

# Antimicrobianos: Resistência Bacteriana

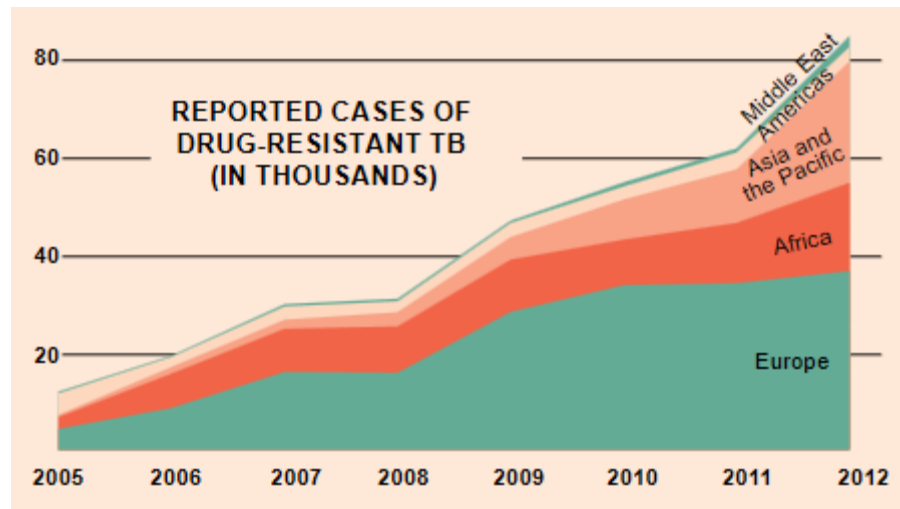
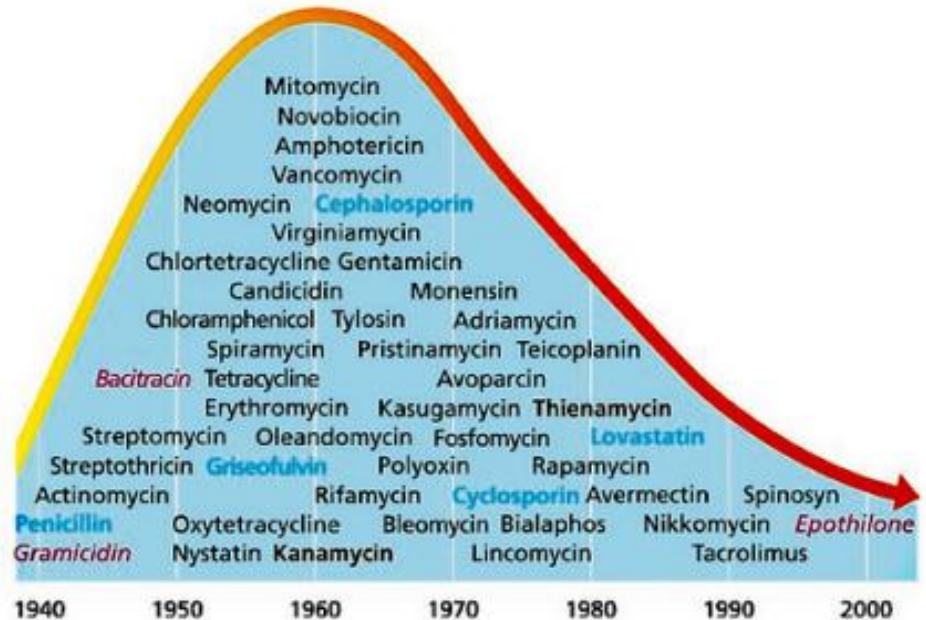
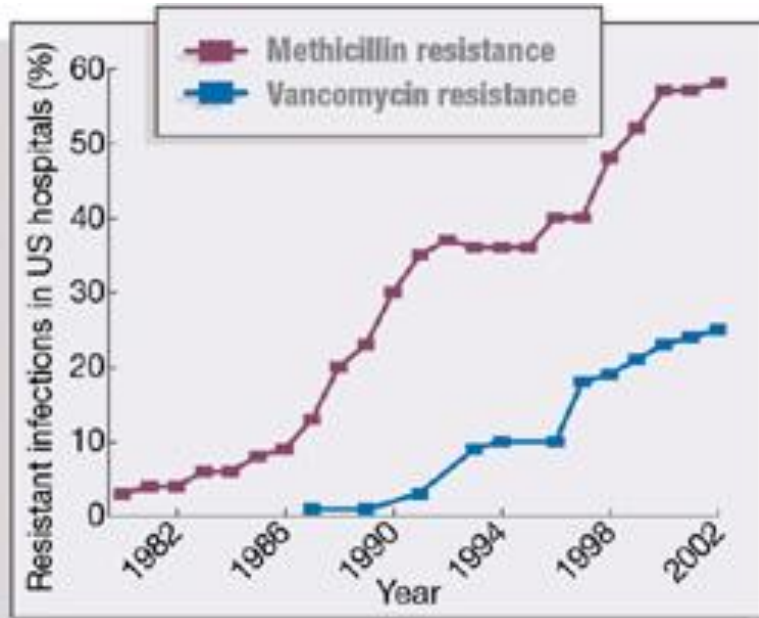
Prof. Marcio Dias



