

# Antimicrobianos: Resistência Bacteriana

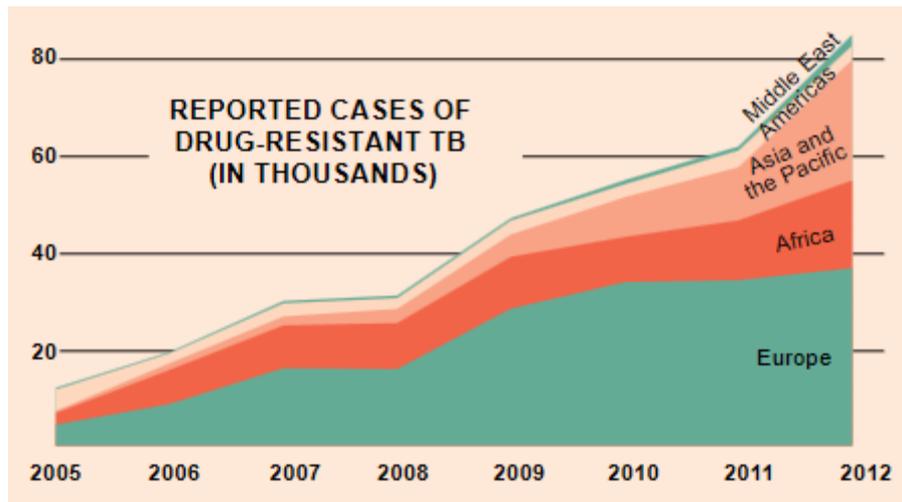
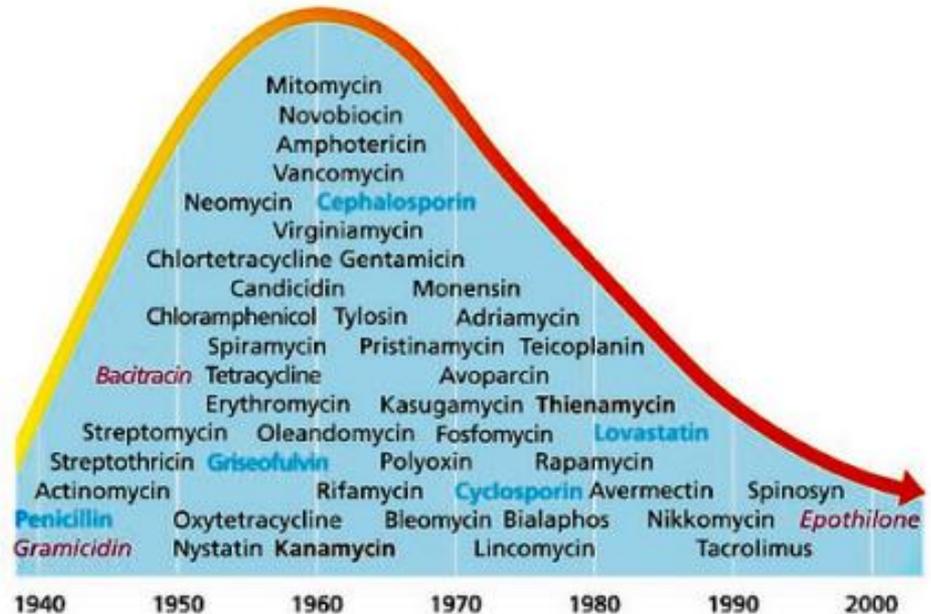
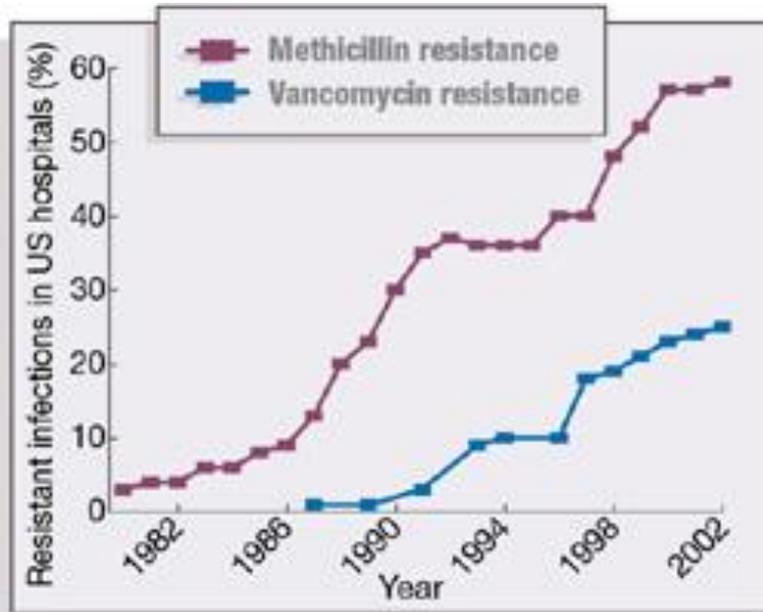
Prof. Marcio Dias



# Resistência

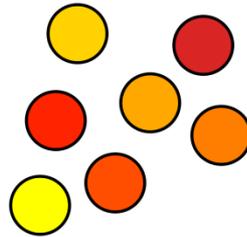
- Capacidade adquirida de resistir aos efeitos de um agente quimioterápico, normalmente um organismo que era inicialmente sensível.
- Como eles adquiriram?
  - Desenvolvendo mecanismos para se proteger do próprio antibiótico que ele sintetizou
  - Adquirindo por transferência horizontal de outro organismo
  - Mutação e seleção natural

