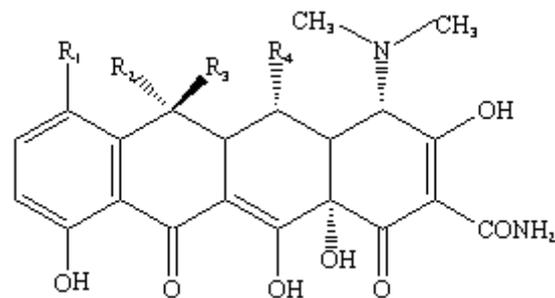
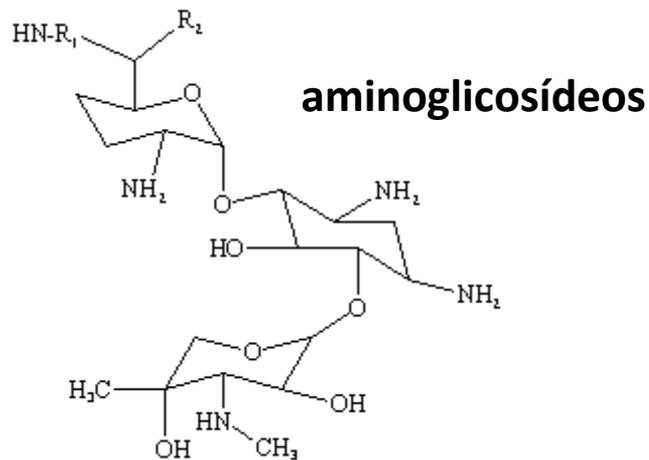
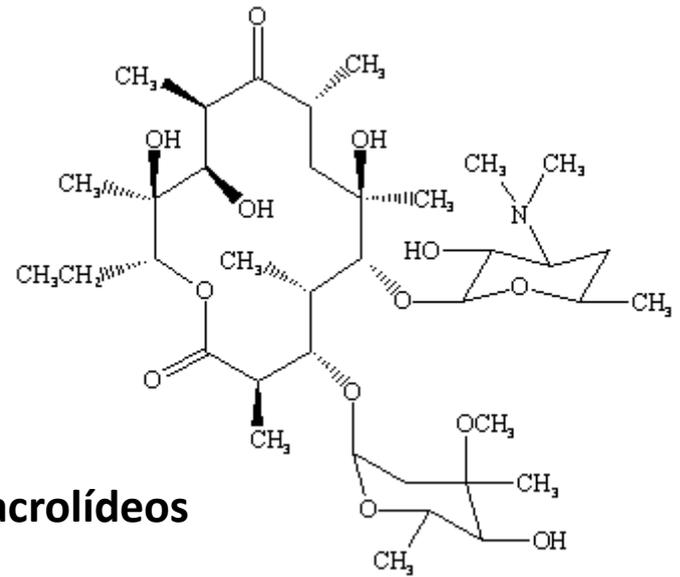
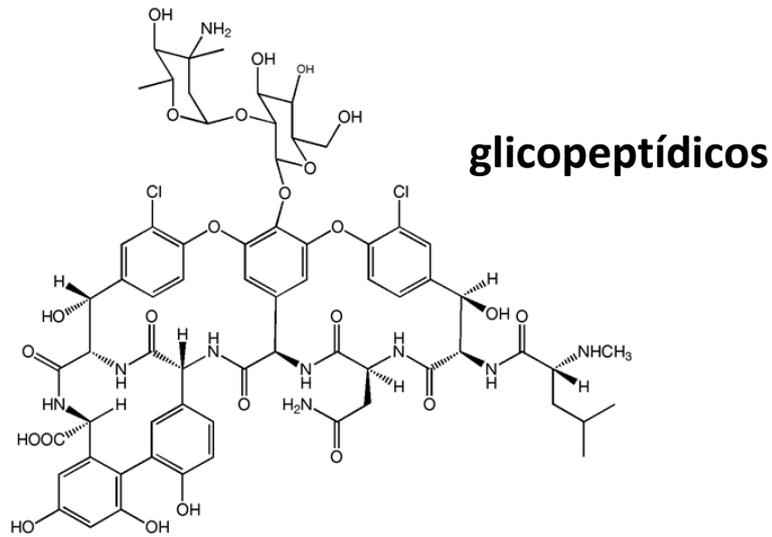
Prof. Marcio Dias



Resistência

- Capacidade adquirida de resistir aos efeitos de um agente quimioterápico, normalmente que um organismo é sensível.
- Como eles adquiriram:
 - Desenvolver mecanismos para se proteger do próprio antibiótico que ele sintetizou
 - Adquirir por transferência horizontal de outro organismo

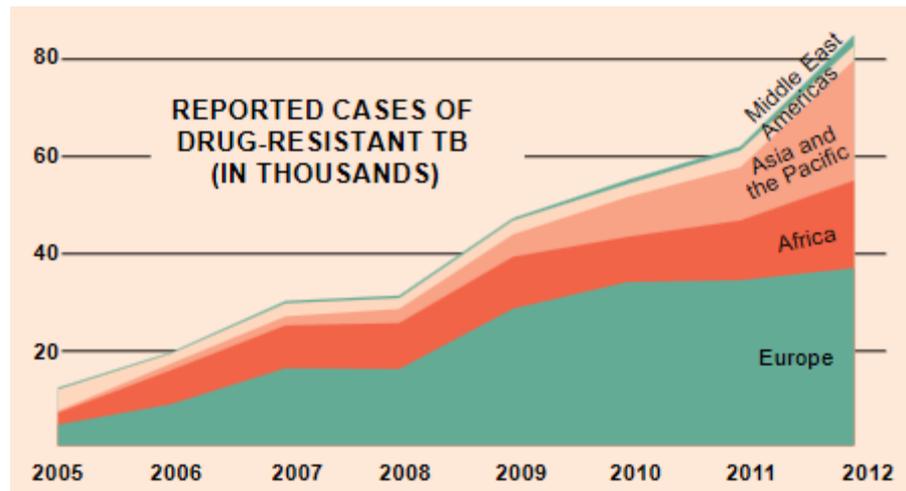
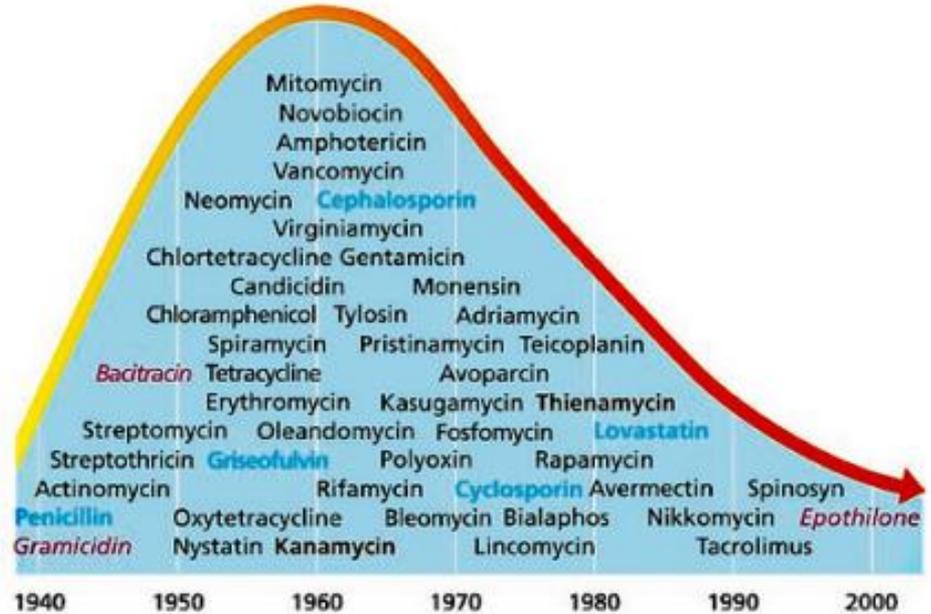
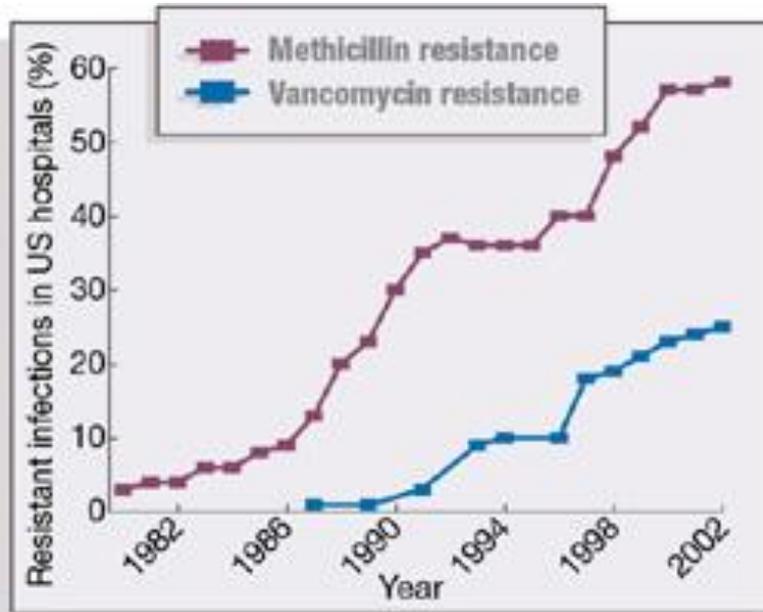
Relembrando antibióticos...



tetraciclina

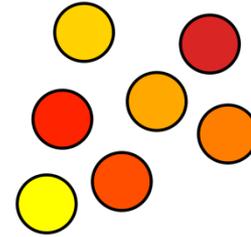
Beta-lactâmicos

Como a resistência a antimicrobianos pode surgir

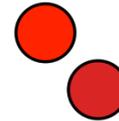


Seleção e mutação

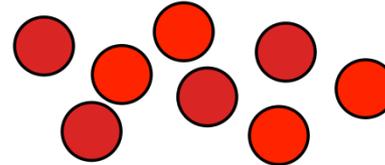
Before selection



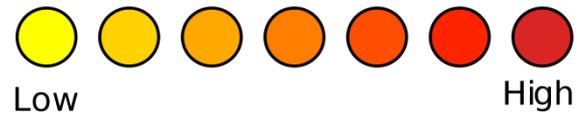
After selection



Final population



Resistance level

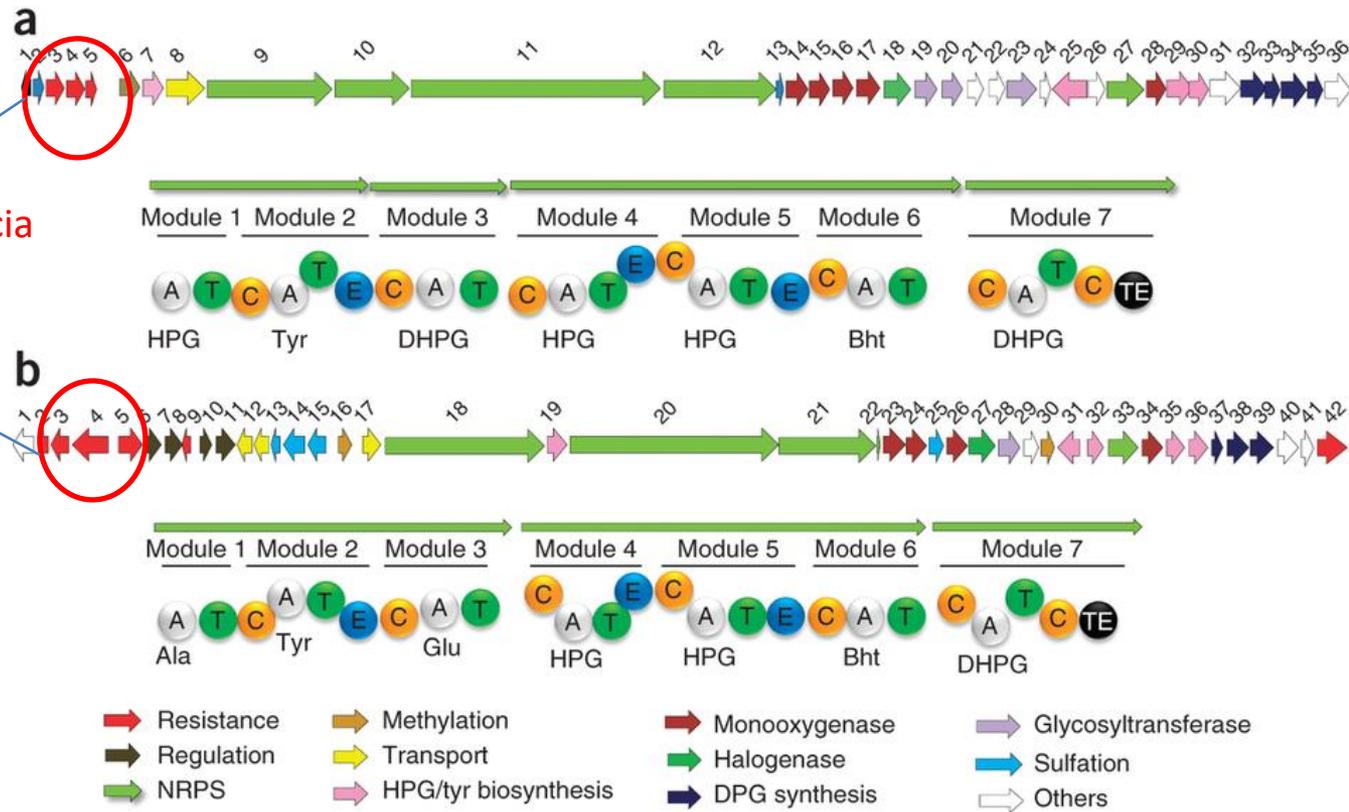




Streptomyces sp.