# Resistência

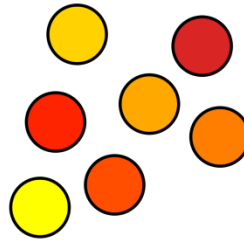
- Capacidade adquirida de resistir aos efeitos de um agente quimioterápico, normalmente um organismo que era inicialmente sensível.
- Como eles adquiriram?
  - Desenvolvendo mecanismos para se proteger do próprio antibiótico que ele sintetizou
  - Adquirindo por transferência horizontal de outro organismo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

# Quando a resistência a antimicrobianos surgiu?



# Seleção e mutação

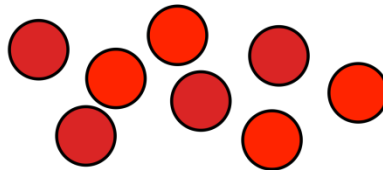
Before selection



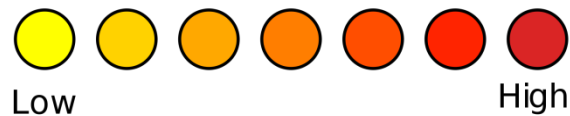
After selection



Final population

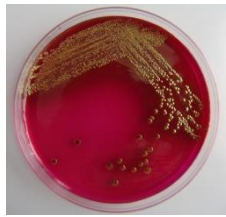


Resistance level