# Quando a resistência a antimicrobianos surgiu?

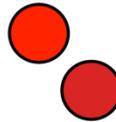


# Seleção e mutação

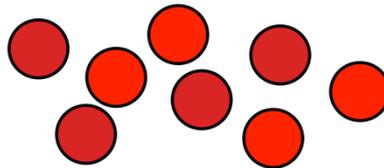
Before selection



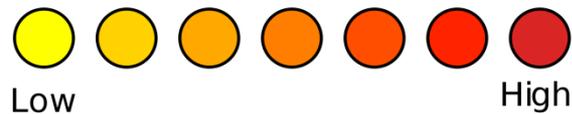
After selection



Final population



Resistance level

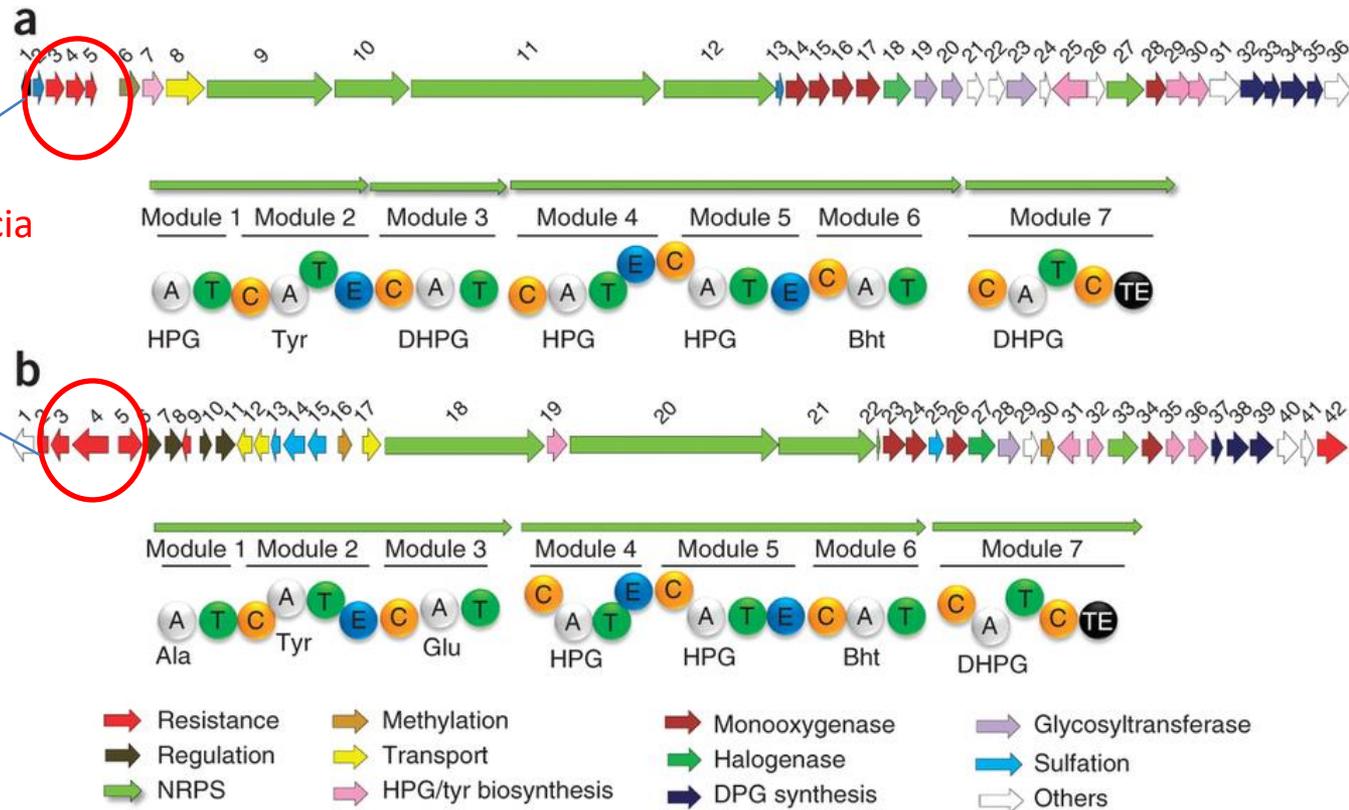




*Streptomyces sp.*



Transferência  
gênica  
horizontal

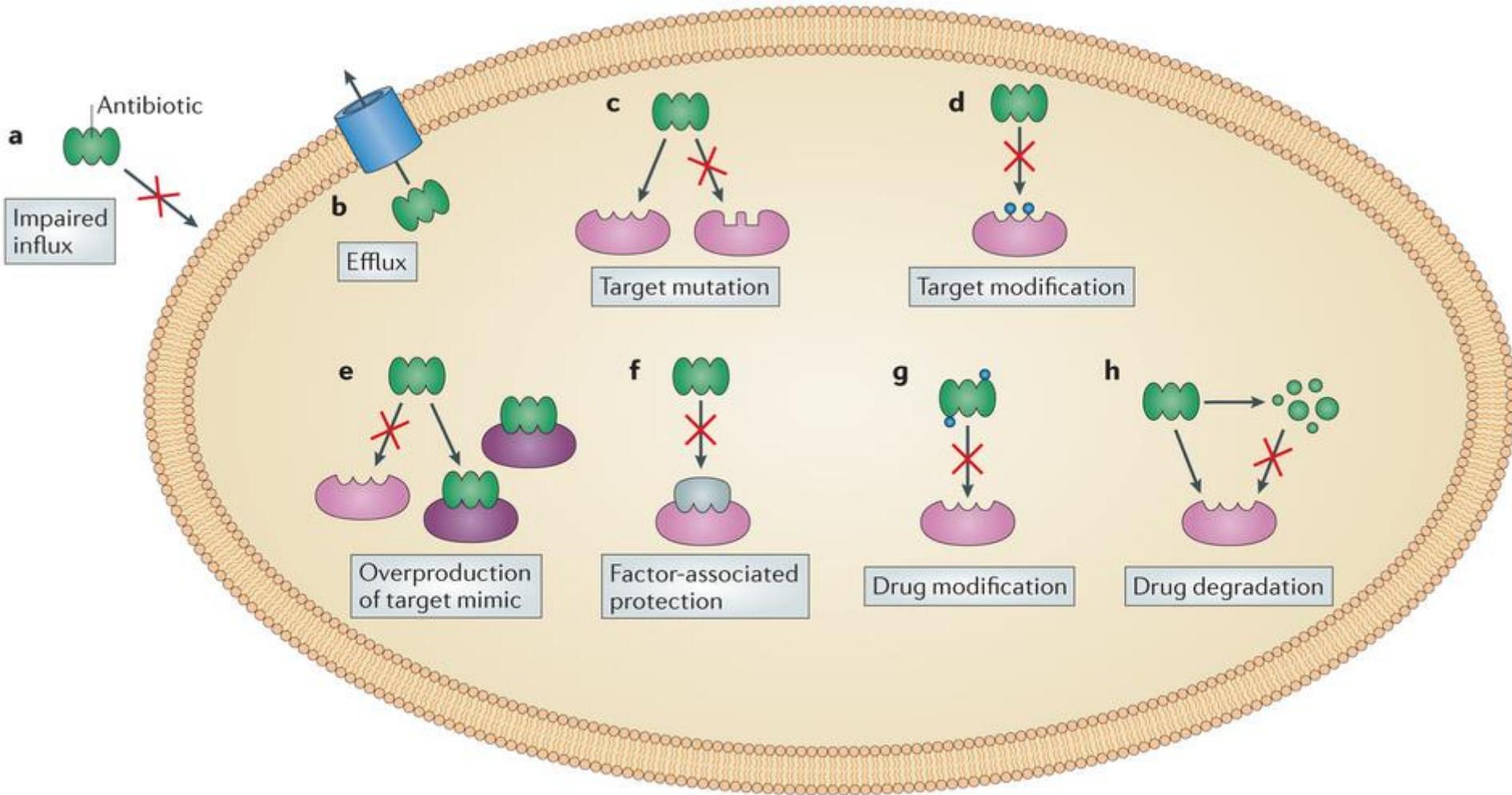


# Mecanismos de Resistência

## Existem 7 Mecanismos Principais de Resistências

1. Naturalmente resistentes
2. Antibiótico é Impermeável
3. Modificação do antibiótico para uma forma inativa
4. Modificação do alvo do antibiótico
5. O organismo pode desenvolver uma estratégia bioquímica alternativa
6. O organismo pode bombear o antimicrobiano para fora da célula
7. Alteração na expressão do alvo do antimicrobiano

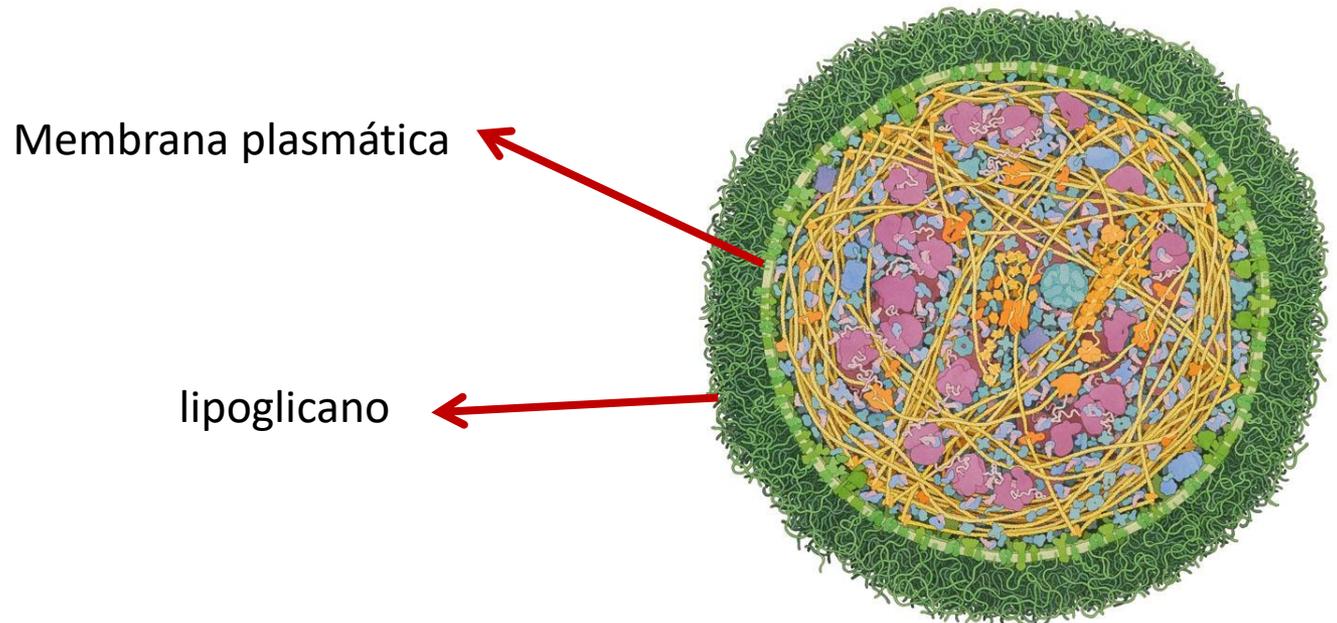
# Mecanismos de Resistência



# Mecanismos de Resistência

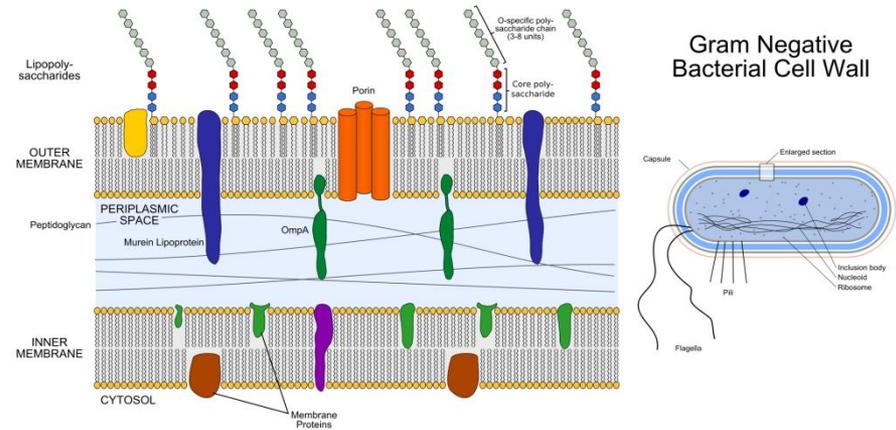
## 1. Naturalmente resistentes

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

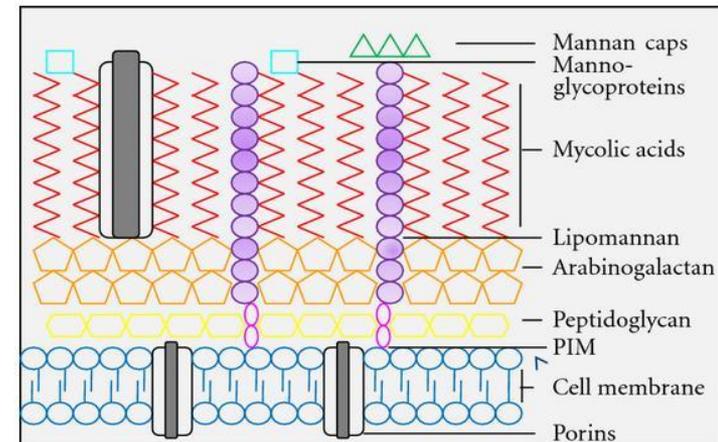


# 2 . Alteração na permeabilidade de membrana

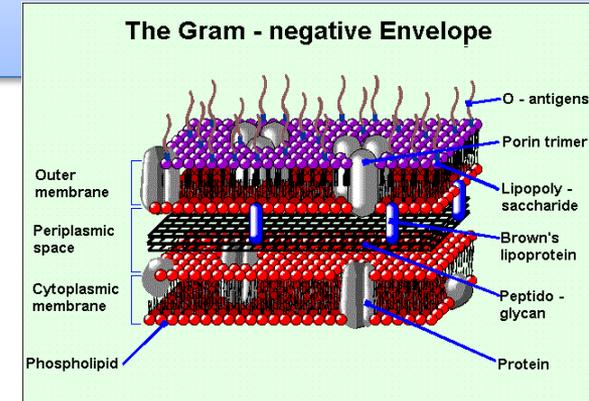
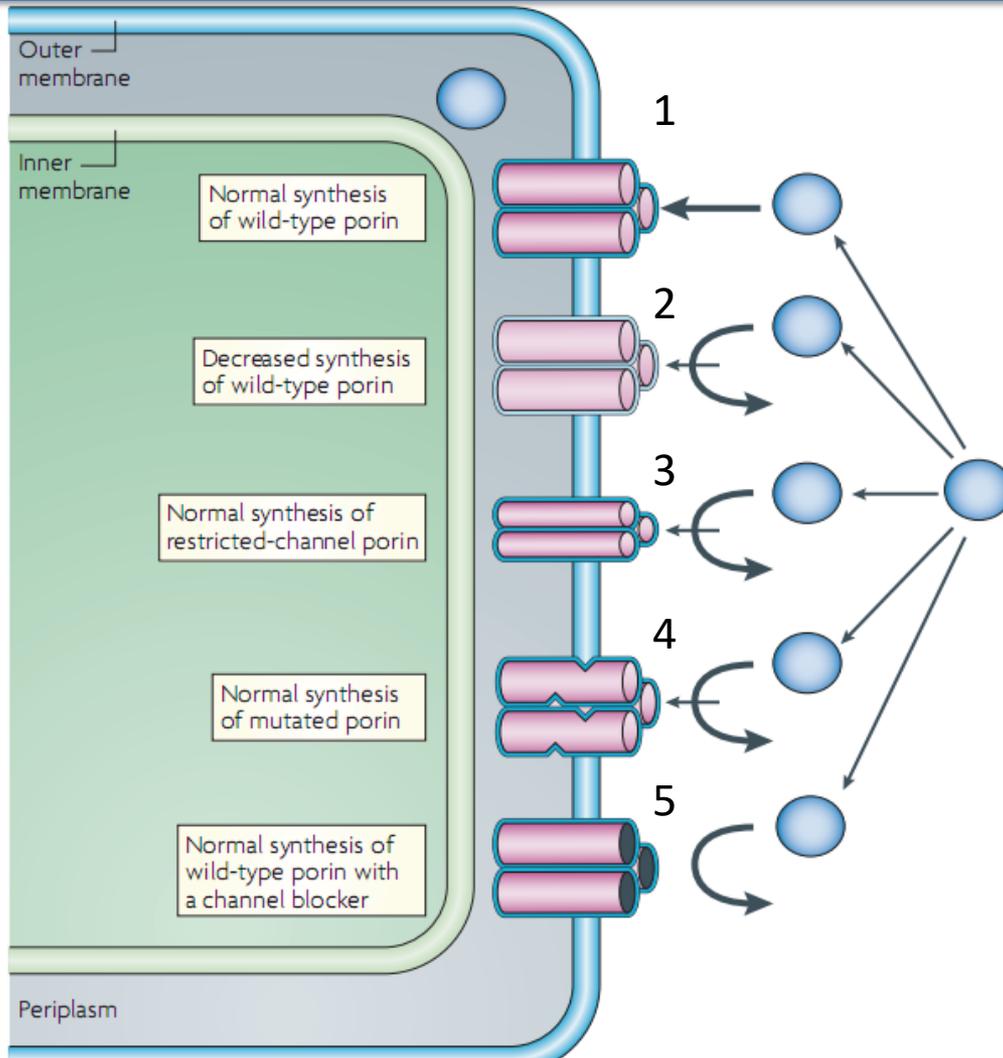
- Bactérias Gram negativas
- Impermeáveis a penicilina G