Transferência
gênica
horizontal

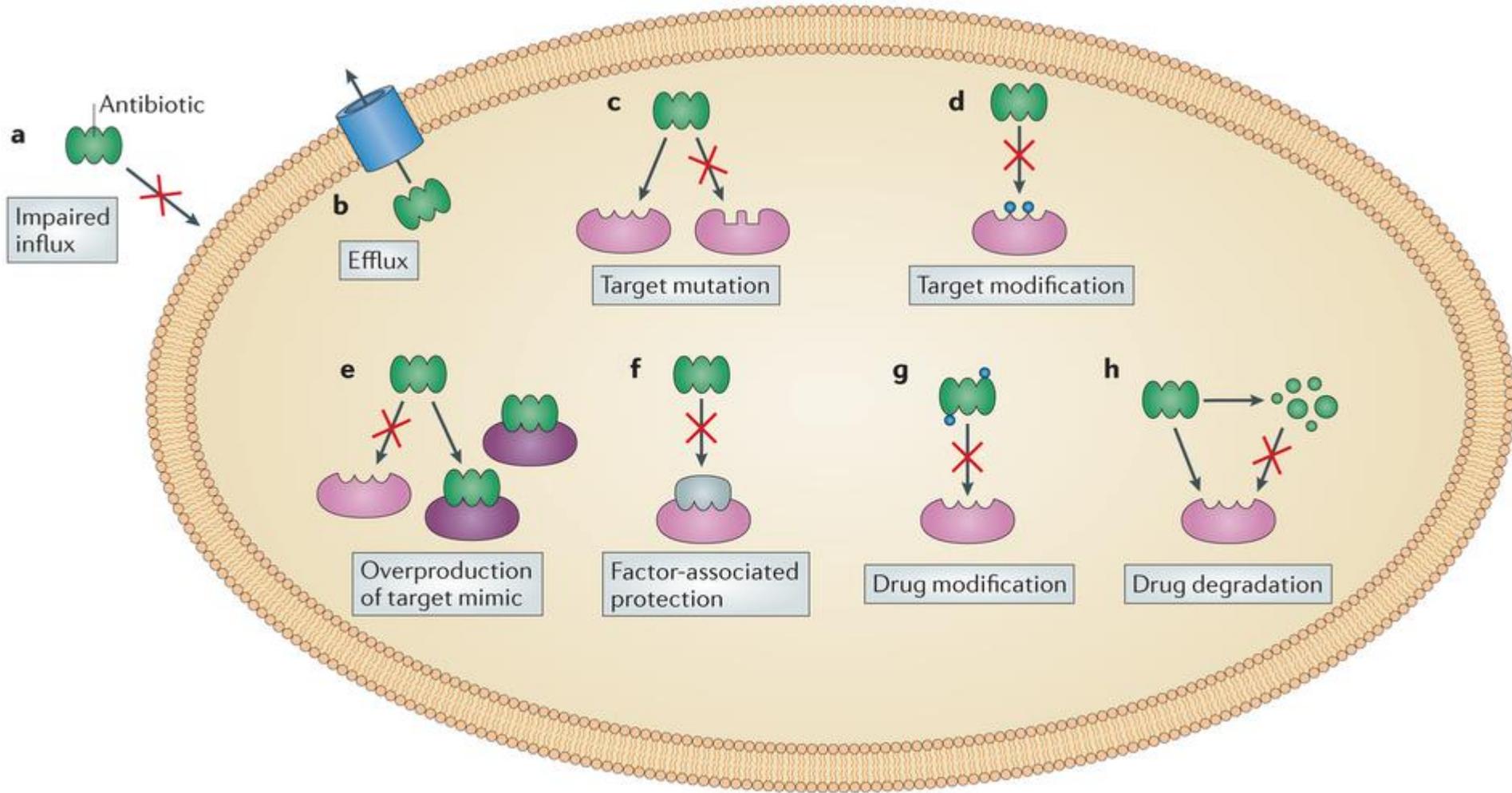


Mecanismos de Resistência

Existem 7 Mecanismos Principais de Resistências

1. Naturalmente resistentes
2. Antibiótico é Impermeável
3. Modifica o Antibiótico para uma forma Inativa
4. Modificar o alvo do antibiótico
5. O organismo pode desenvolver uma via com resistência bioquímica
6. O organismo pode bombear o antimicrobiano para fora da célula
7. Alteração na expressão do alvo do antimicrobiano

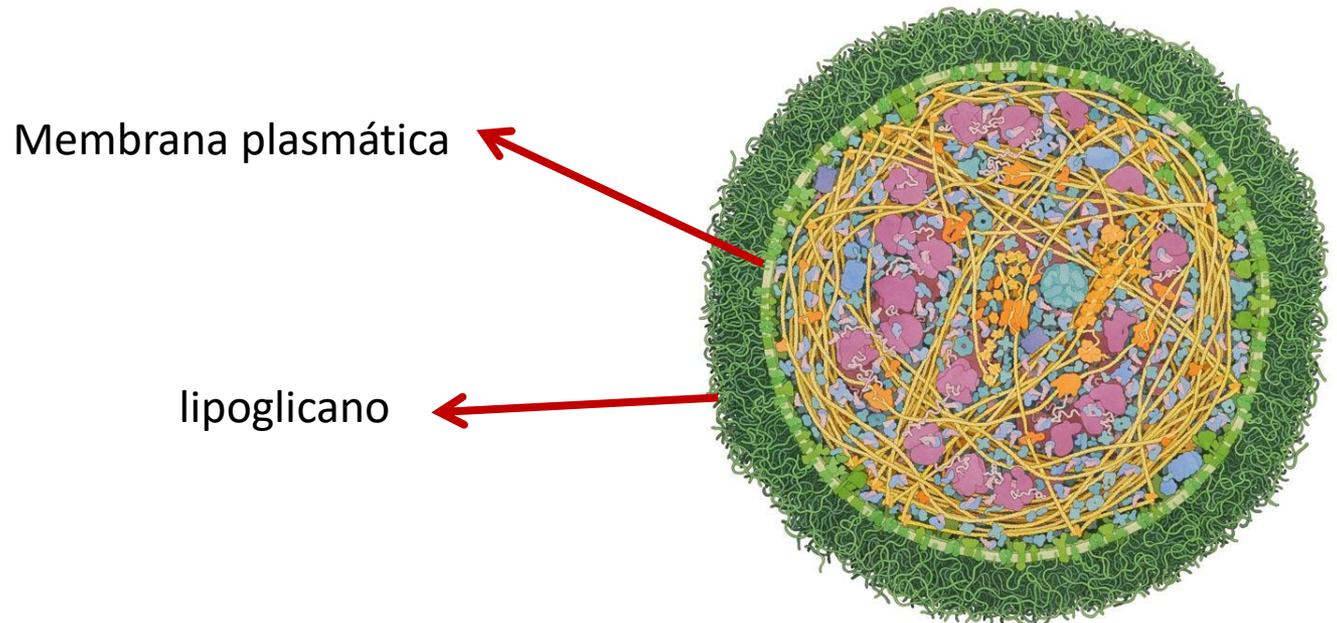
Mecanismos de Resistência



Mecanismos de Resistência

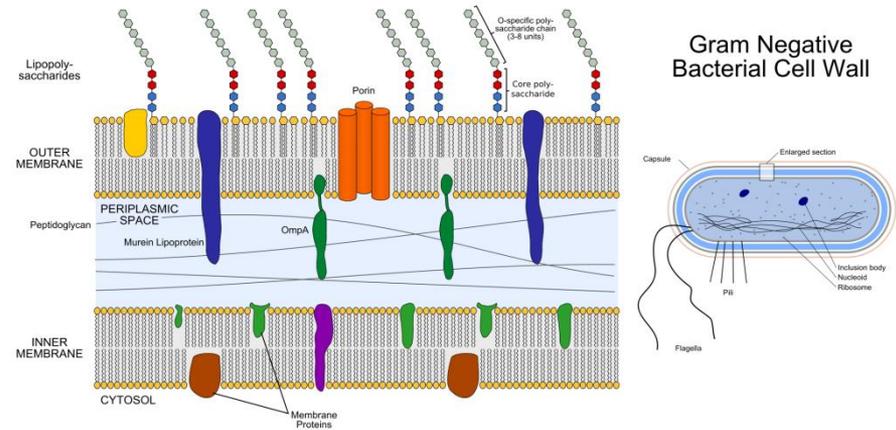
1. Naturalmente resistentes

- Organismos desprovidos da estrutura inibida pelo antibiótico
- Micoplasmas (desprovidos de parede celular) – resistente a penicilina

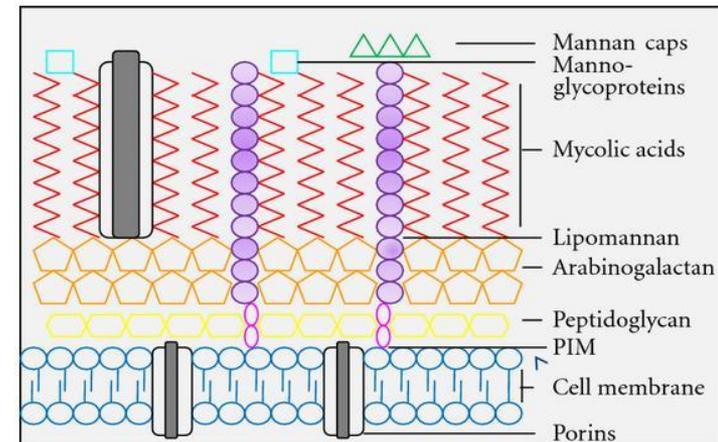


2 . Alteração na permeabilidade de membrana

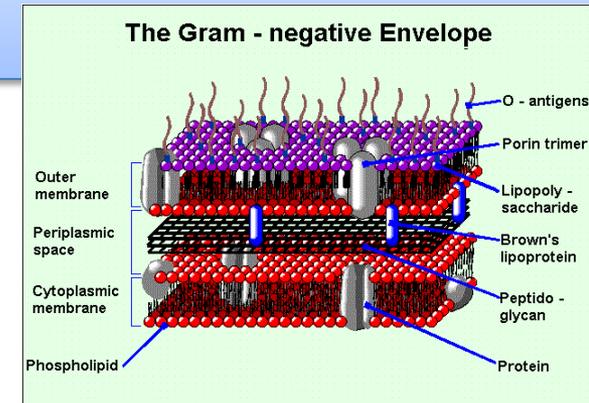
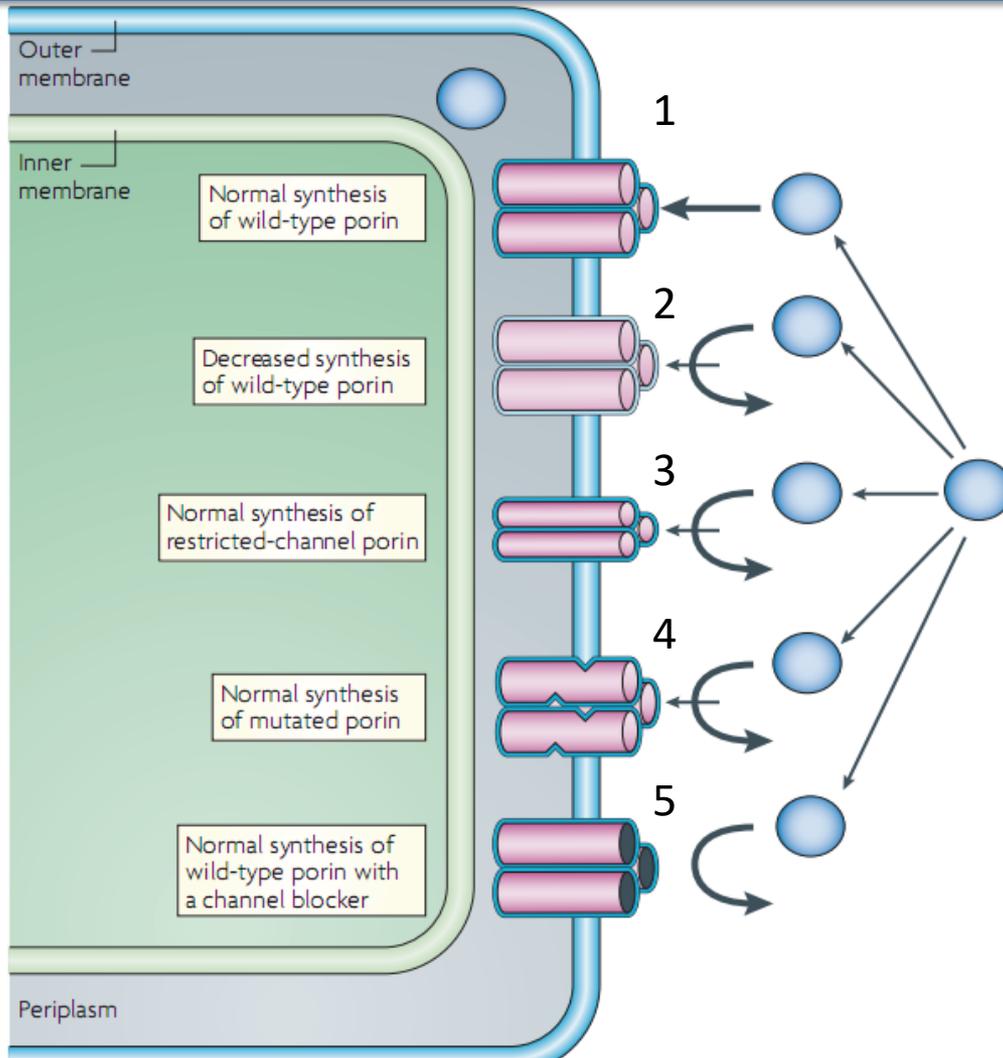
- Bactérias Gram negativas
- Impermeáveis a penicilina G



- *Mycobacterium tuberculosis*
- Presença de parede composta por ácidos micólicos