- *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  
 $\beta$ -lactâmicos

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

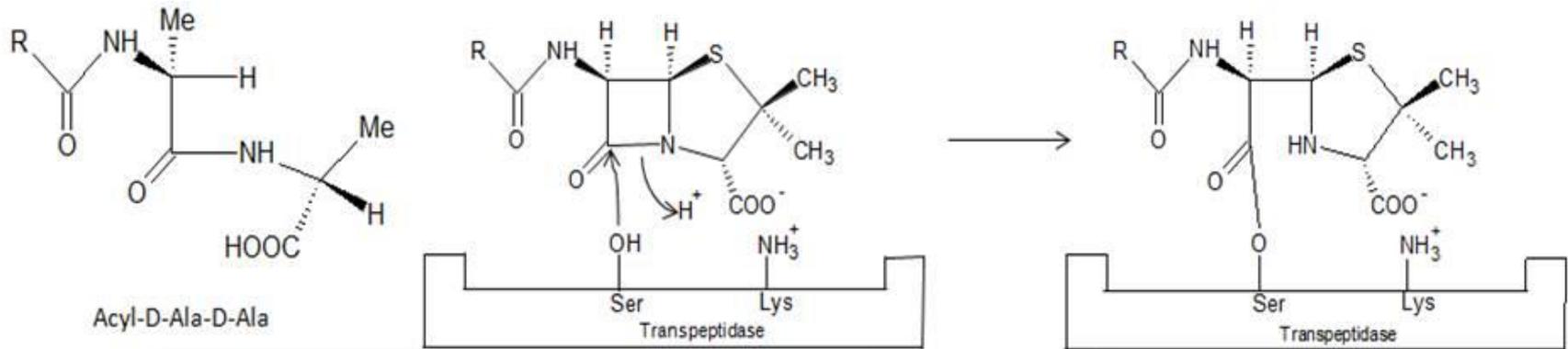
# Mecanismos de Resistência

## *3. Modifica o Antibiótico para uma forma Inativa*

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

# Inativação de Beta-lactâmicos - Beta-lactamase

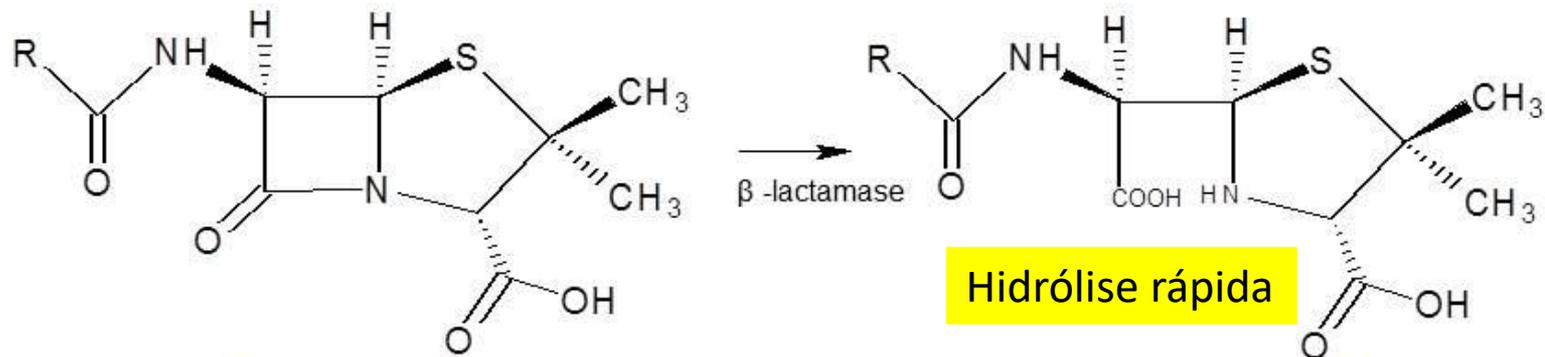
## Mechanism of Action of Penicillin



•Inhibit formation of peptidoglycan cross links in the bacterial cell wall.  
• $\beta$ -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

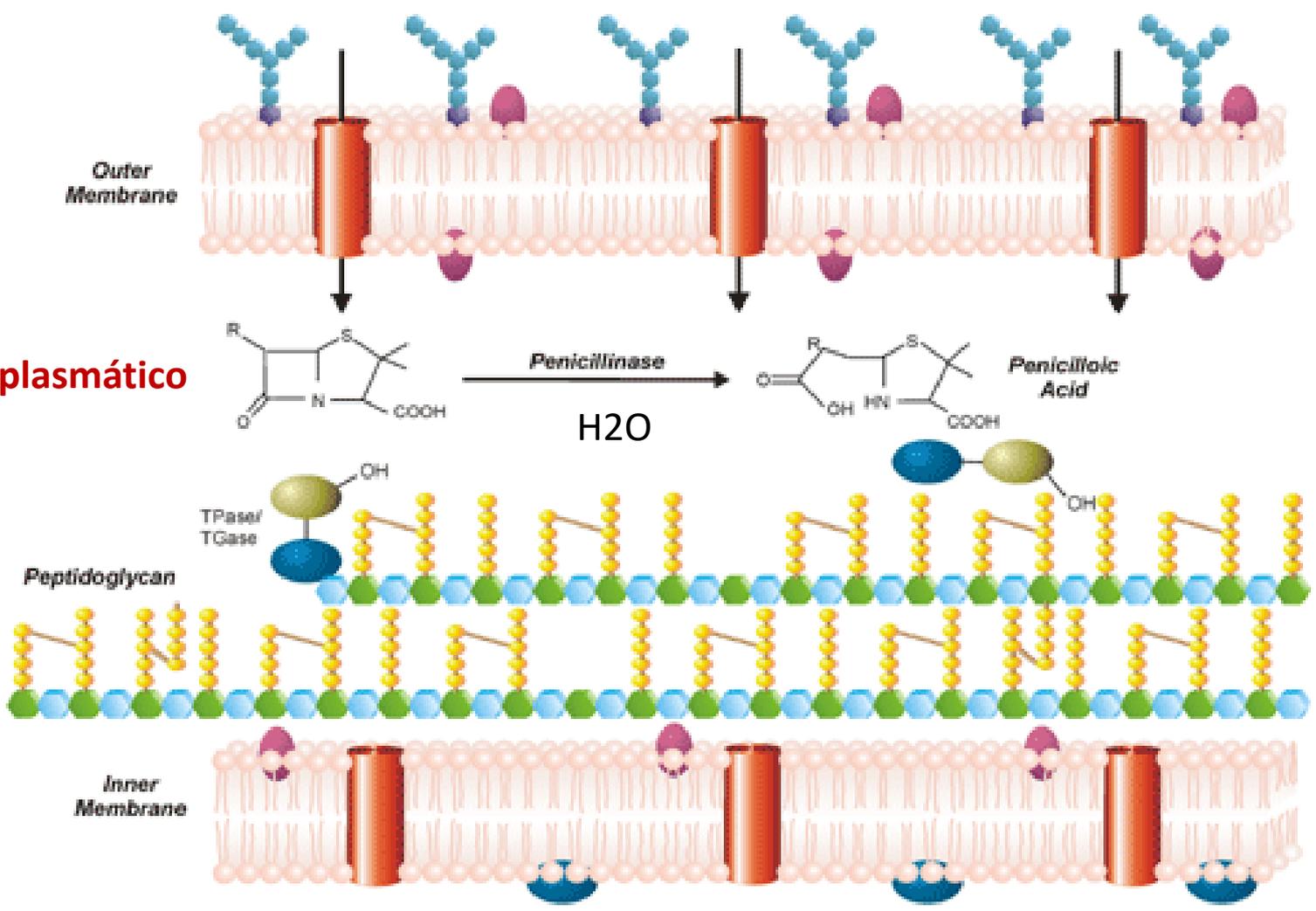


Bacteria releases  $\beta$ -lactamase, which is similar in structure to transpeptidase, has serine residue in active site, it opens up  $\beta$ -lactam ring of penicillin to form ester link to the structure. Penicillin is inactivated before reaches cell membrane.

\*This Mechanism of Action and Resistance also applies to Cephalosporin

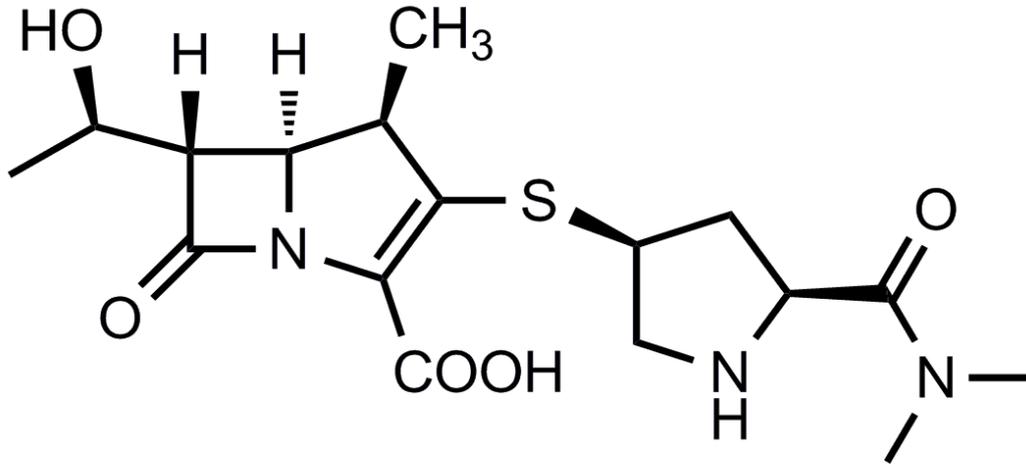
# Beta-lactamase

Espaço periplasmático



# Inibidores de Beta-lactamases

Substratos lentos de Beta lactamases

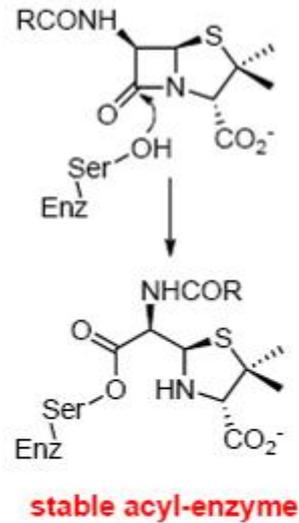


**meropenem**

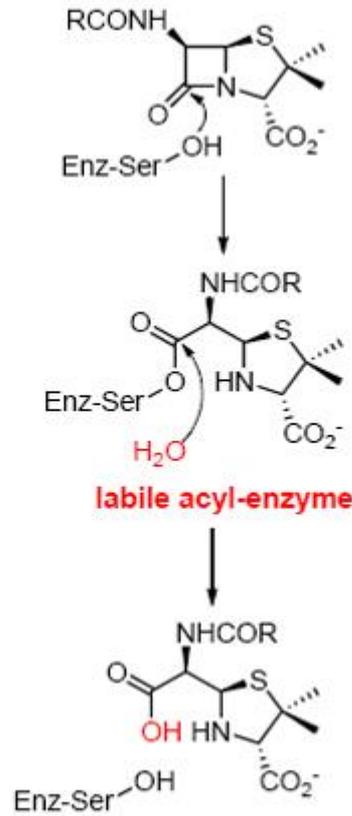
Não interagem com as PBPs.

# Inibidores de Beta-lactamases

## a) Transpeptidase

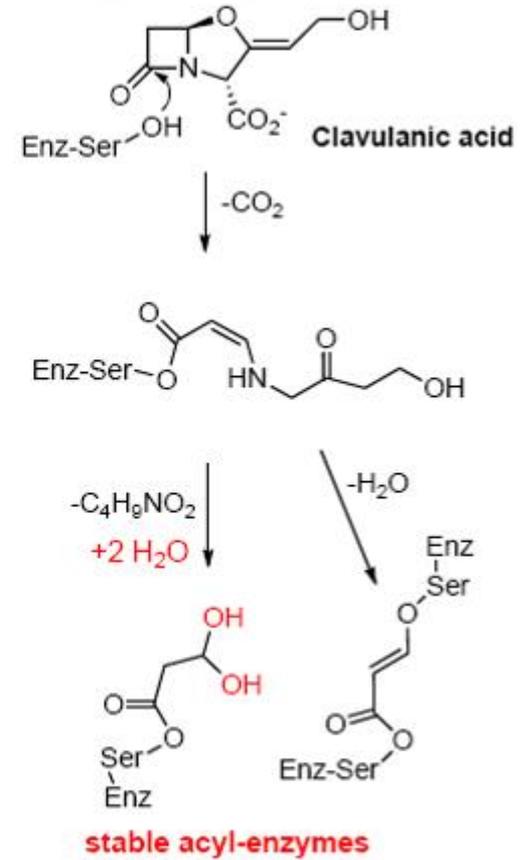


## b) Serine β-Lactamase



## Inibidores suicidas

### c) Serine β-Lactamase



**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

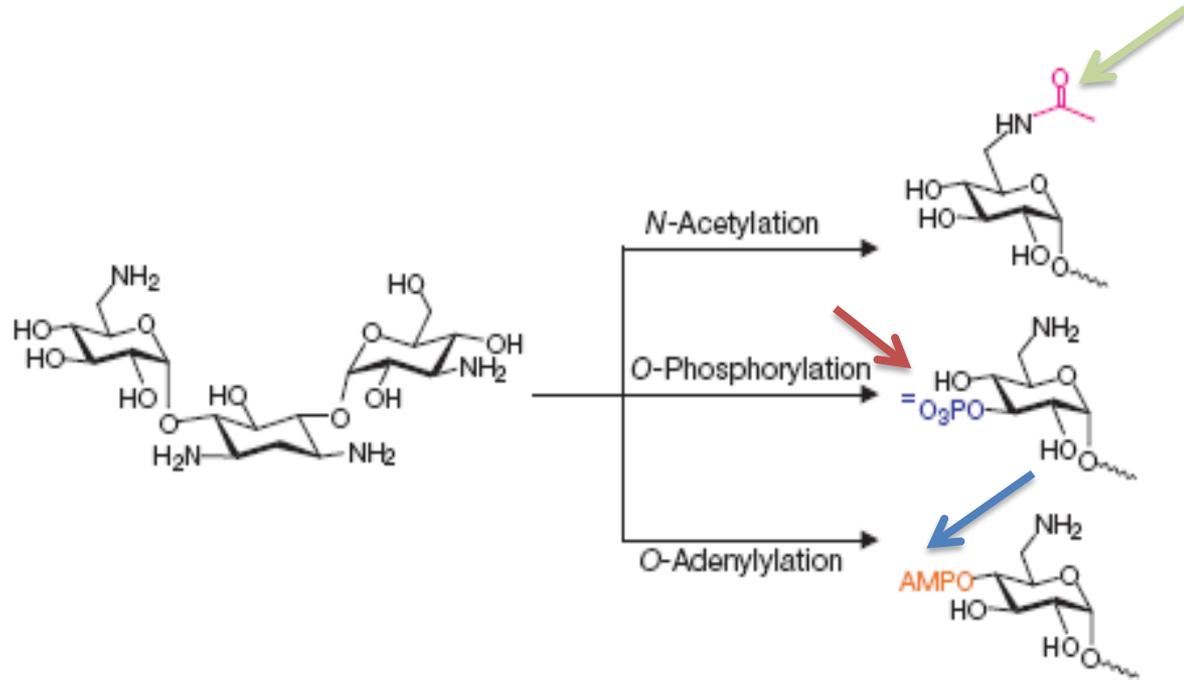
Store at controlled room temperature (20° to 25°C (77°F)). Dispense in original container; advise patients to keep in closed container. Each tablet contains 500 mg amoxicillin trihydrate and 125 mg clavulanate potassium. See prescribing information for complete information. See accompanying information. © 2006 GlaxoSmithKline, a division of GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC 27709. Rev 2/06. A 0098 33

LOT  
EXP.

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

## b. Resistência Mediada por Enzimas Inativadoras

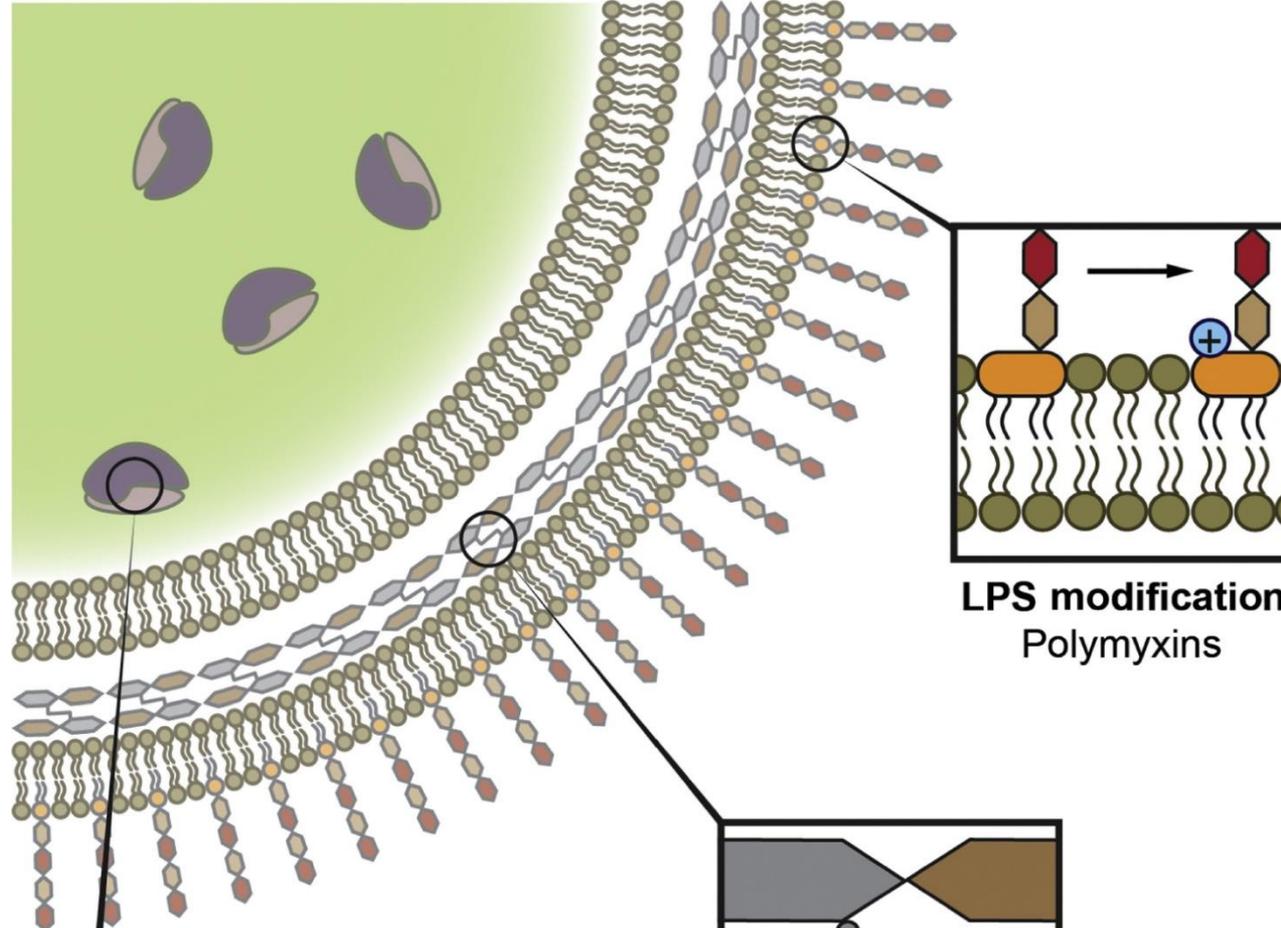
Aminoglicosídeos



# Mecanismos de Resistência

## 4. Modificar o alvo do antibiótico

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



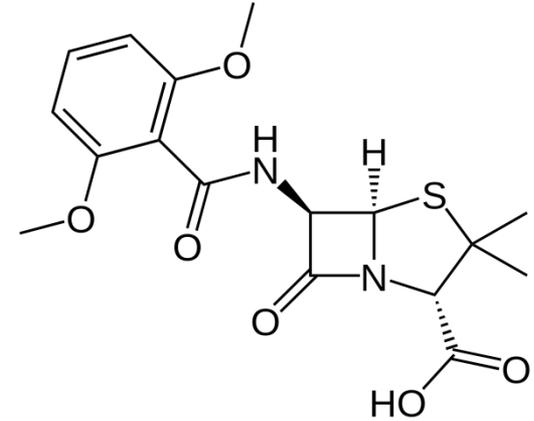
**LPS modification**  
Polymyxins

**D-Ala-D-Ala modification**  
Glycopeptides

**rRNA modification**  
Translation inhibitors

# Resistência a metilicina em *S. aureus*

## Surgimento dos MRSA

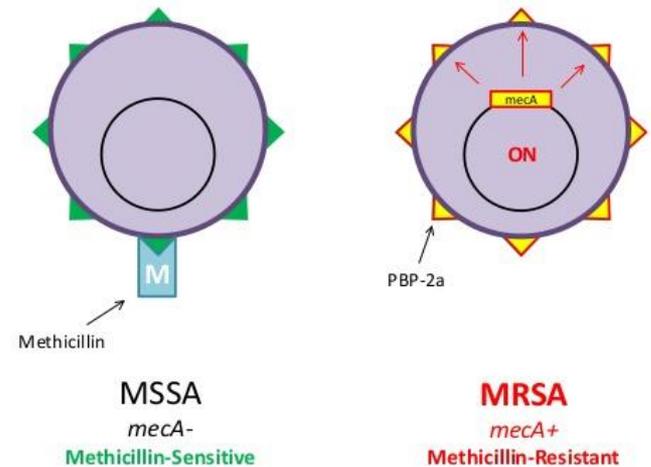
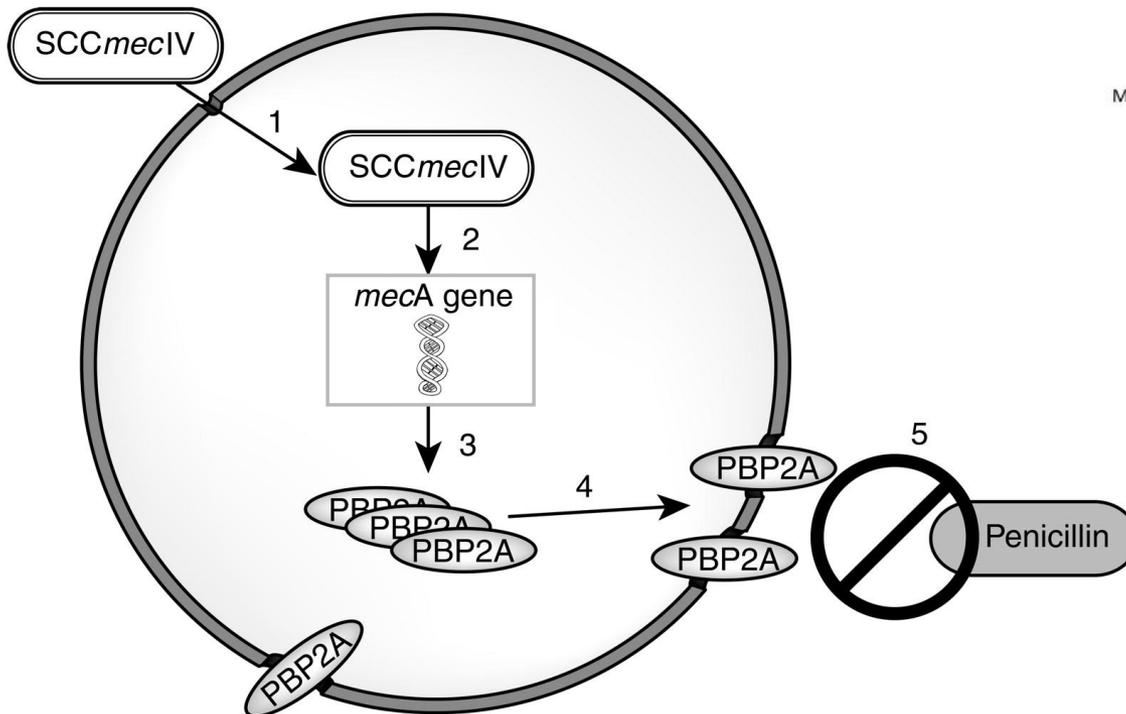