2 . Alteração na permeabilidade de membrana



Diminuição da expressão de OmpF leva a resistência a:

quinolonas
tetraciclina
cloranfenicol
 β -lactâmicos

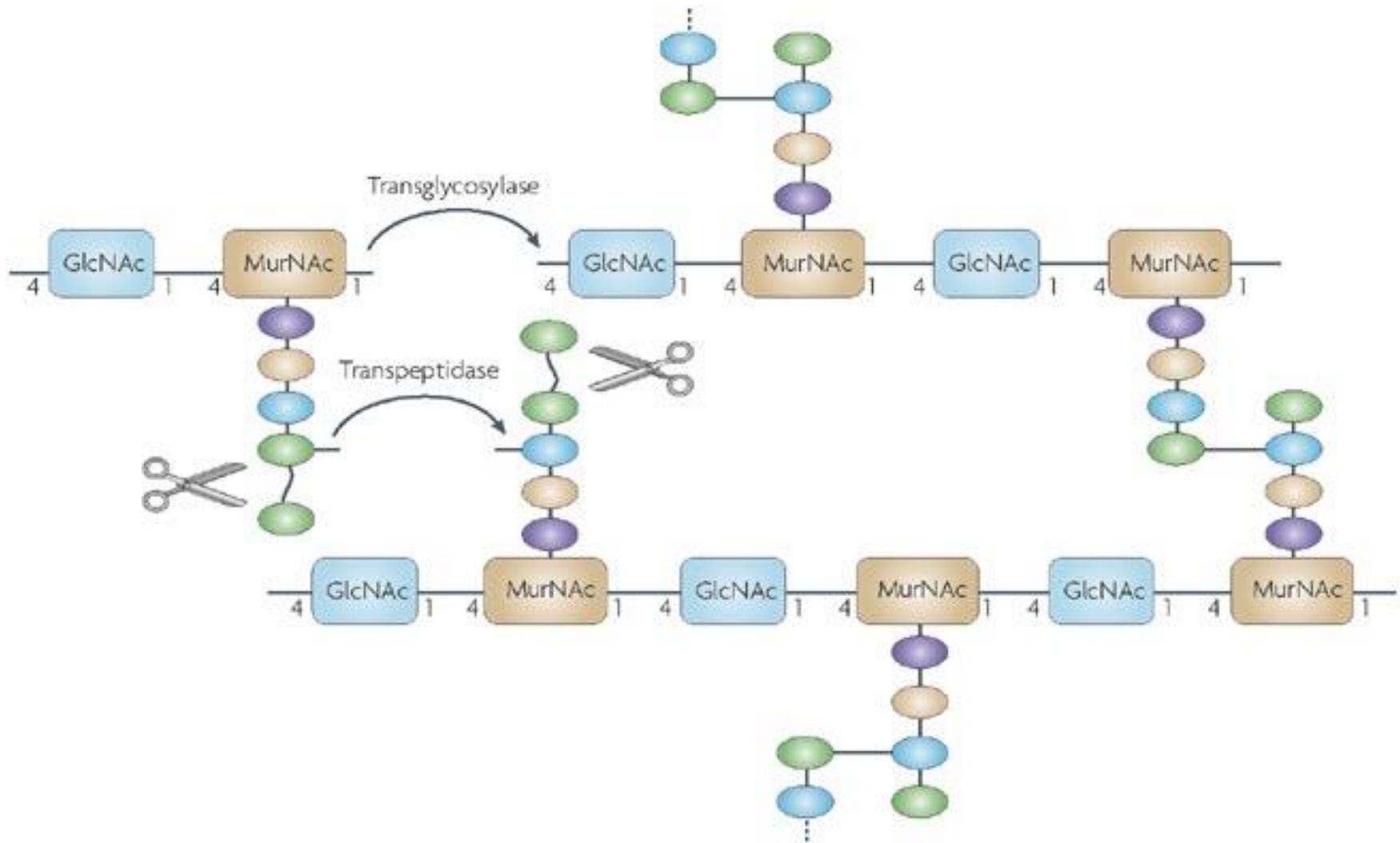
OmpF – proteína de transporte passivo localizado na membrana externa
Transporte de pequenas moléculas (600-700 Da)

Mecanismos de Resistência

3. Modifica o Antibiótico para uma forma Inativa

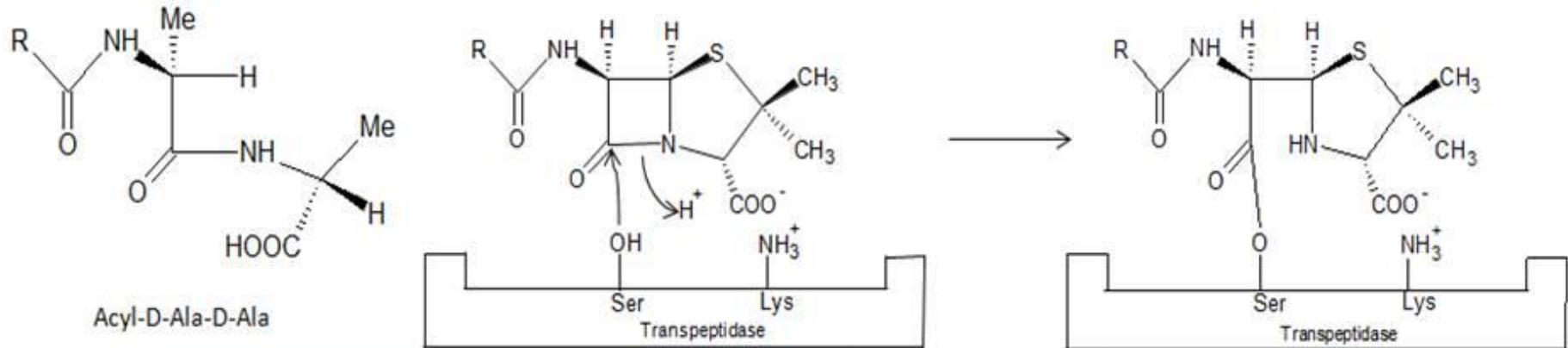
- Vários estafilococos contêm β -lactamases, enzima que cliva o anel β -lactâmico da maioria das penicilinas

Mecanismos de Resistência



Mecanismos de Resistência

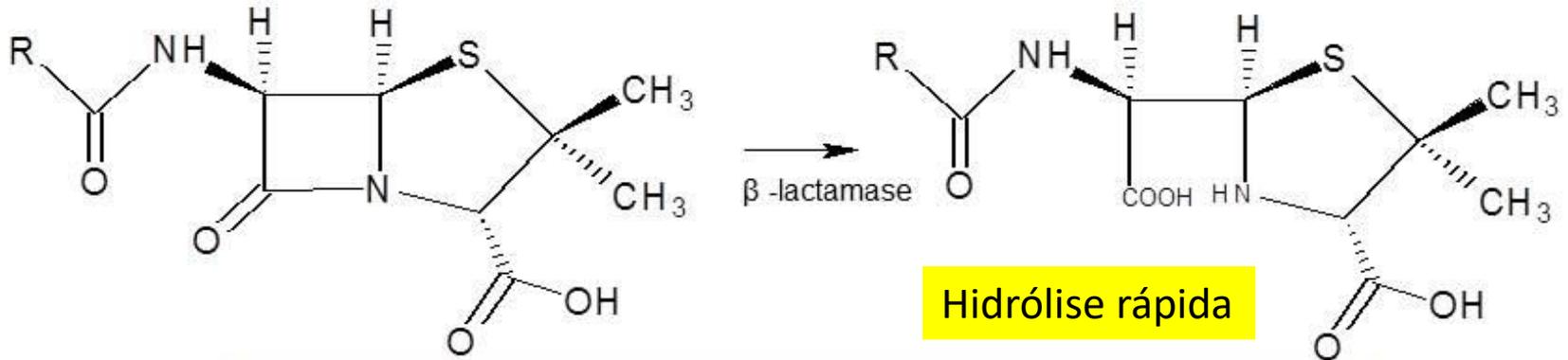
Mechanism of Action of Penicillin



- Inhibit formation of peptidoglycan cross links in the bacterial cell wall.
- β -lactam moiety mimics D-Ala-D-Ala moiety, binds to transpeptidase that links peptidoglycan molecule in bacteria.

- Peptidoglycan unable to link with each other, peptidoglycan cross link is inhibited, cell wall weakens, cell cytolyses when bacteria divides.

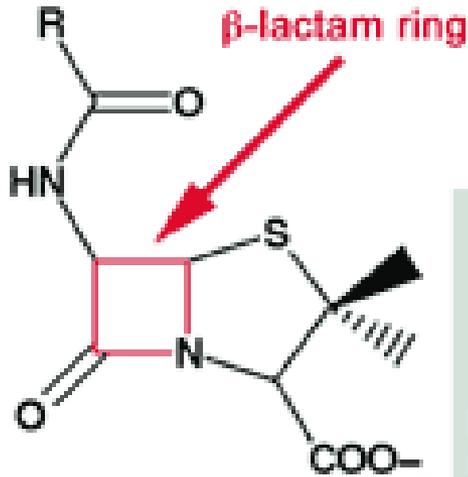
Mechanism of Resistance of Penicillin



Bacteria releases β -lactamase, which is similar in structure to transpeptidase, has serine residue in active site, it opens up β -lactam ring of penicillin to form ester link to the structure. Penicillin is inactivated before reaches cell membrane.

*This Mechanism of Action and Resistance also applies to Cephalosporin

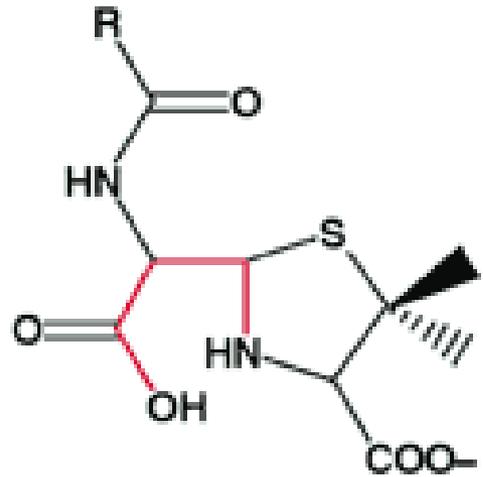
Penicillin Resistance



Penicillin

β -lactamase

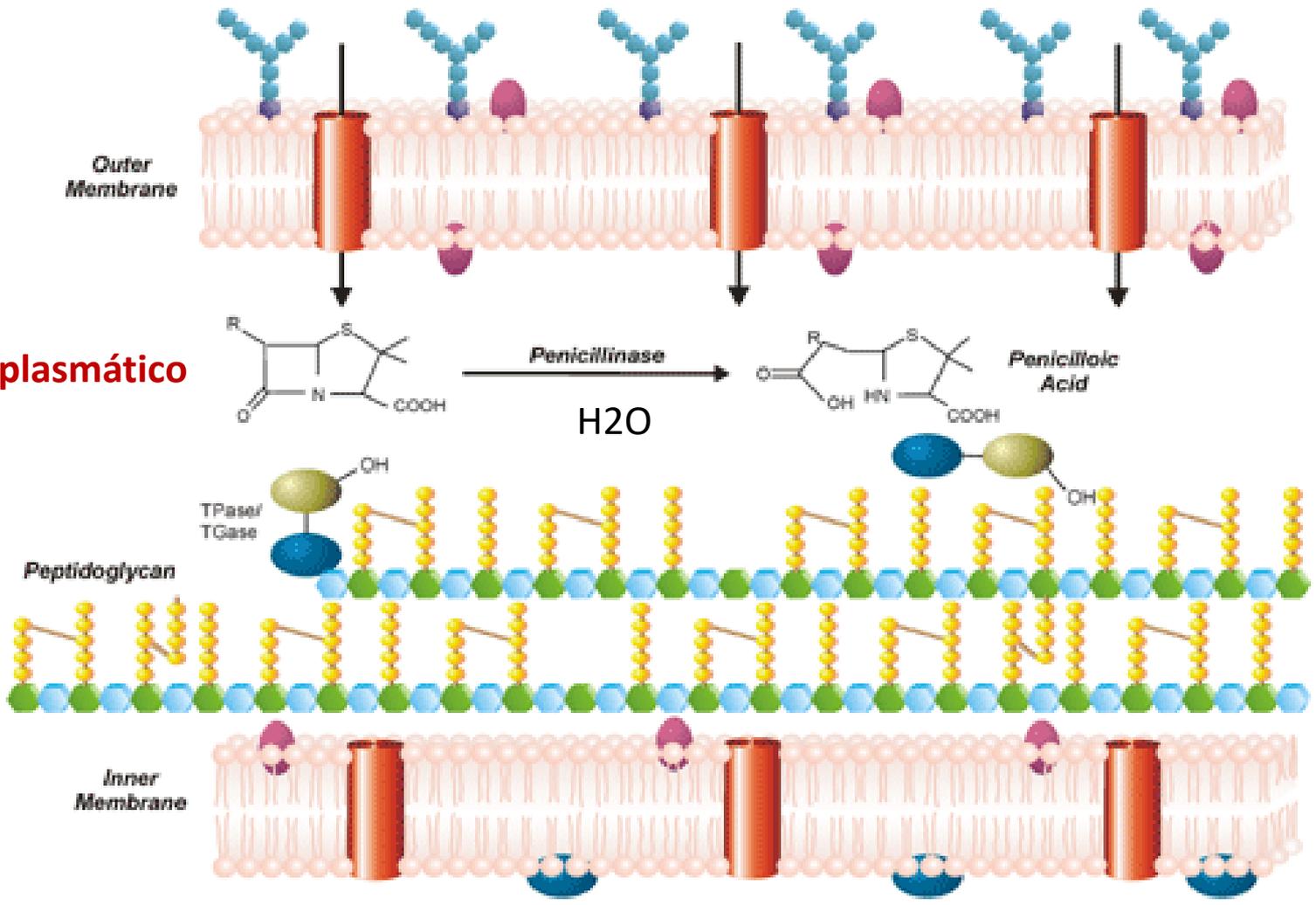
β -lactamase breaks a bond in the β -lactam ring of penicillin to disable the molecule. Bacteria with this enzyme can resist the effects of penicillin and other β -lactam antibiotics.