- MRSA é resistente a praticamente todos os beta lactâmicos
- Grave problema em centros de queimaduras
- Responsável por mais de 90% dos isolados clínicos de resistência
- Codifica a MecA (PBP2A) – uma PBP diferenciada de alto peso molecular
- MecA apresenta uma baixa afinidade por beta-lactâmicos e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

# Resistência a meticilina em *S. aureus*

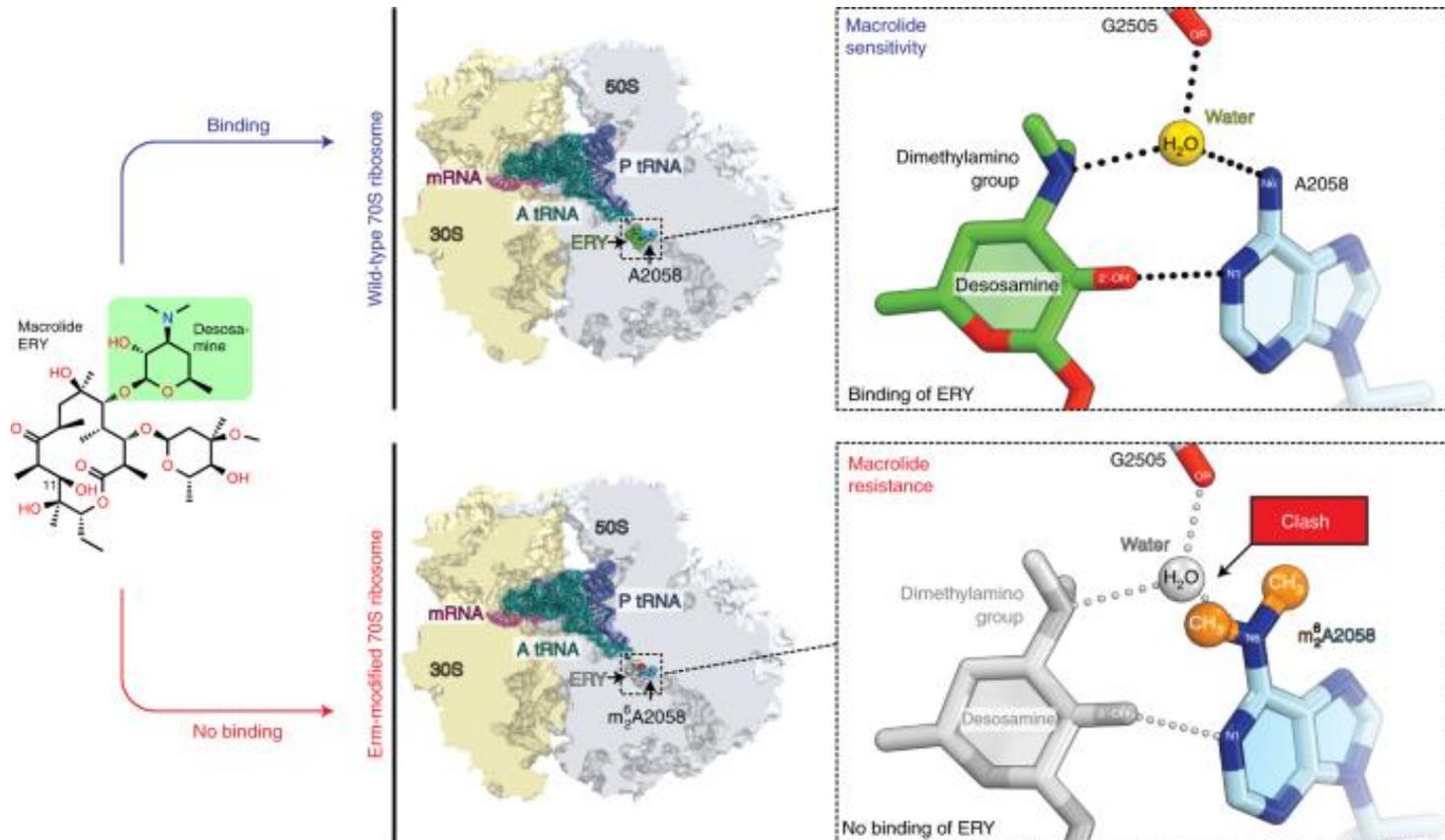
## *mecA*

*mecA*-encoded Methicillin Resistance

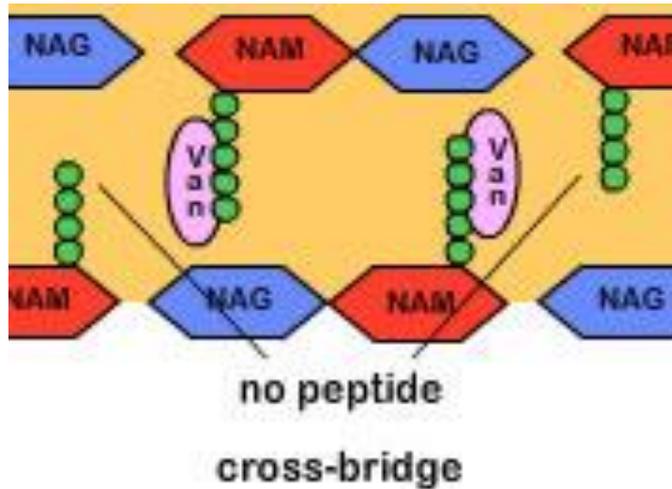


# Metilação do rRNA 23S causa resistência à macrolídeos

- 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* (produtor da eritromicina)

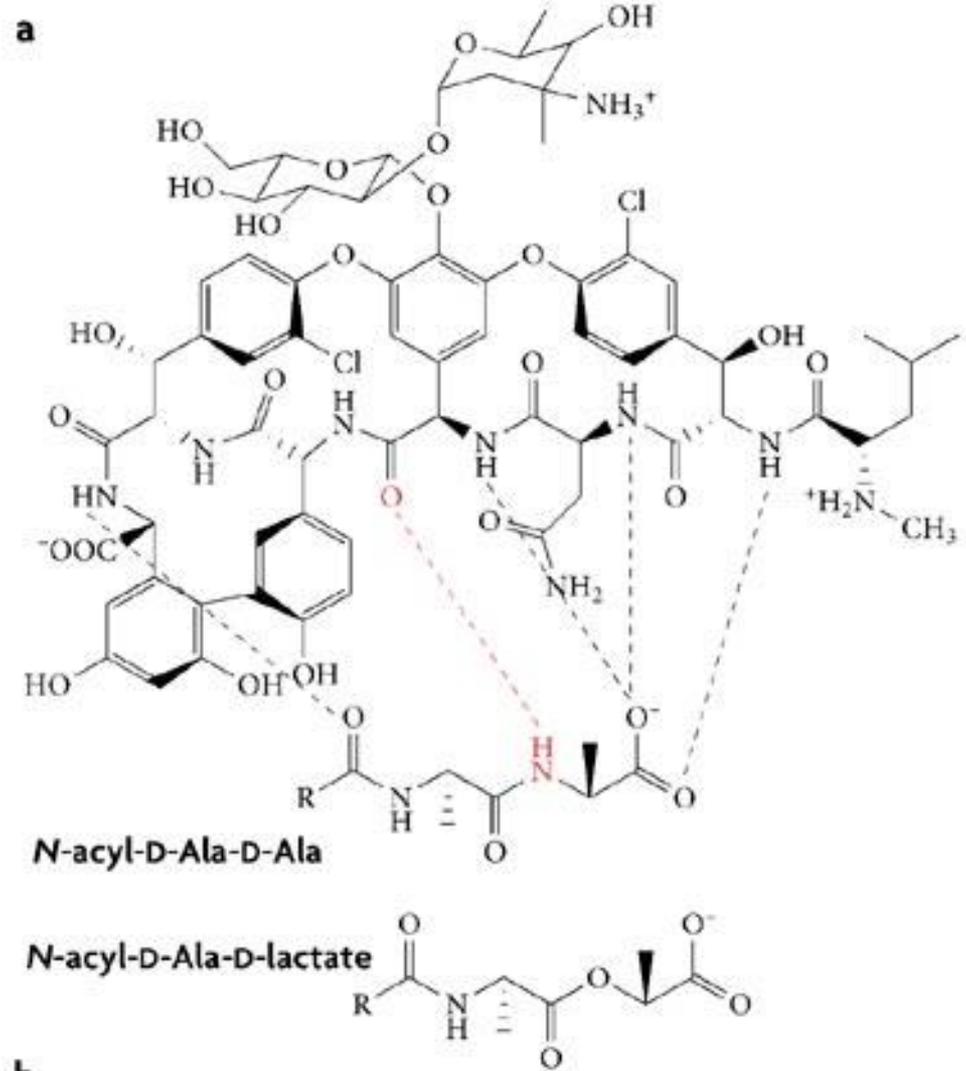


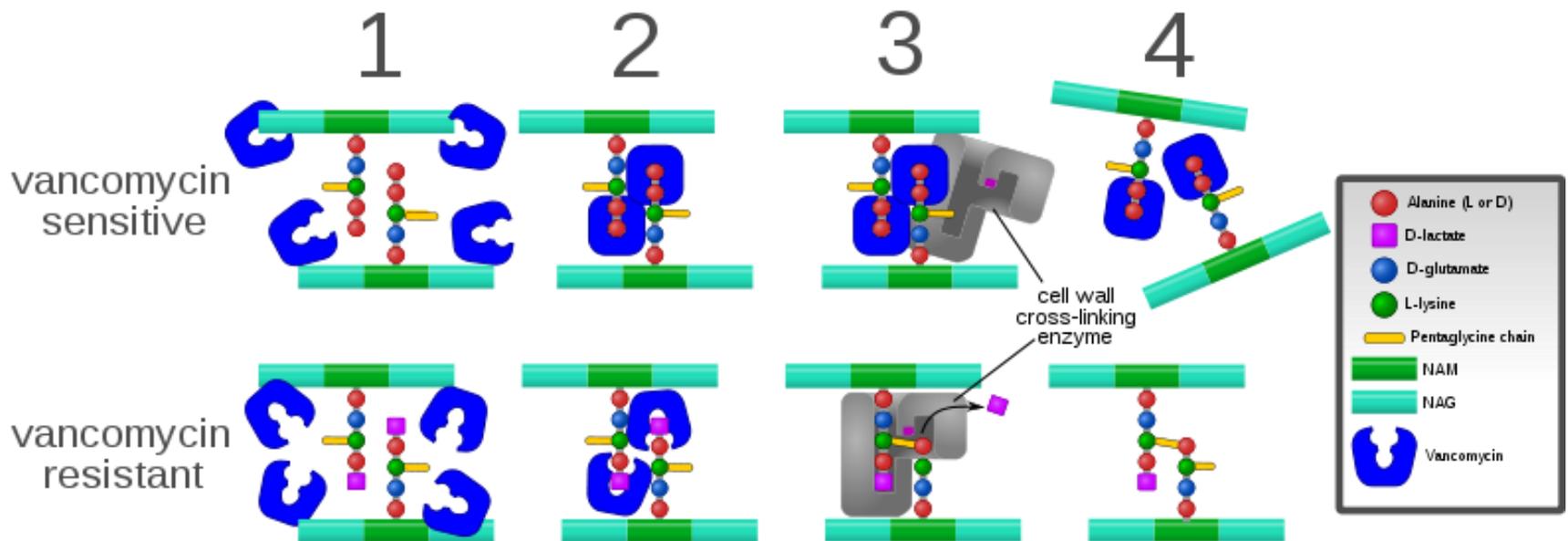
# Mecanismo de resistência a vancomicina em estafilococos



-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

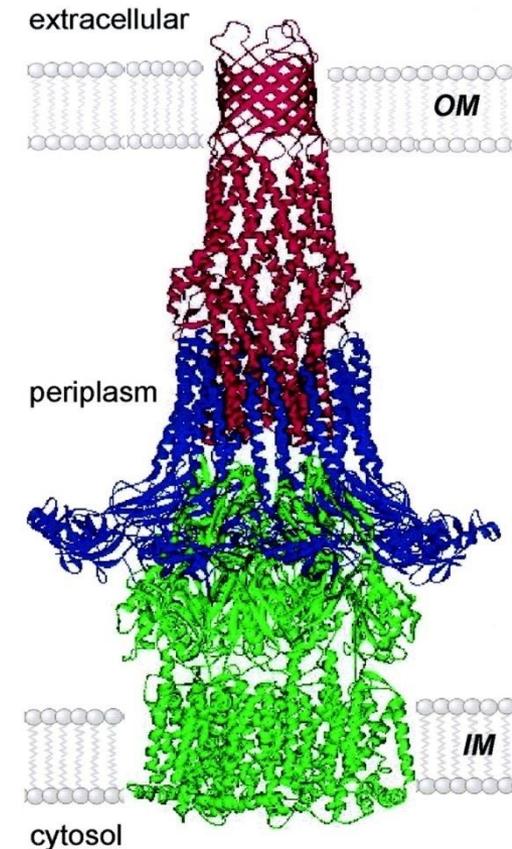
## *5. Desenvolve uma rota bioquímica alternativa*

- Modificam seu metabolismo, conseguem captar o ácido fólico do meio externo
- Obtem uma enzima alternativa por plasmídeo R
- Resistência a sulfas (inibe a síntese de ácido fólico em bactérias)

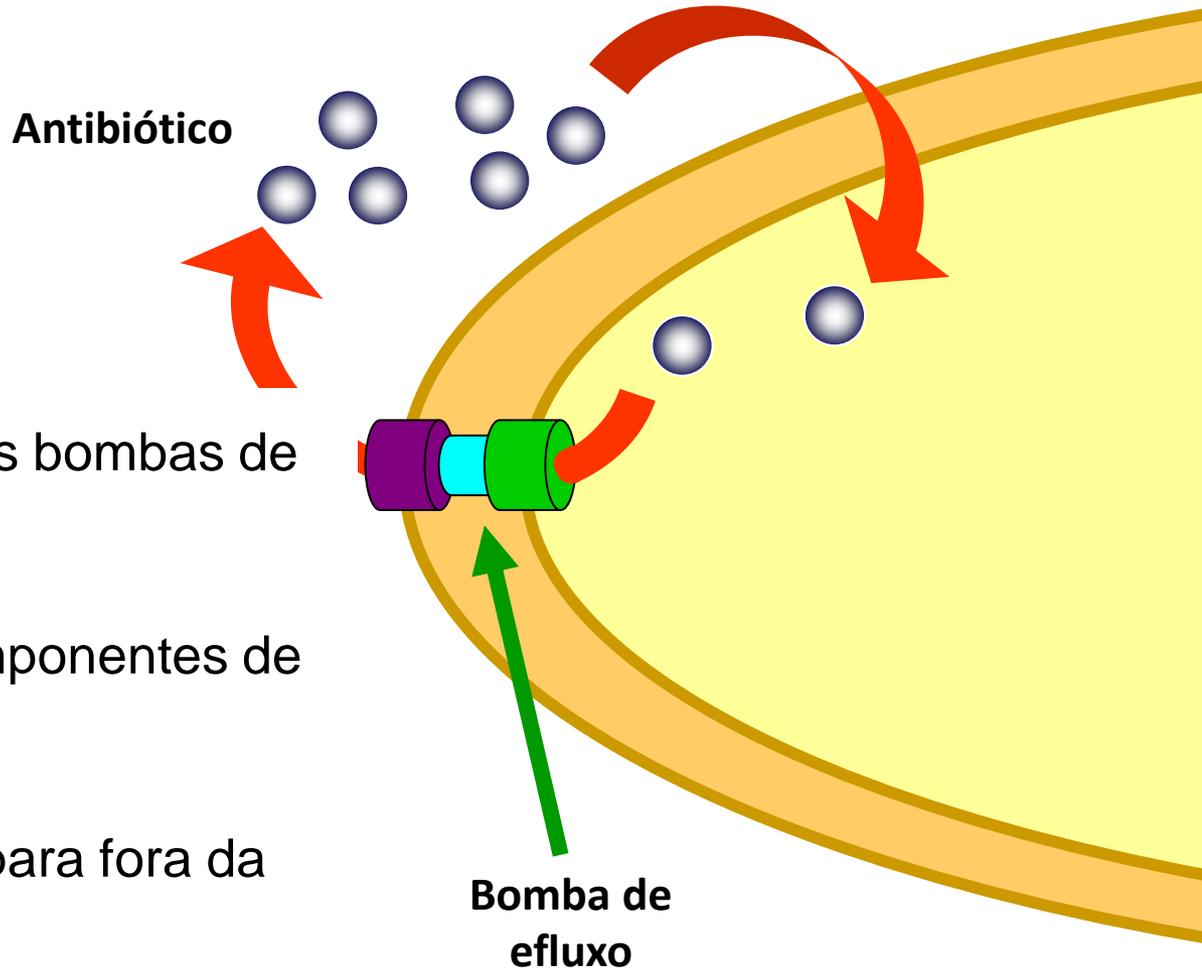
# Mecanismos de Resistência

## 6. Bombear o antibiótico para fora (efluxo)

- Bombas de efluxo são proteínas transmembranas 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 especificidade estreita ou ampla
- Pseudomonas aeruginosa* é intrinsicamente insensível a antibióticos
- Aquisição por genes em plasmídeos ou transposons



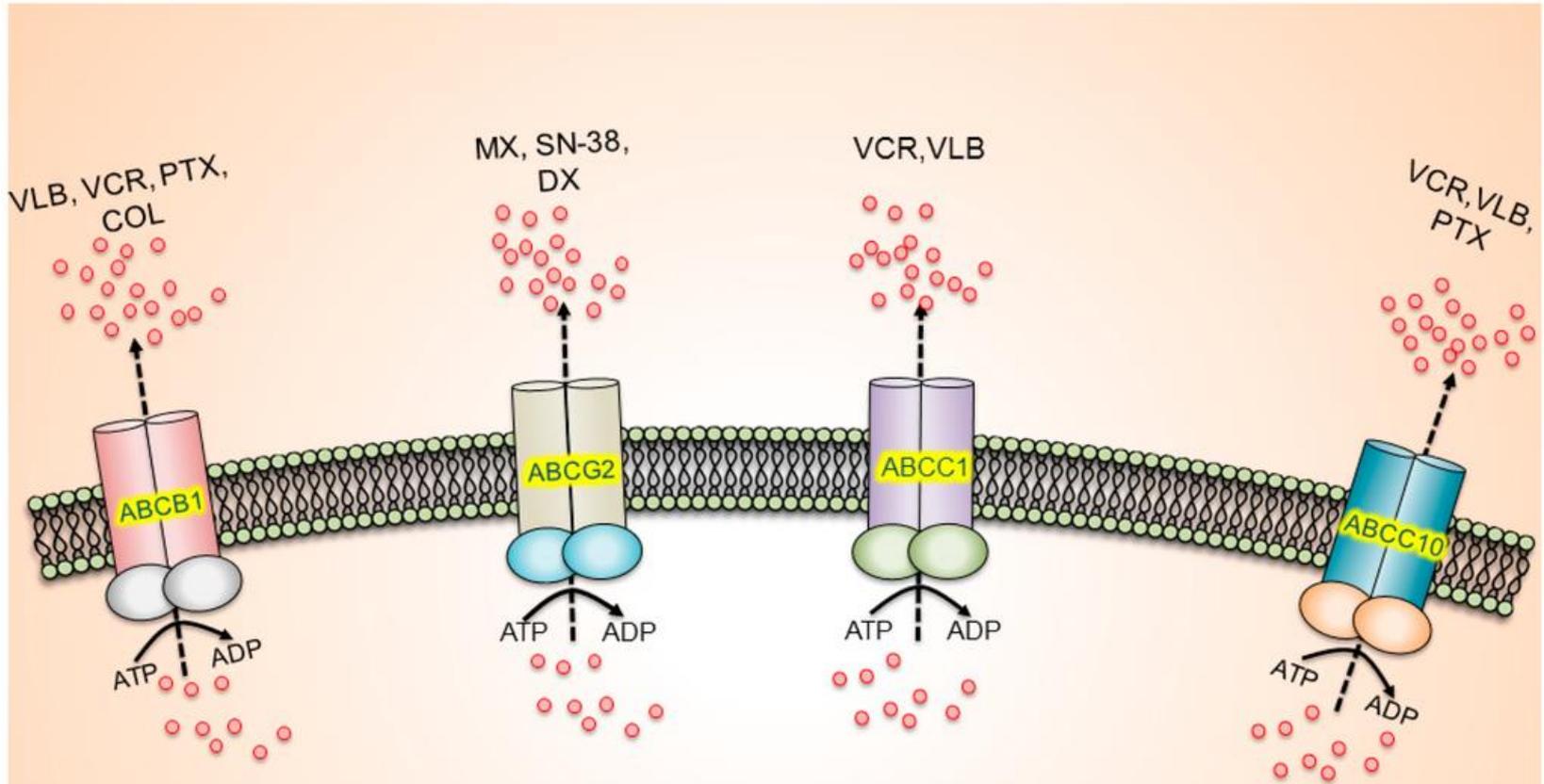
# Mecanismo de Resistência por Sistema de Efluxo



- 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



# Origem da Resistência a Antibióticos

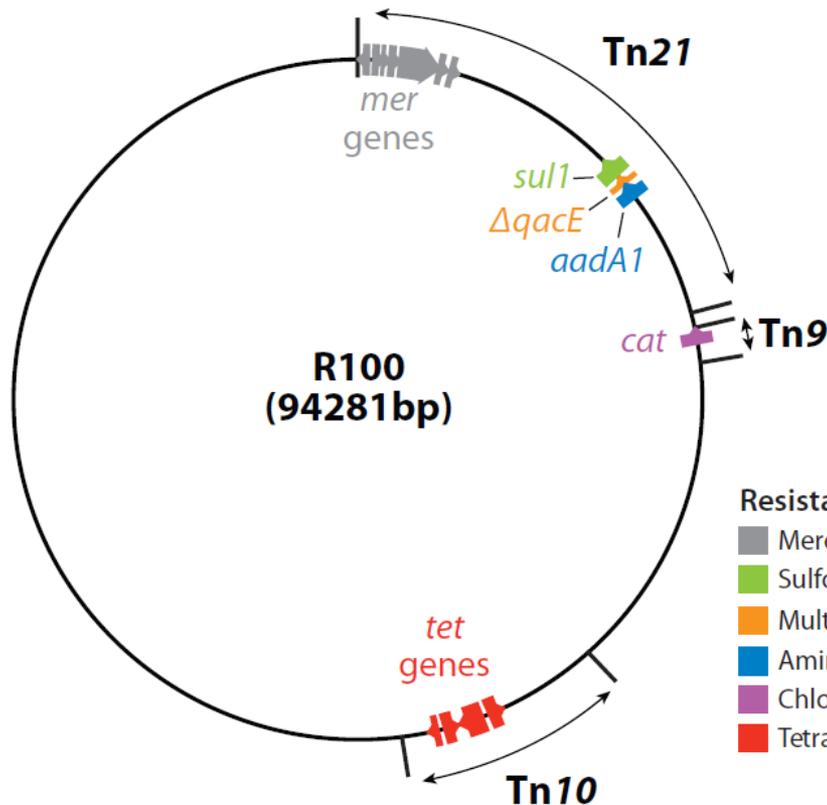
# Aspectos Relacionados à Resistência aos Antibióticos em Bactérias