Penicilloic acid

Resistência Mediada por Enzimas Inativadoras

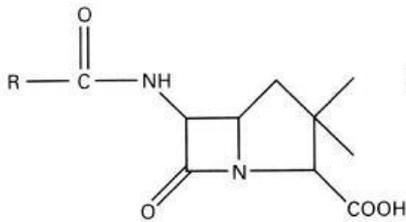
Espaço periplasmático



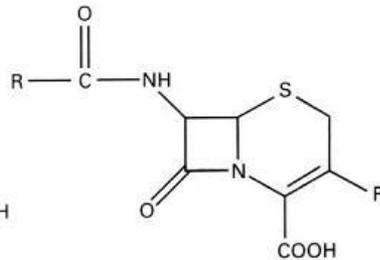
Resistência Mediada por Enzimas Inativadoras

β -lactâmicos

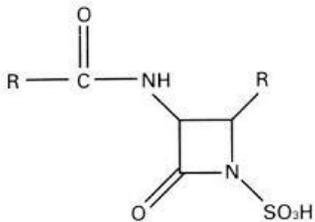
Penicilinas



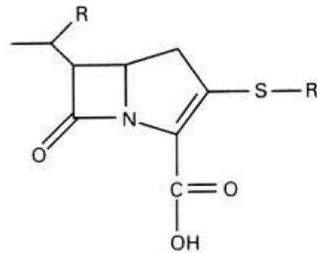
Cefalosporinas



Monobactams



Carbapenems



R = cadeia lateral

β -lactamases

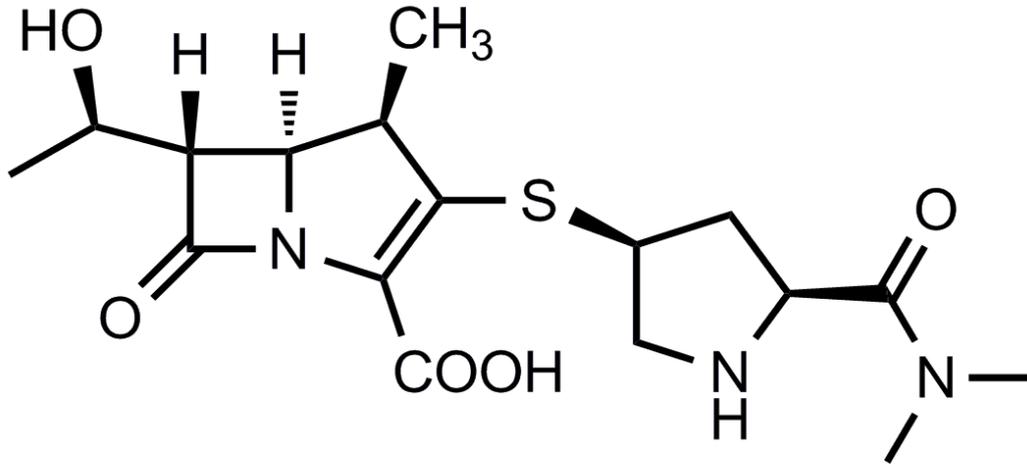
- Classe A ou grupo II: hidrolisam penicilinas e cefalosporinas
- Classe B ou grupo III: hidrolisam carbapenêmicos
- Classe C ou grupo I: hidrolisam cefalosporinas
- Classe D: hidrolisam penicilinas e cloxacilina

Metalo beta lactamase

IMPORTANTE: β -lactamases de amplo espectro ou espectro estendido (ESBL – Extended Spectrum β -lactamases) - hidrolizar penicilinas, cefalosporina de amplo espectro e monobactams

Inibidores de Beta-lactamases

Substratos lentos de Beta lactamases

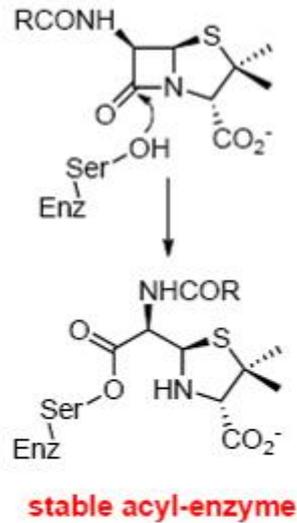


meropenem

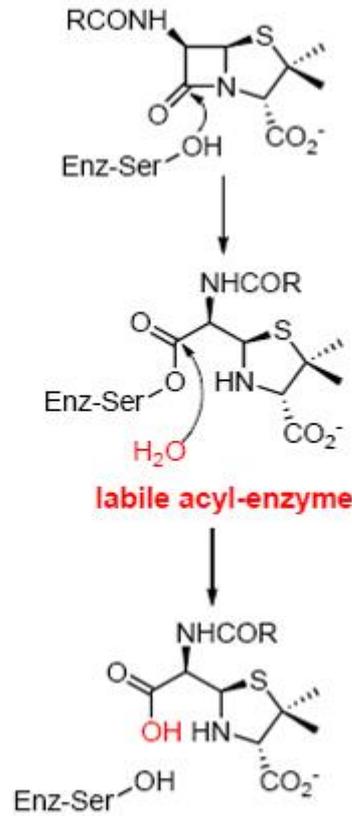
Não interagem com as PBPs.

Inibidores de Beta-lactamases

a) Transpeptidase

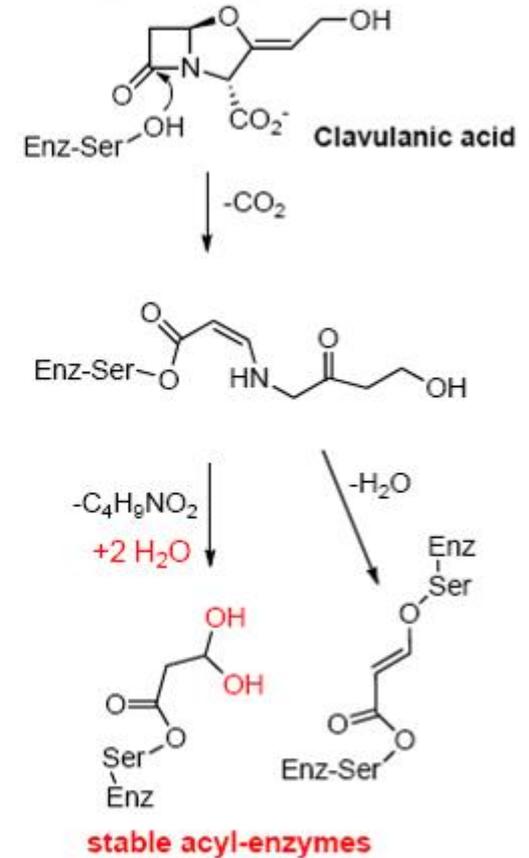


b) Serine β-Lactamase



Inibidores suicidas

c) Serine β-Lactamase



β-Lactams as Substrates/Inhibitors of Transpeptidases and β-Lactamases

500 mg
NDC 0029-6080-12

AUGMENTIN®
AMOXICILIN/CLAVULANATE
POTASSIUM TABLETS

AMOXICILIN, 500 MG,
as the trihydrate

CLAVULANIC ACID, 125 MG,
as clavulanate potassium

20 Tablets

GlaxoSmithKline Ronly

Store at or below 25°C (77°F). Dispense in original container.
Each tablet contains 500 mg amoxicillin as the trihydrate, 125 mg clavulanic acid as the potassium salt, and 125 mg potassium clavulanate.
See package insert for complete prescribing information.
Use only if inner seal is intact.

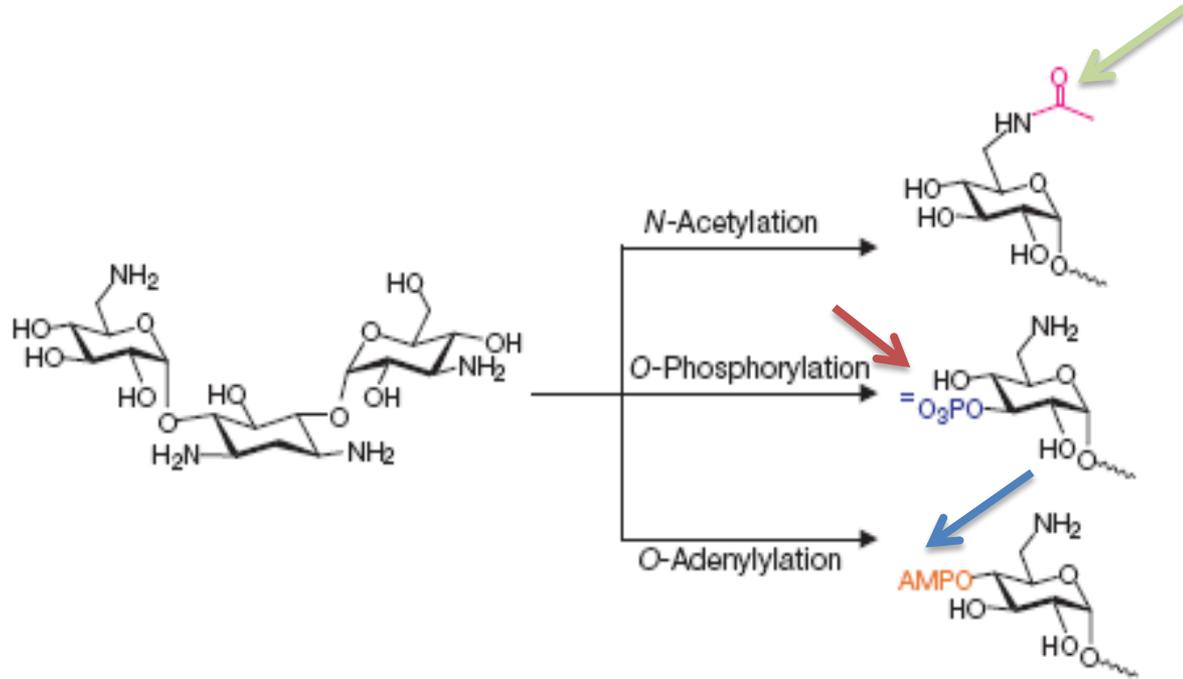
GlaxoSmithKline
Kenilworth, NJ 07033
Rev 2/05

A009833

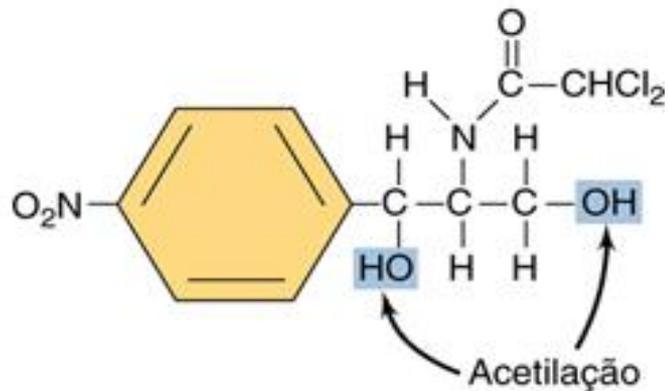
LOT
EXP.

b. Resistência Mediada por Enzimas Inativadoras

Aminoglicosídeos



Clorafenicol



Mecanismos de Resistência

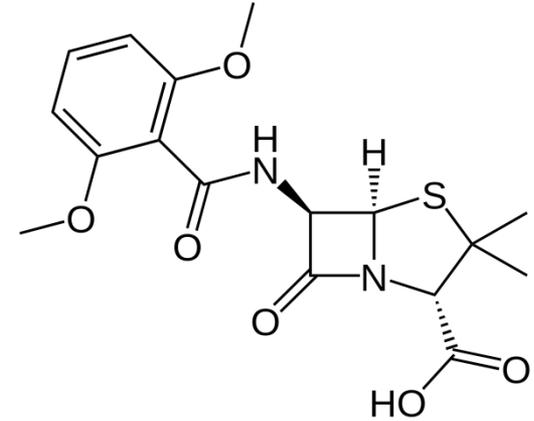
4. *Modificar o alvo do antibiótico*

- Resistência a Beta lactâmicos em *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*
- Metilação do de adenina do rRNA 23S da subunidade 50S do ribossomo bacteriano
- Reprogramação da síntese da parede celular em *S. aureus* e *S. pneumoniae*

Resistência a metilicina em *S. aureus*

Surgimento dos MRSA

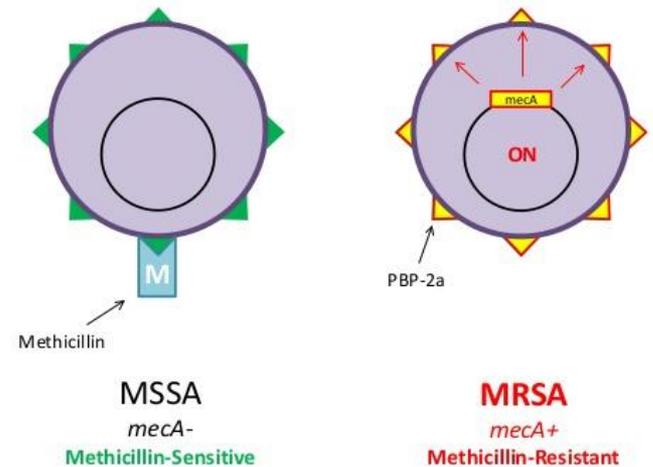
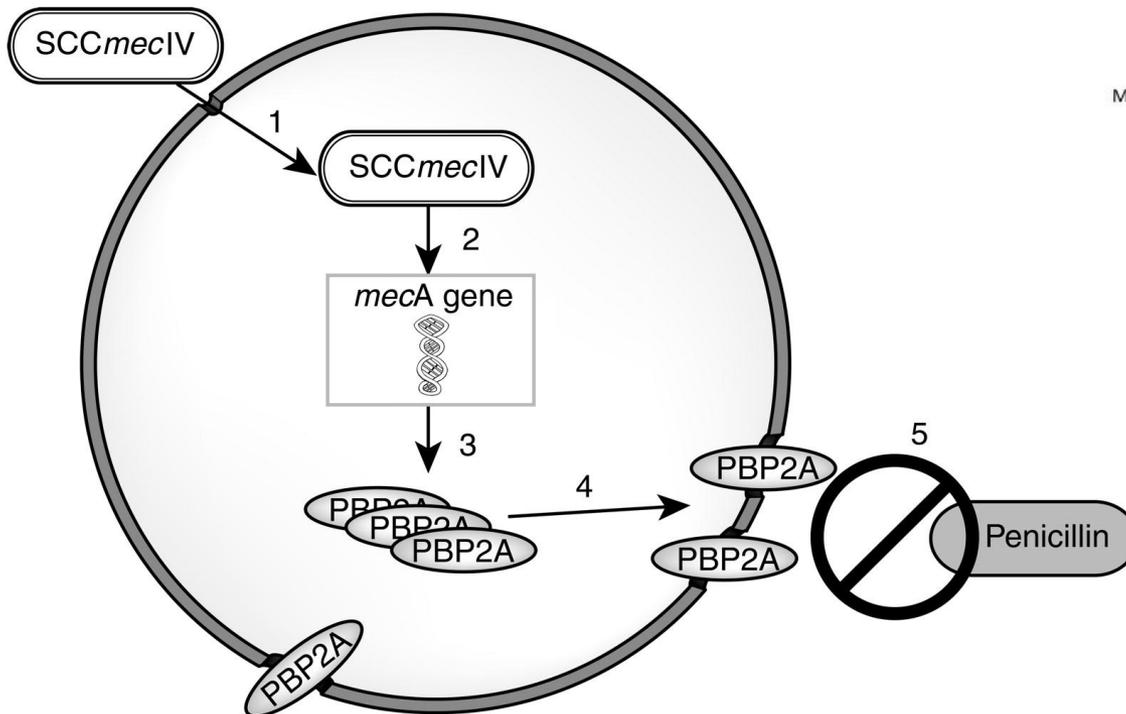
- MRSA é resistente a praticamente todos os beta lactâmicos
- Grave problema em centros de queimaduras
- Responsável por mais de 90% dos isolados clínicos de resistência
- Codifica a MecA (PBP2A) – uma PBP diferenciada de alto peso molecular
- MecA apresenta uma baixa afinidade por beta-lactâmicos e alta por peptidoglicano



Resistência a meticilina em *S. aureus*

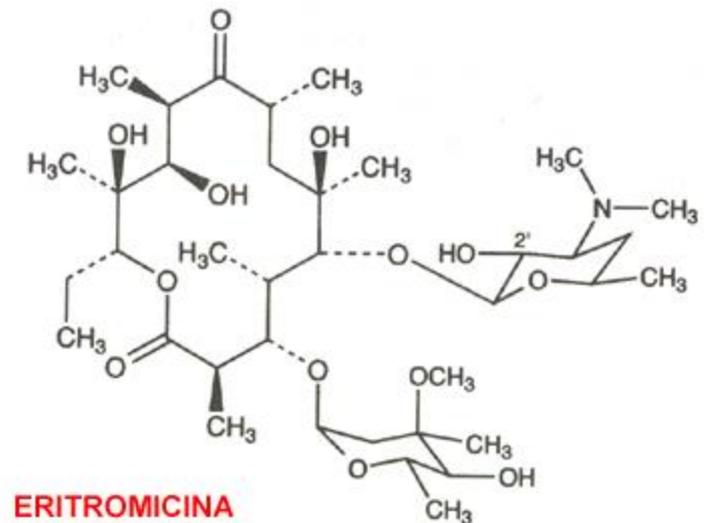
mecA

mecA-encoded Methicillin Resistance

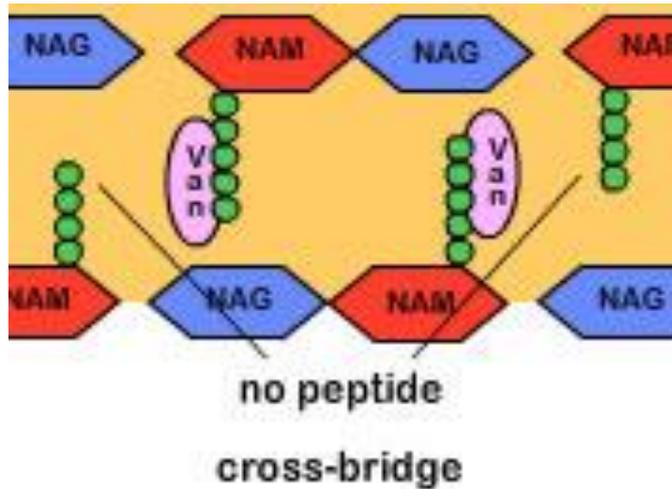


Metilação do rRNA 23S causa resistência à macrolídeos

- monometilação ou dimetilação do grupo N6 do amino grupo exocíclico A2058
- metiltransferase chamada ERM
- Esta metilação não interfere na atividade da peptidiltransferase
- Enzima presente no *Saccharopolyspora erythraea*

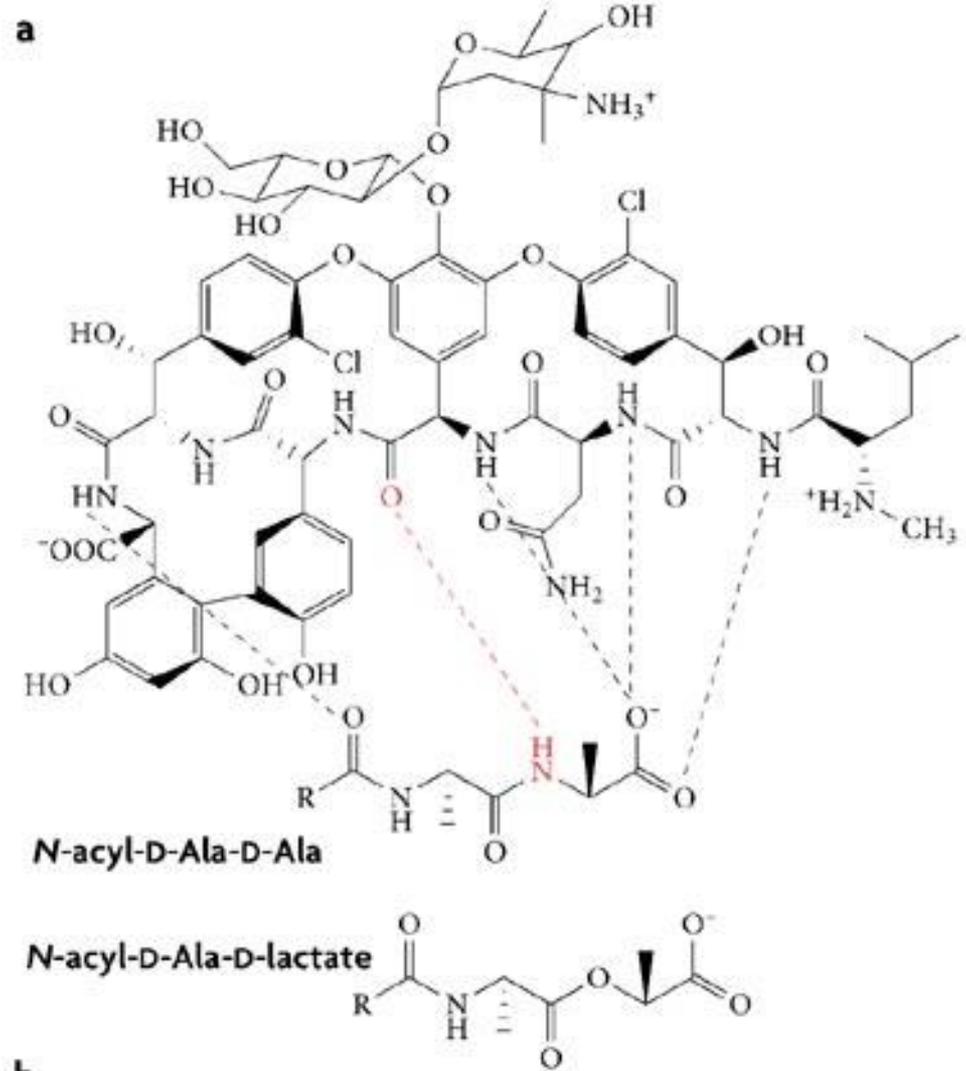


Mecanismo de resistência a vancomicina em estafilococos



-Substituição dos resíduos D-Ala –D-Ala por D-Ala-D-lactato

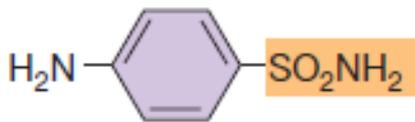
-Reprogramação da biossíntese do polipeptídeo glicano por plasmídeo contendo proteínas VanH, VanA e VanX



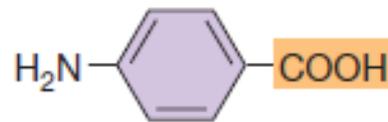
Mecanismos de Resistência

5. Desenvolve uma via bioquímica resistente

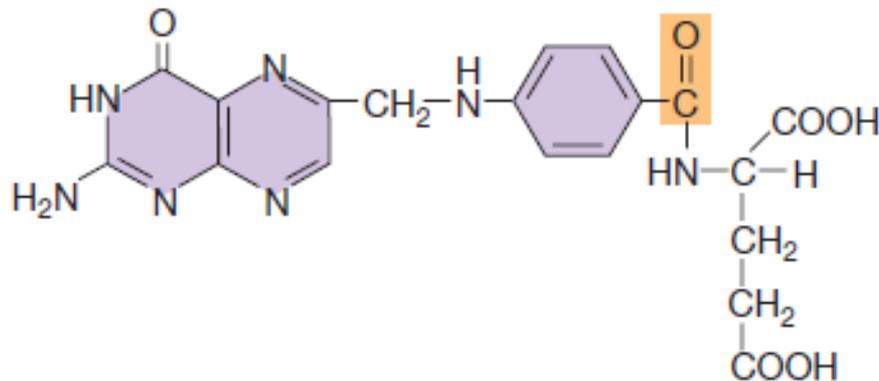
- Resistência a sulfas (inibe a síntese de ácido fólico em bactérias)
- Modificam seu metabolismo, conseguem captar o ácido fólico do meio externo



(a) Sulfanilamide



(b) *p*-Aminobenzoic acid



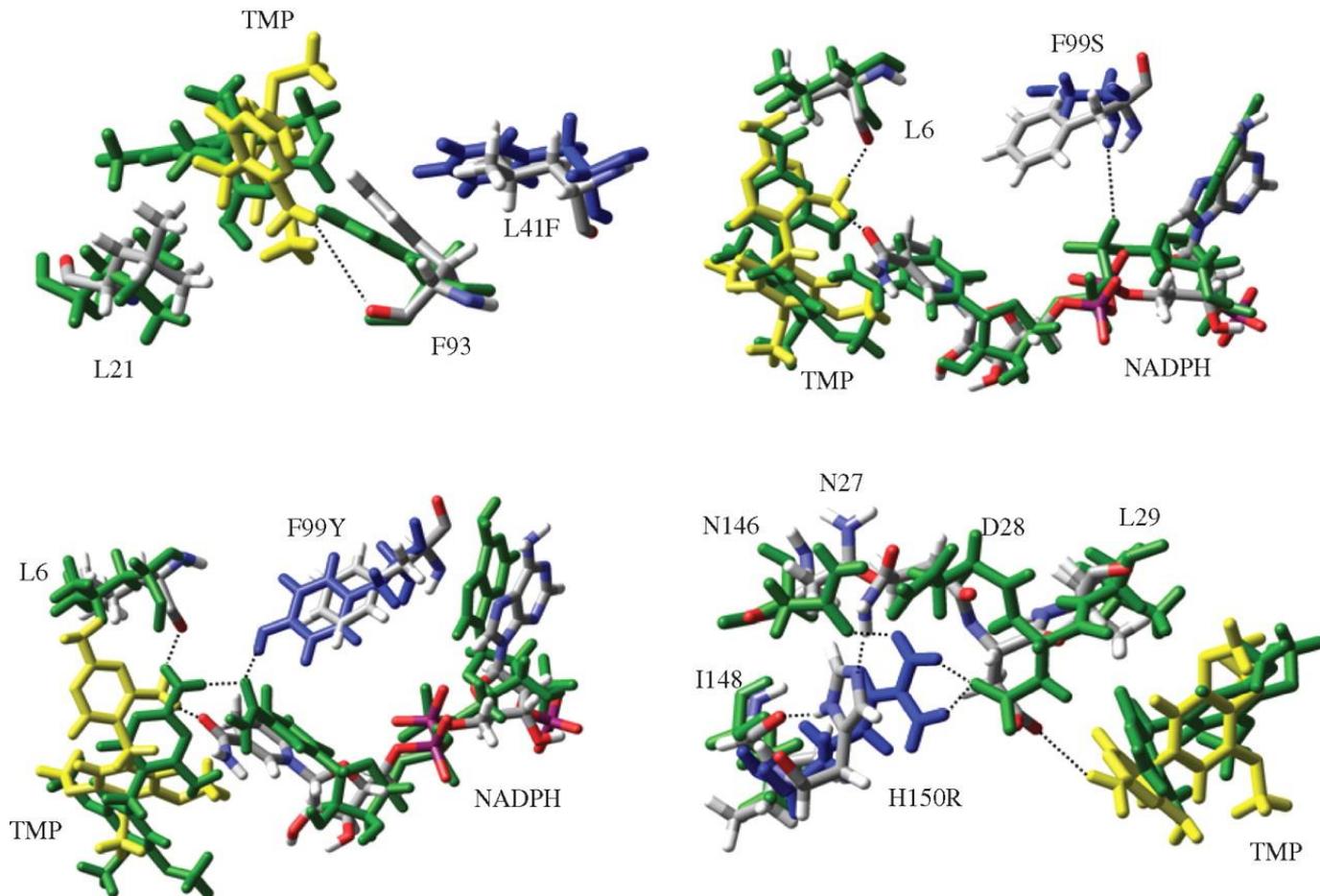
(c) Folic acid Fator de crescimento

Os primeiros análogos de fatores de crescimento, amplamente utilizado para inibir o crescimento bacteriano