## □ Origem da Resistência

- resistência cromossomal
- resistência plasmideal

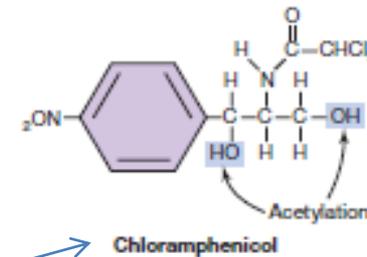
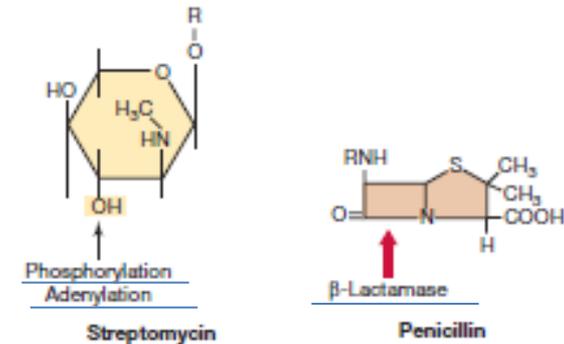
# Cepas Bacterianas Isoladas a partir de Espécimes Clínicos

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



### Resistance genes:

- Mercury
- Sulfonamide
- Multidrug (defective)
- Aminoglycosides
- Chloramphenicol
- Tetracycline

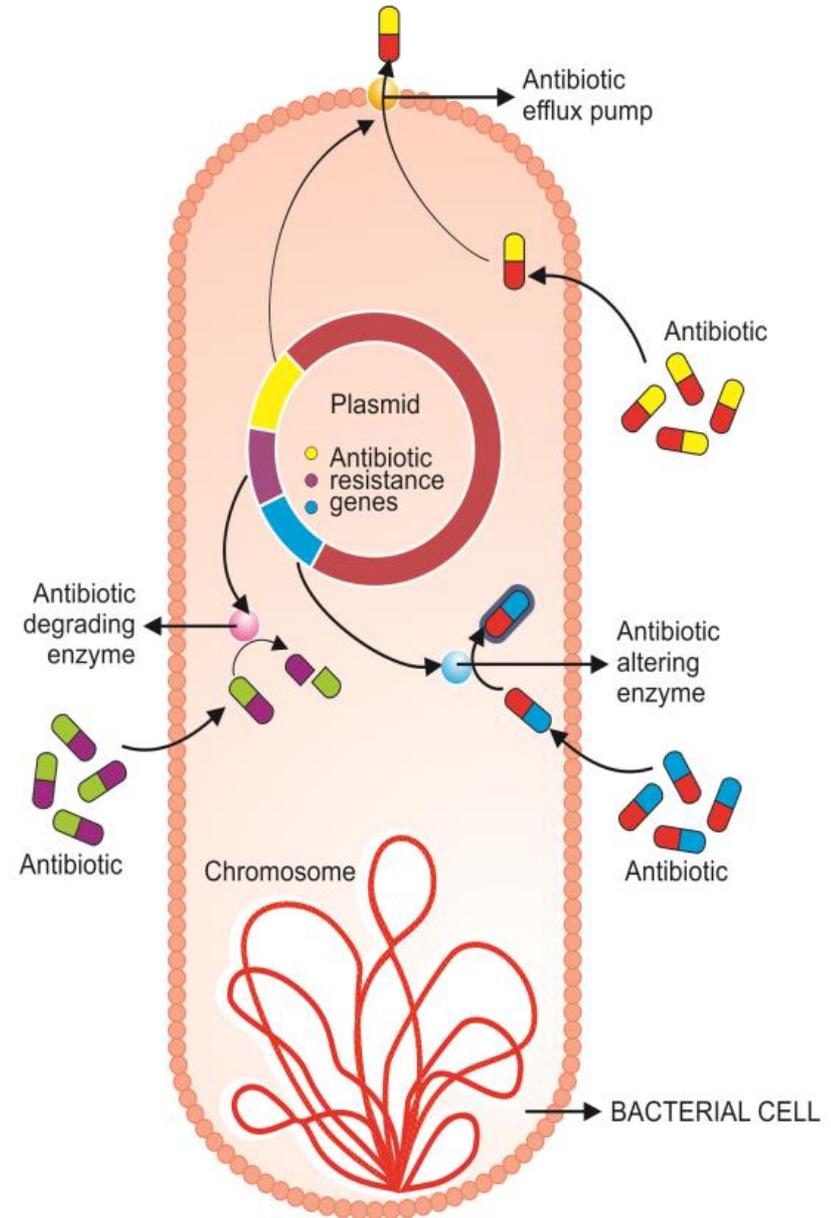


- Estreptomicina, neomicina, canamicina, espectinomicina
- Estruturas similares
- Enzima que as fosforilam e as inativam

# Origem dos Plasmídeos de Resistência

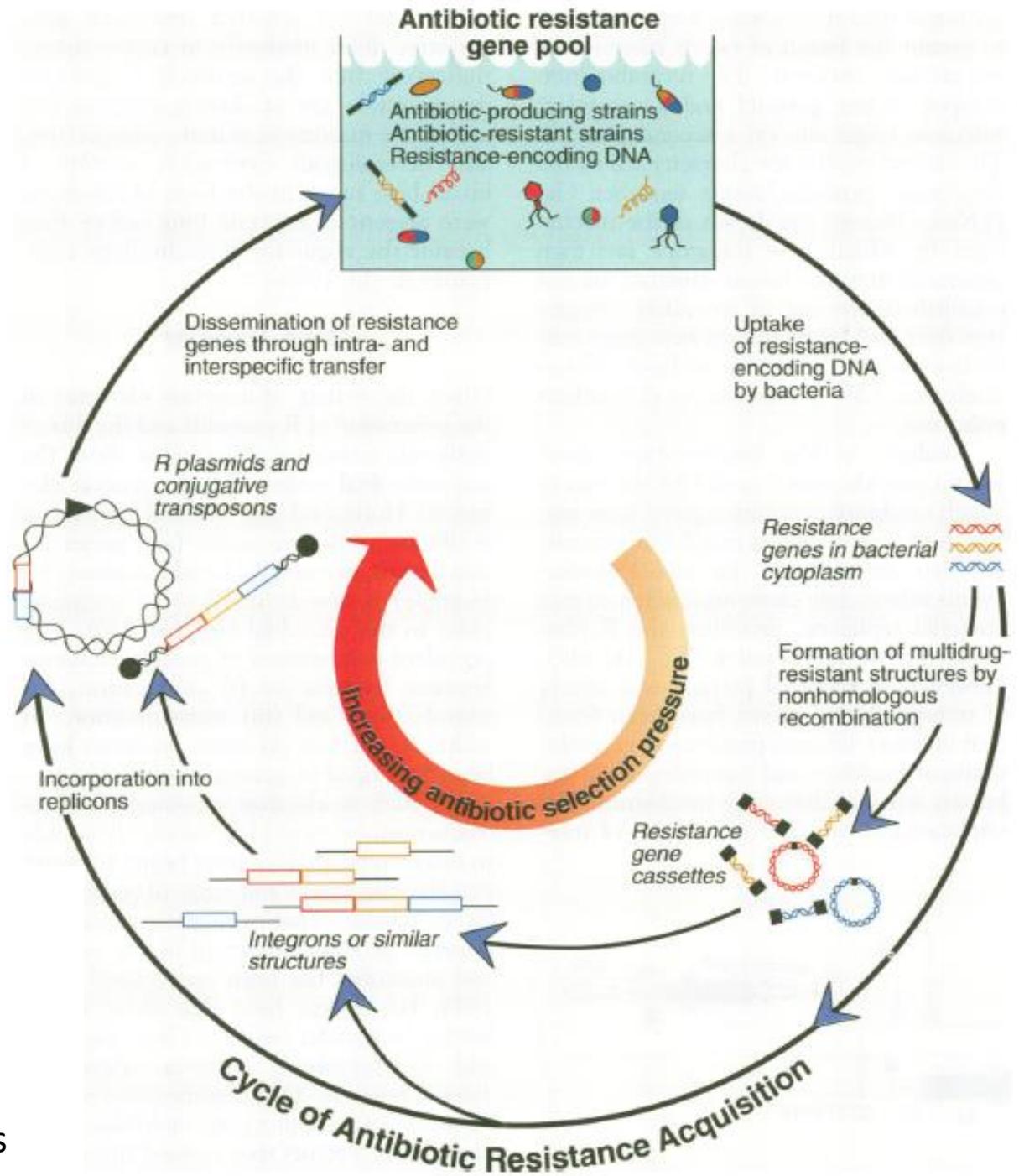
Uma linhagem de *E. coli* congelada e desidratada em 1946 continha um plasmídeo R com resistência a tetraciclina e estreptomicina

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

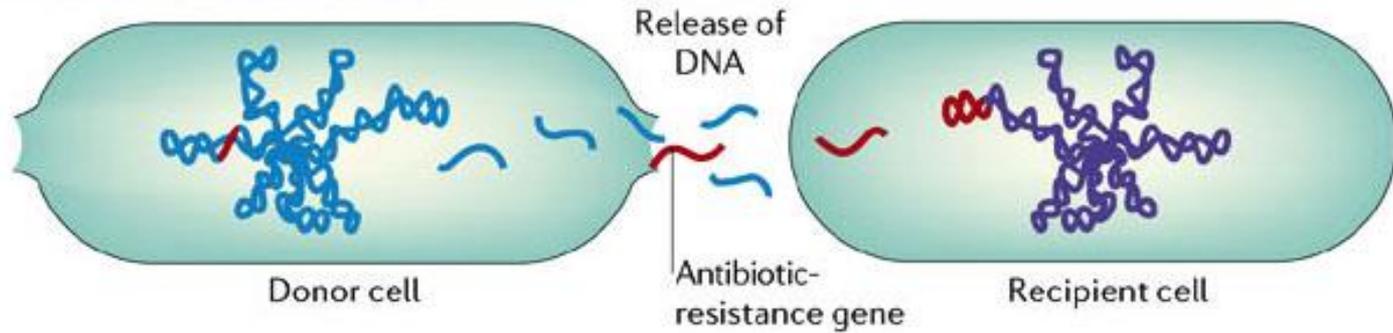


### Integrons:

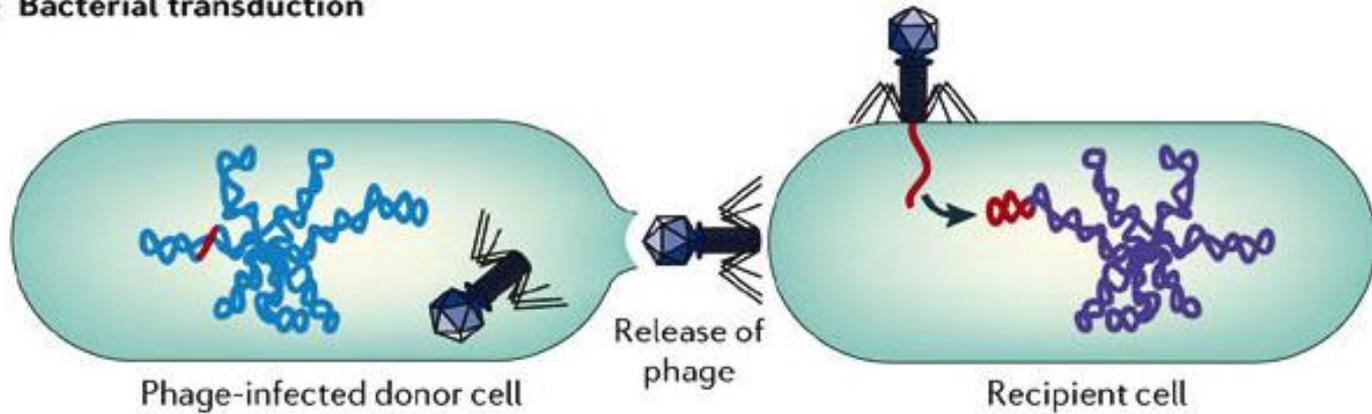
Elementos genéticos que coletam e expressam genes localizados em segmentos móveis de DNA (cassets)  
 E contém regiões promotoras

# Transmissão Horizontal

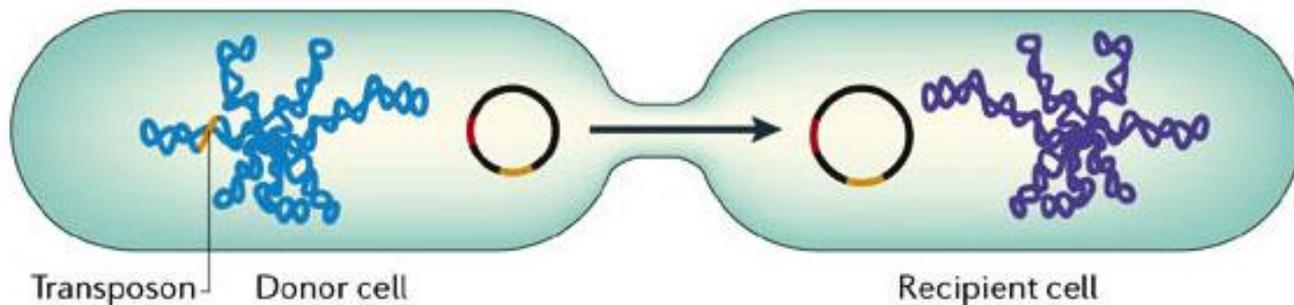
## a Bacterial transformation



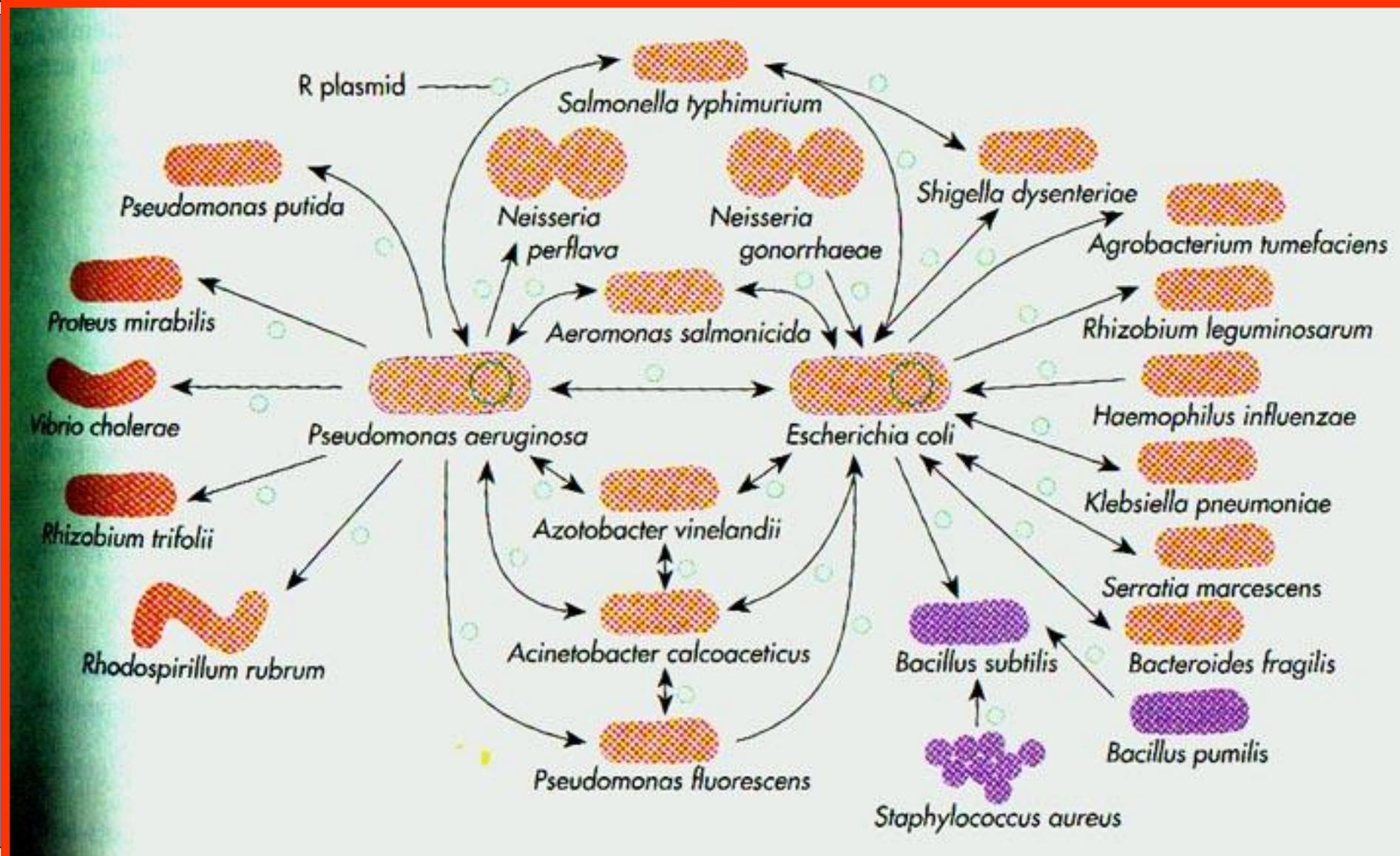
## b Bacterial transduction



## c Bacterial conjugation

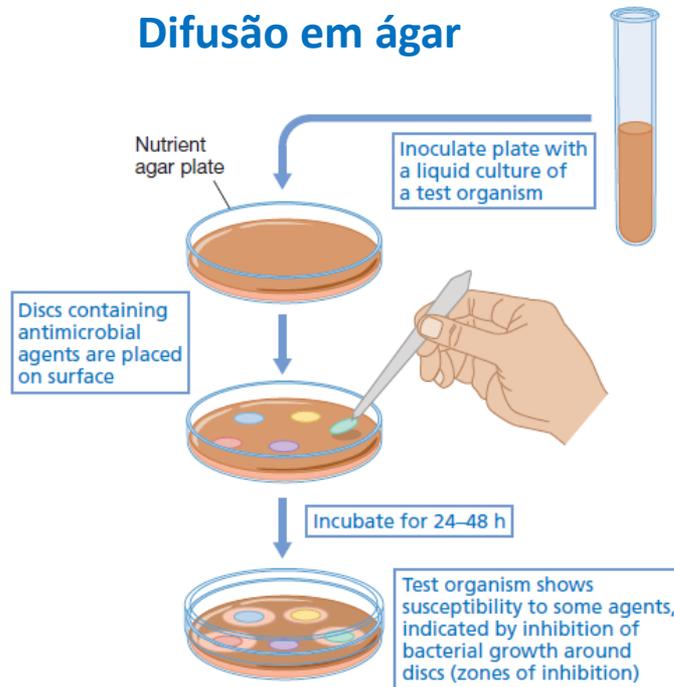


# Transmissão horizontal da resistência bacteriana



# 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

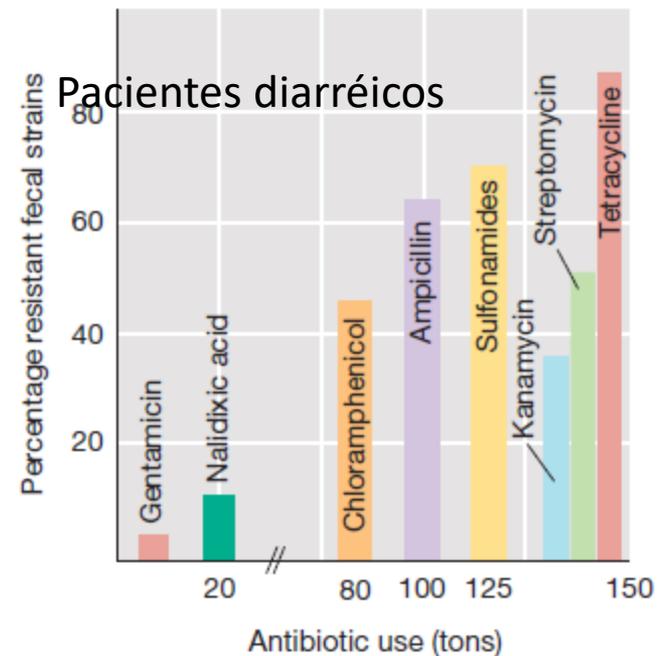


# Alguns Fatores que Favorecem a Disseminação dos Plasmídeos R

- 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

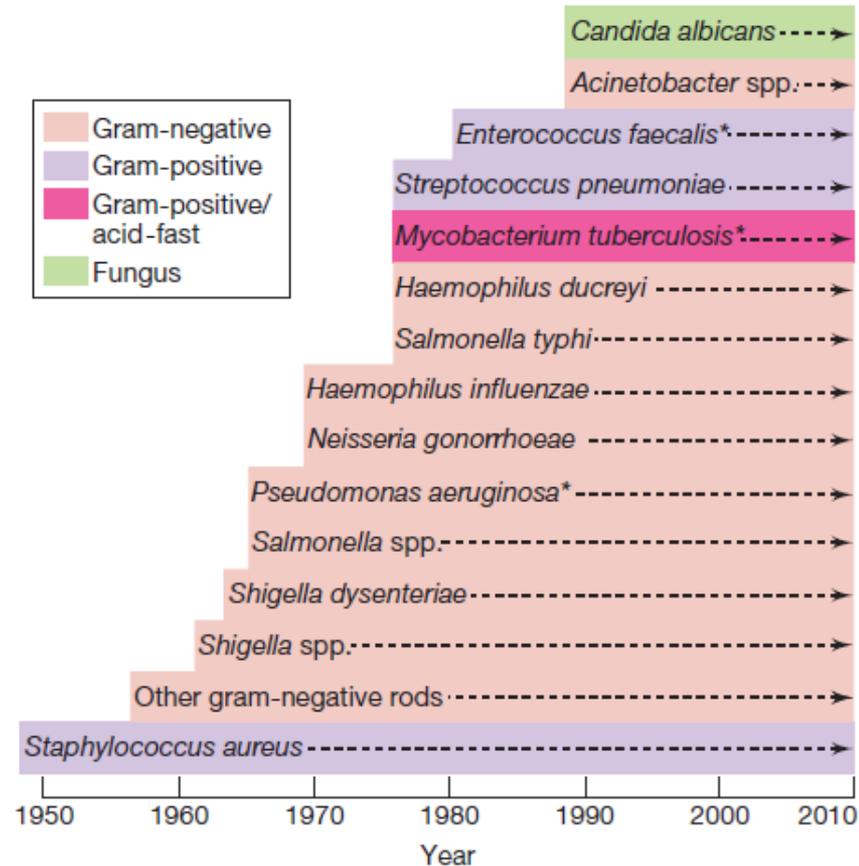


# Patógenos Resistentes

- Todos os microrganismos patogênicos desenvolverão resistência a Alguém Antibiótico

A maioria dos patógenos são resistentes a sulfas e a penicilina

Os primeiros fármacos utilizados (depois 1950)





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