A sulfa mais simples é análogo do ác. *p*-aminobenzoico, é um precursor do ác. fólico, inibindo a síntese de ácidos nucleicos

-Mutações pontuais no sítio ativo da dihidrofolato redutase pode levar a resistência ao trimetoprim em *S. aureus*

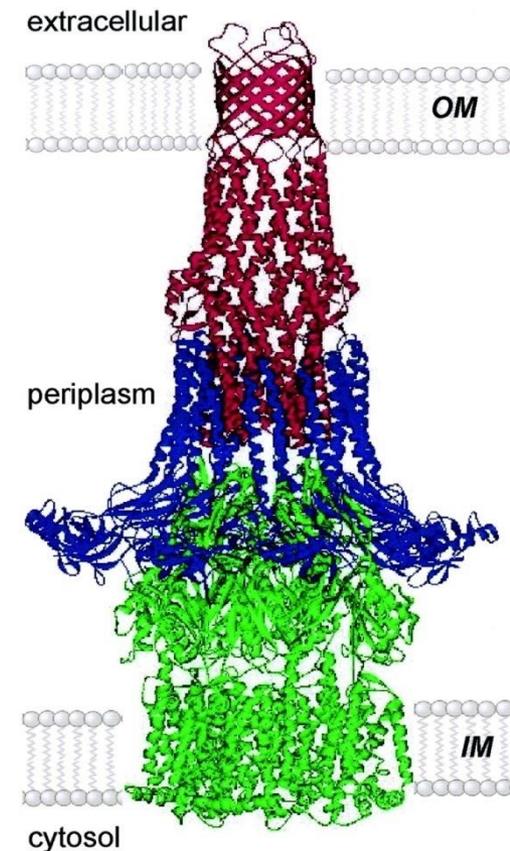
-Mutação causa diminuição na afinidade pelo inibidor e pelo co-fator mas mesmo assim mantém a enzima ativa.



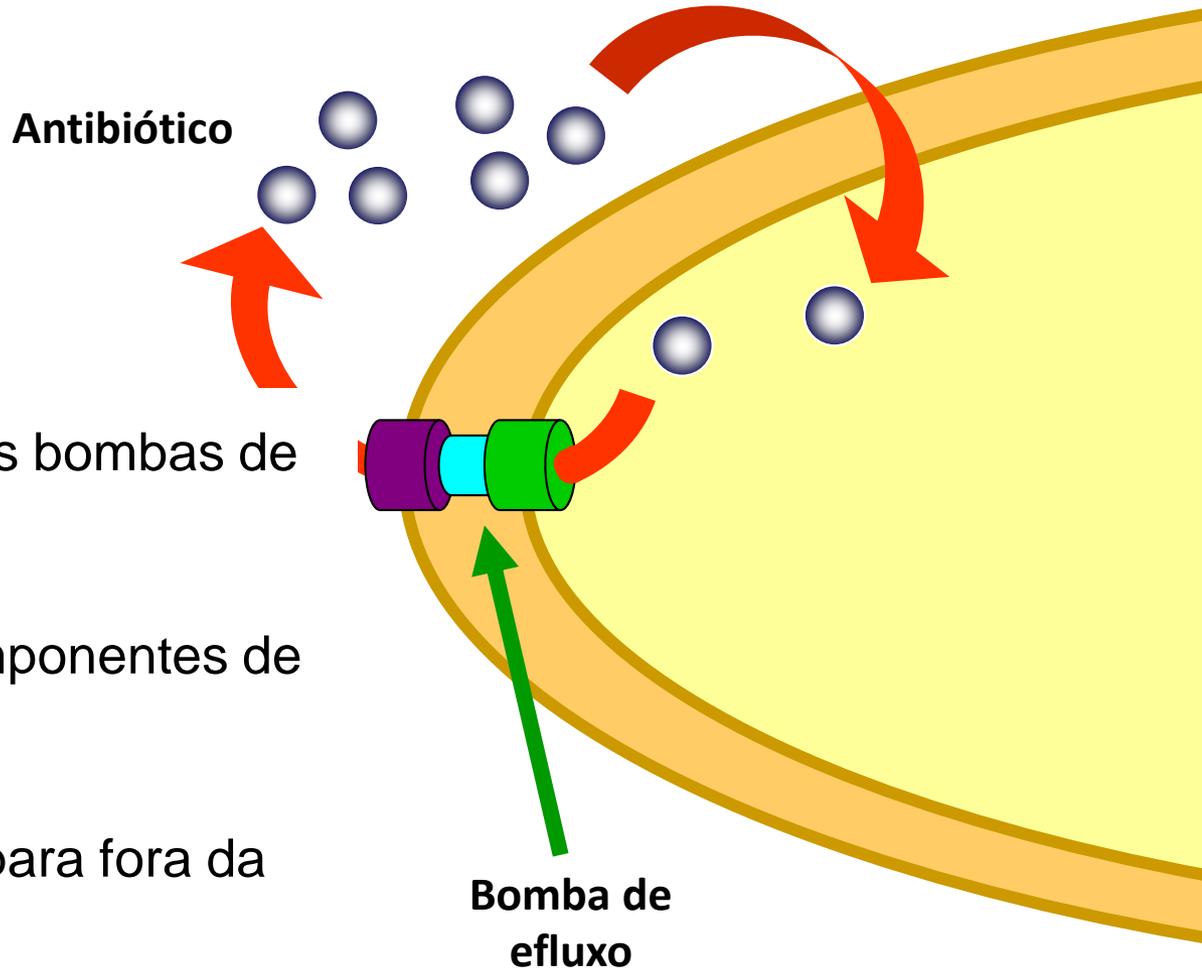
Mecanismos de Resistência

6. Bombear o antibiótico para fora (efluxo)

- Bombas de efluxo são proteínas transmembrânicas que podem atuar no exporte de antimicrobianos contra um gradiente de concentração;
- relatado para antibióticos beta-lactâmicos, macrolídeos, fluoroquinolonas e tetraciclinas
- as bombas podem ser de especificade estreita ou ampla
- Pseudomonas aeruginosa* é intrinsicamente insensível a antibióticos
- Aquisição por genes em plasmídeos ou transposons



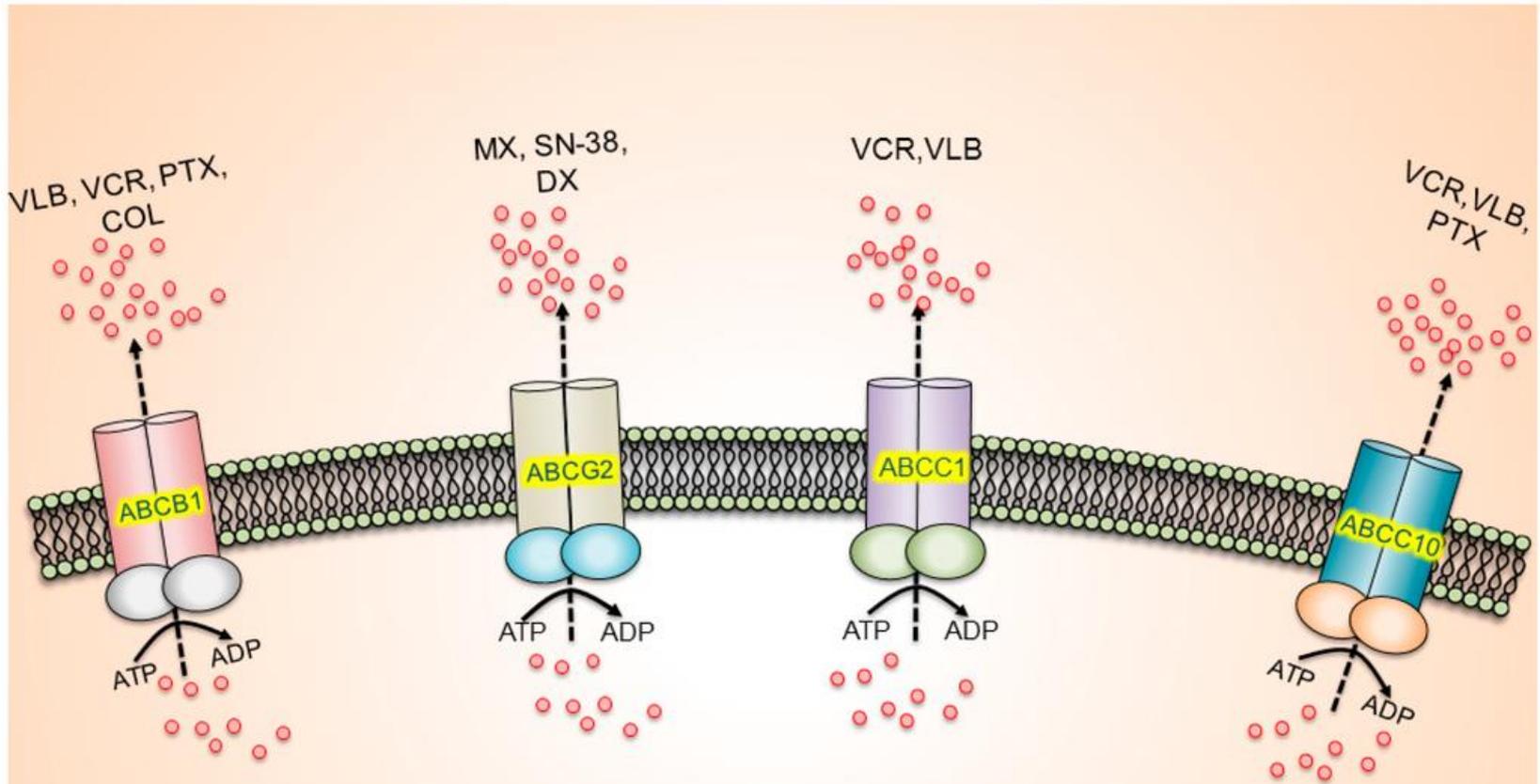
Mecanismo de Resistência por Sistema de Efluxo



- Aumento da síntese destas bombas de efluxo
- Sistemas de múltiplos componentes de membrana;
- Transporte de substratos para fora da célula;
- Transporte ativo;

Ex: Transportadores do tipo ABC.

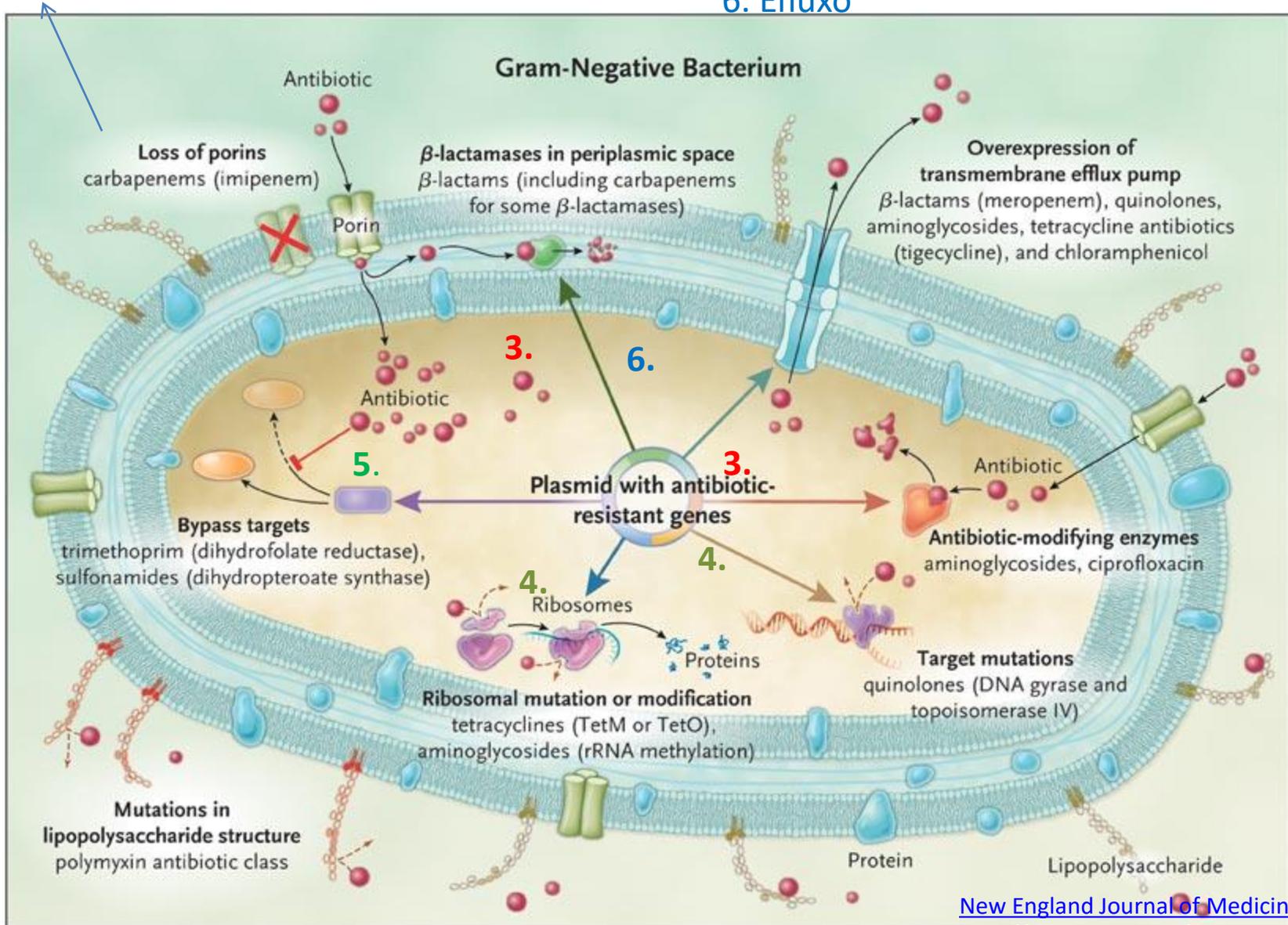
Transportadores ABC



Resumo

3. Modifica o antibiótico
4. Alvo do antibiótico
5. Muda a bioquímica
6. Efluxo

2. Impermeabilidade



Origem da Resistência a Antibióticos

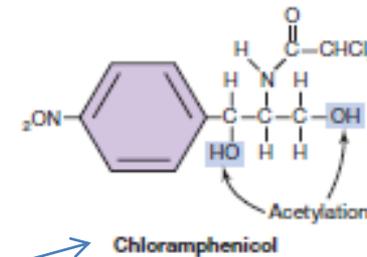
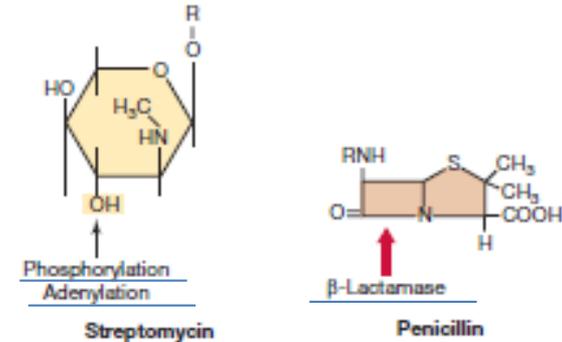
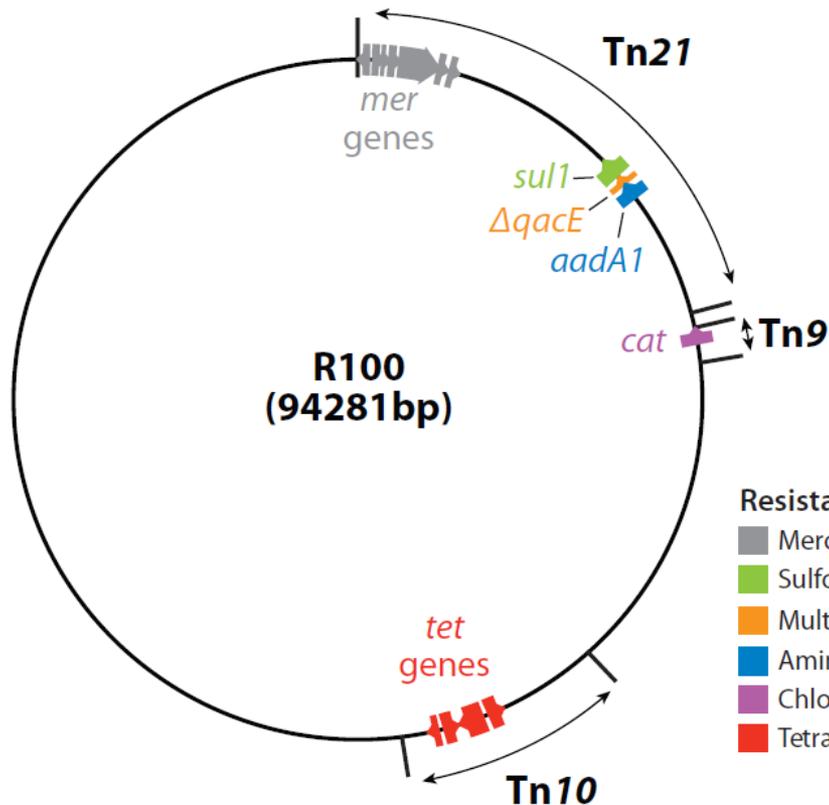
Aspectos Relacionados à Resistência aos Antibióticos em Bactérias

Origem da Resistência

-  resistência cromossomal
-  resistência plasmideal

Cepas Bacterianas Isoladas a partir de Espécimes Clínicos

- Os genes de resistência estão frequentemente em plasmídeos R e não no cromossomo

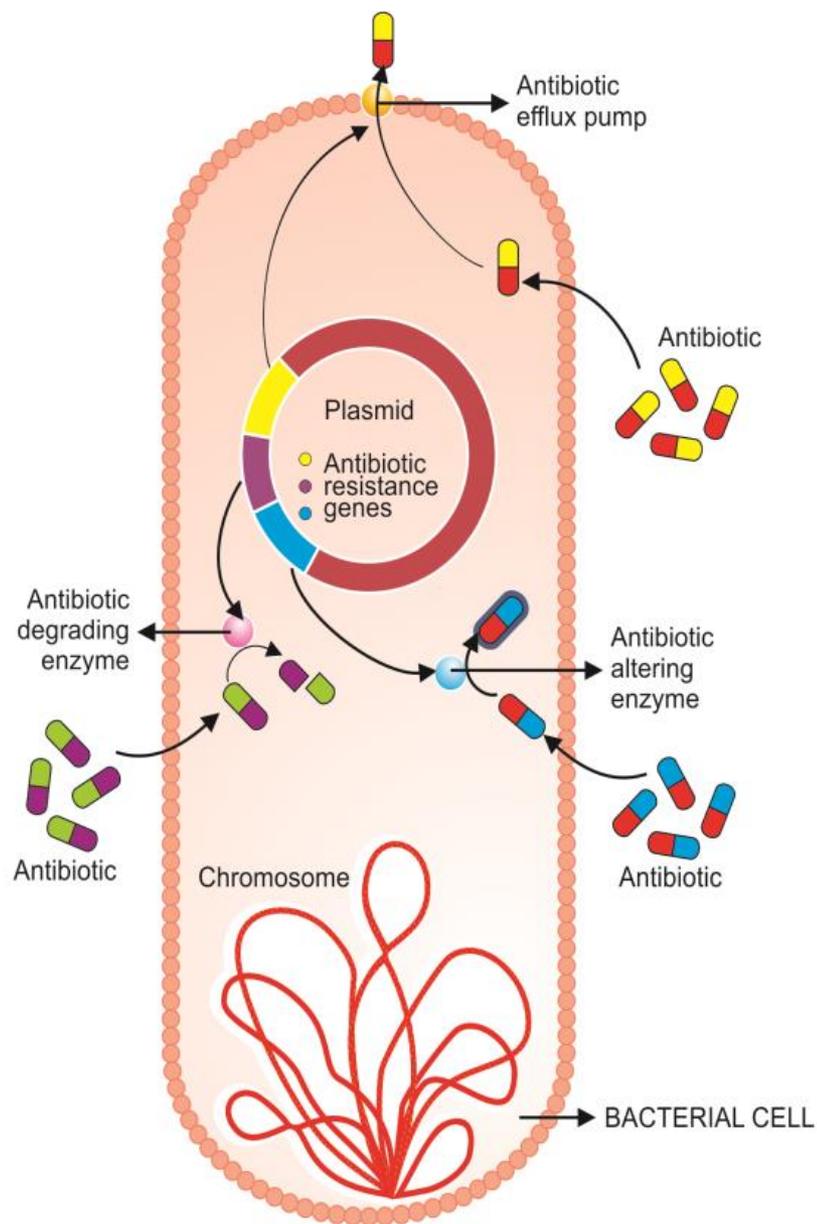


Estreptomicina, neomicina, canamicina, espectinomicina
 -Estruturas similares
 -Enzima que as fosforilam e as inativam

Origem dos Plasmídeos de Resistência

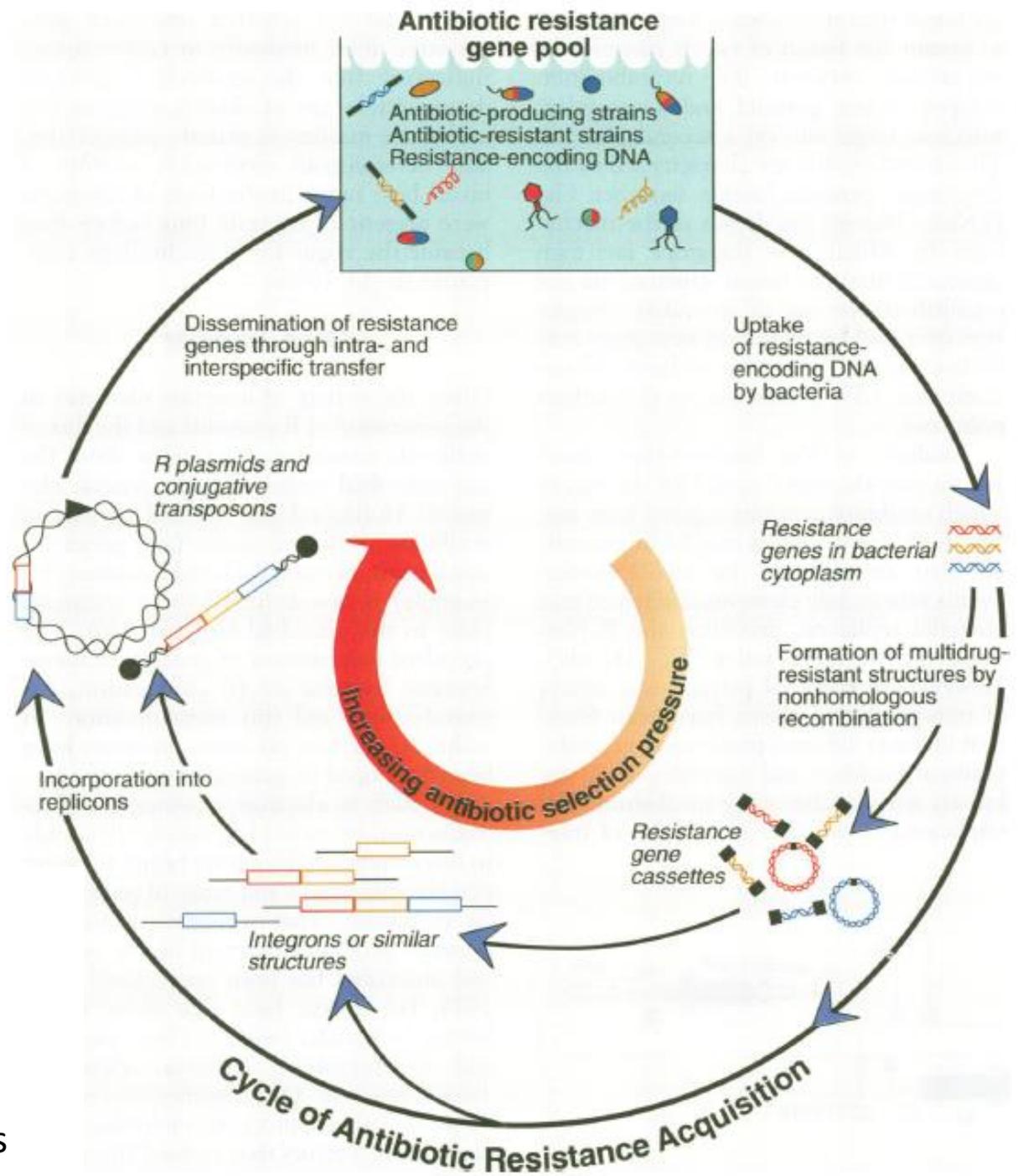
Uma linhagem de *E. coli* congelada e desidratada em 1946 continha um plasmídeo R com resistência a tetraciclina e estreptomicina

Uso da tetraciclina: 1948



Mecanismo de Resistência Mediados pelo Plasmídeo R

- Maioria das cepas resistentes isoladas de pacientes apresentam o plasmídeo R
- Geralmente carregam genes que modificam ou inativam o fármaco
- Combinação de um plasmídeo F com elementos transponíveis

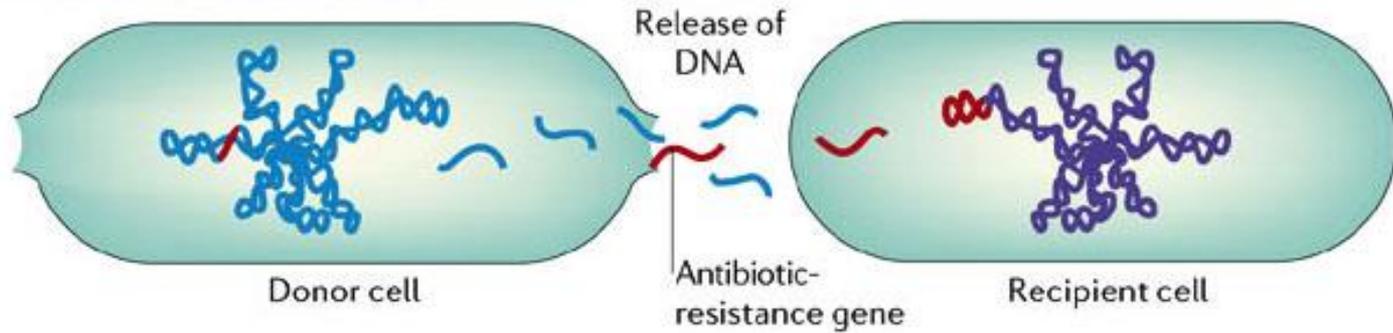


Integrans:

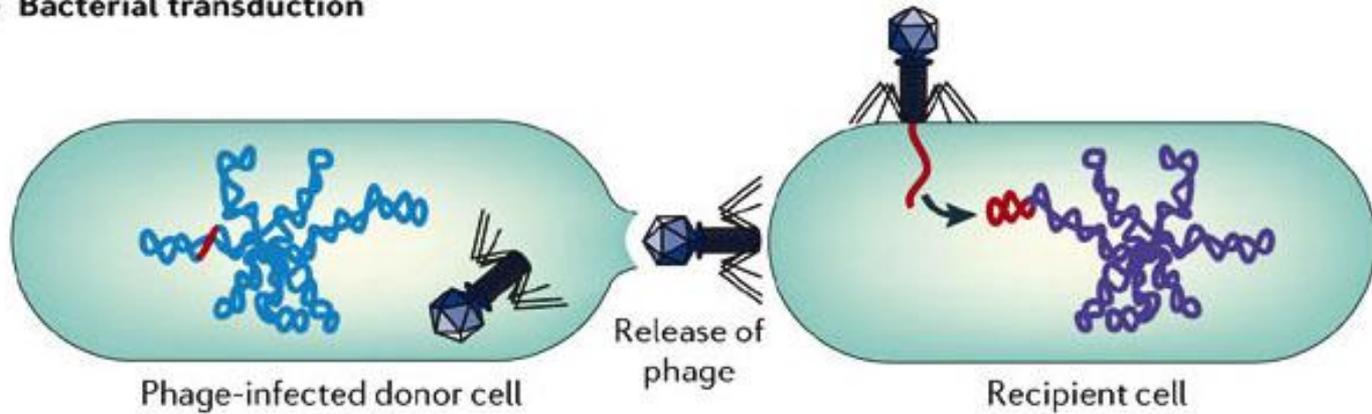
Elementos genéticos que coletam e expressam genes localizados em segmentos móveis de DNA (cassets)
 E contém regiões promotoras

Transmissão Horizontal

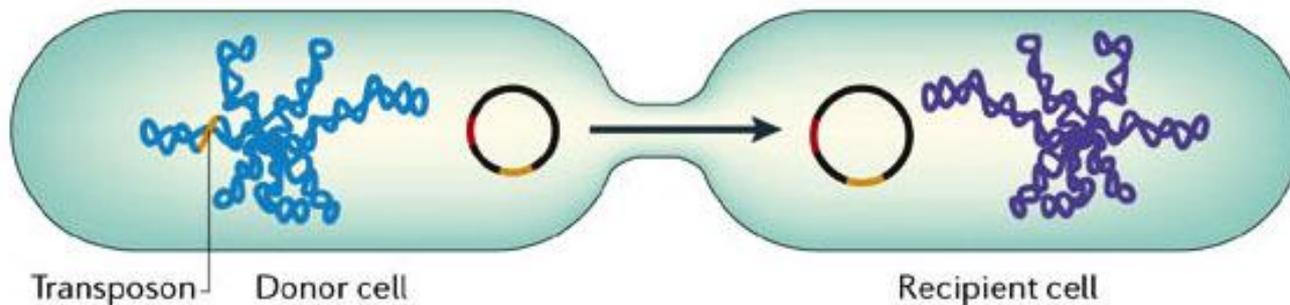
a Bacterial transformation



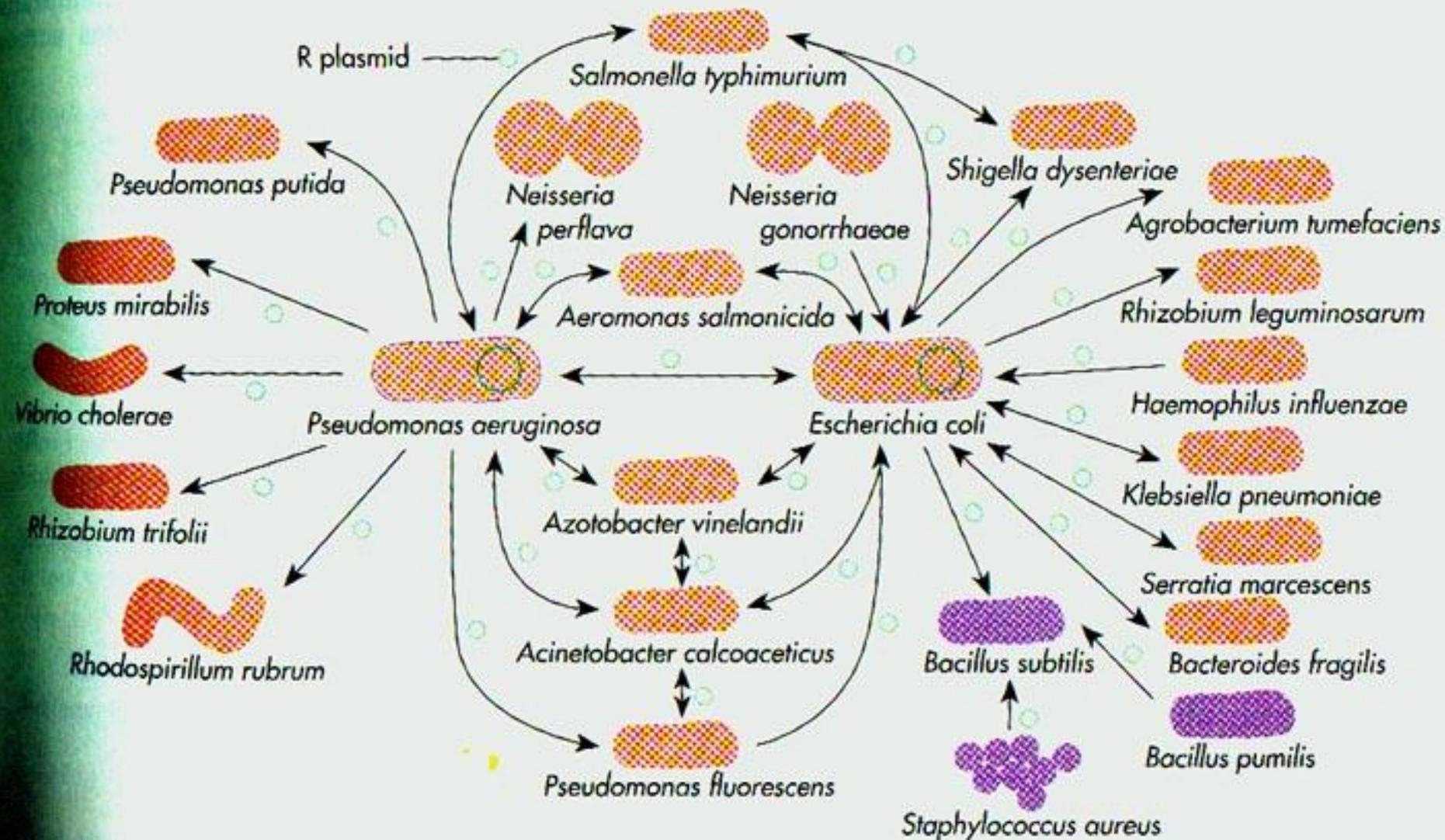
b Bacterial transduction



c Bacterial conjugation

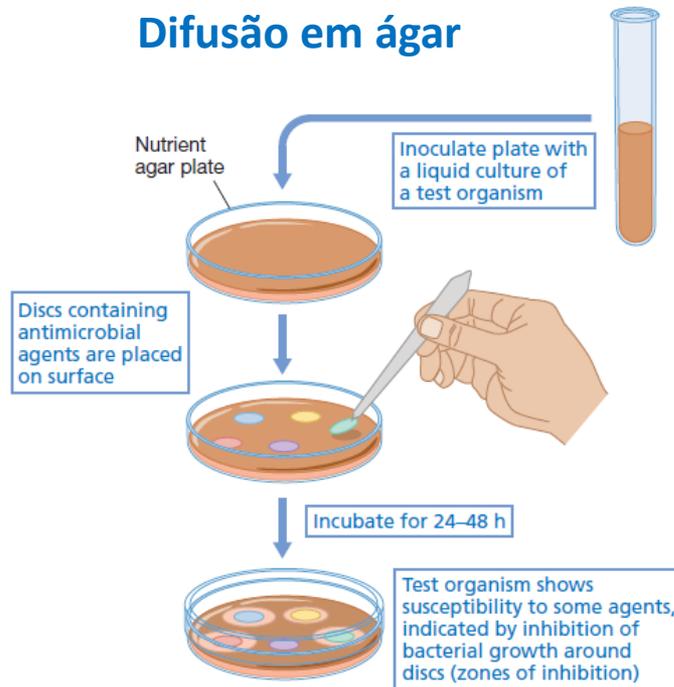


Transmissão horizontal da resistência bacteriana



Testes Clínicos de Cepas Bacterianas isoladas a partir de Espécimes Clínicos

- Ampla resistência aos antibióticos atuais
- Contínuo surgimento de novas cepas resistentes
- Faz dois testes



MIC-
Concentração mínima de antibiótico

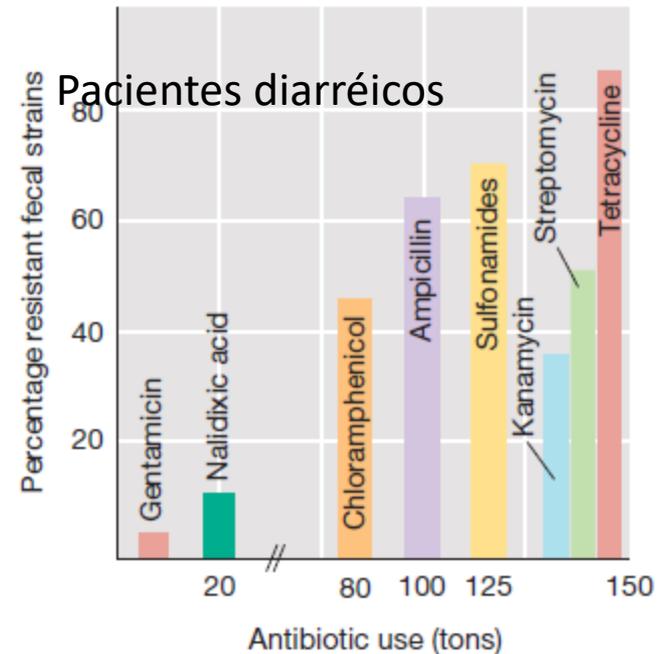


Alguns Fatores que Favorecem a Disseminação dos Plasmídeos R

- Uso extensivo de antibiótico:
 - Medicina
 - Veterinária
 - Agricultura
- Uso inadequado é o principal problema
 - Uso excessivo
 - Prática Clínica

20% necessário 80% prescritos

60% não seriam necessários

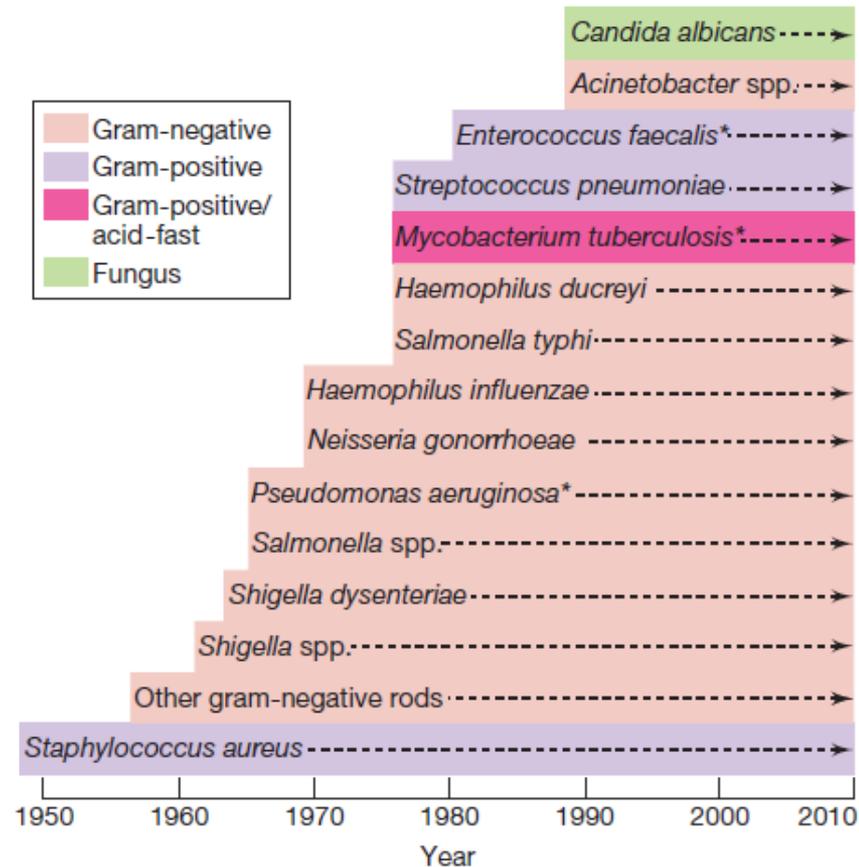


Patógenos Resistentes

- Todos os microrganismos patogênicos desenvolverão resistência a Algum Antibiótico

A maioria dos patógenos são resistentes a sulfas e a penicilina

Os primeiros fármacos utilizados (depois 1950)



Métodos para reduzir o problema de resistência

- Uso de doses altas e em um período adequado para não favorecer o surgimento de cepas mutantes resistentes
- Uso combinado de dois antibióticos não relacionados
- Antibiótico combinado – antibiótico combinado com um inibidor da enzima que causa a resistência. Ex. Ampicilina + inibidor da beta-lactamase
- Alguns estudos sugerem que a resistência a um determinado antibiótico pode ser perdida (sensibilidade é revertida após alguns anos) – poderia interromper e depois de alguns anos usar novamente o mesmo antibiótico
- Desenvolver novos fármacos



It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.