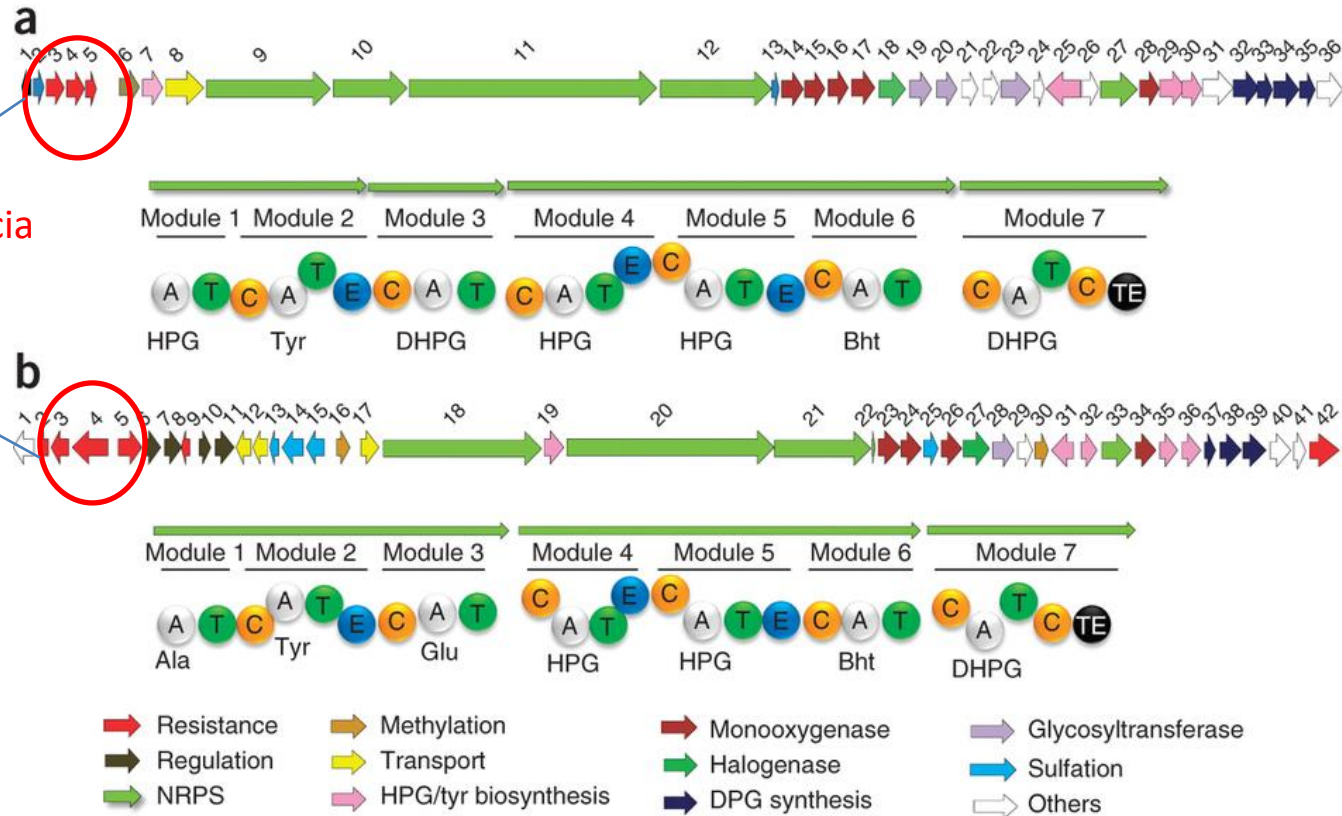




*Streptomyces sp.*



Transferência  
gênica  
horizontal

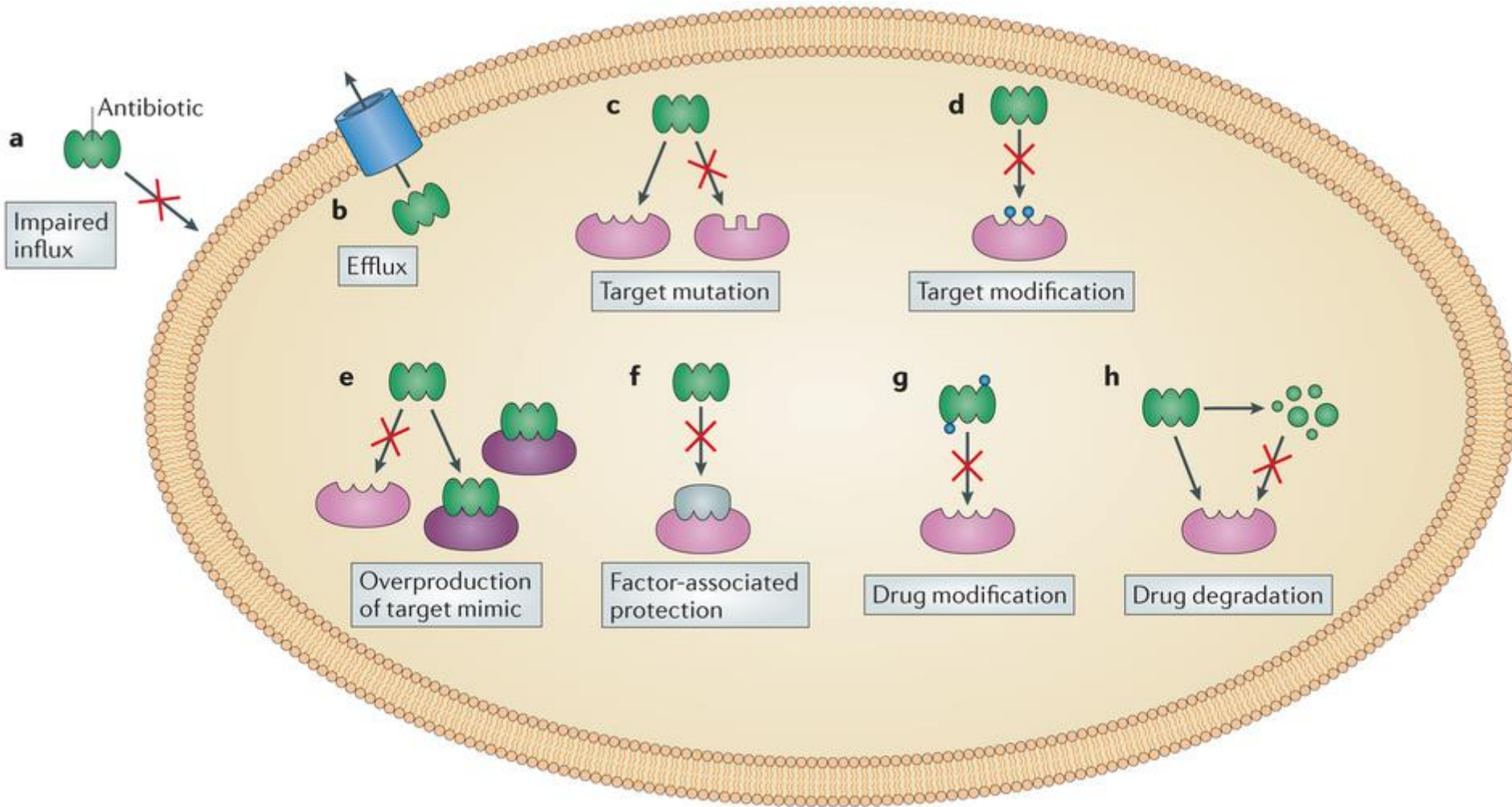


# Mecanismos de Resistência

## 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

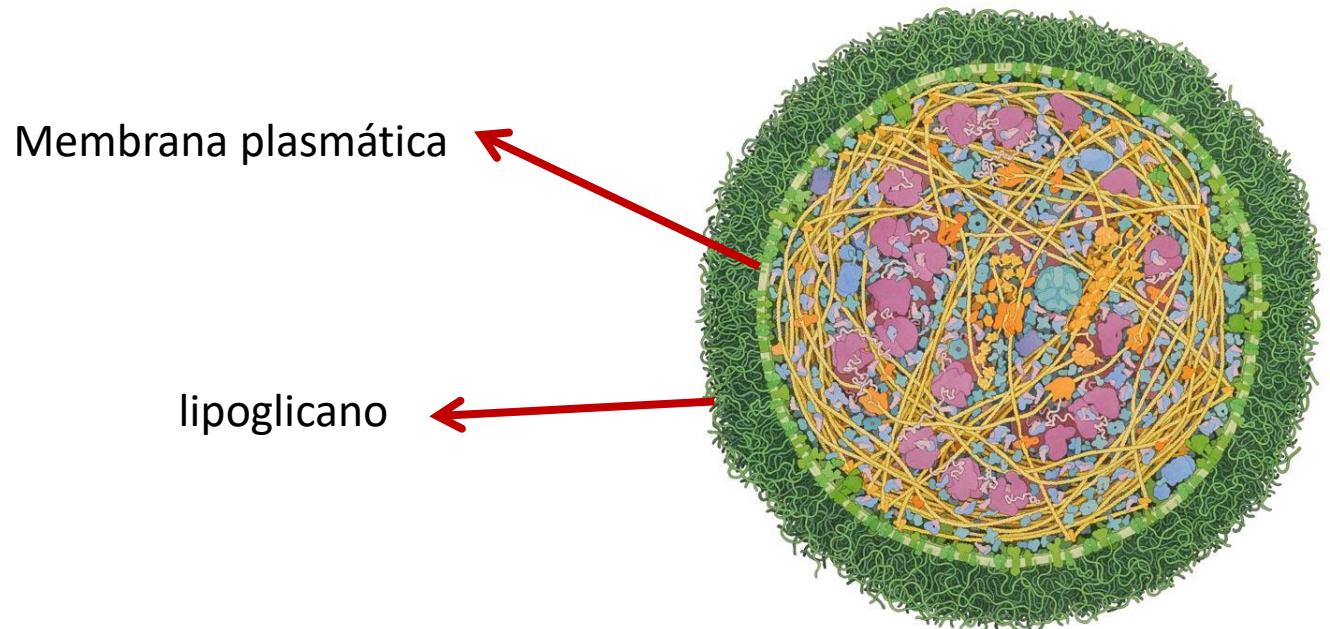
# Mecanismos de Resistência



# Mecanismos de Resistência

## 1. Naturalmente resistentes

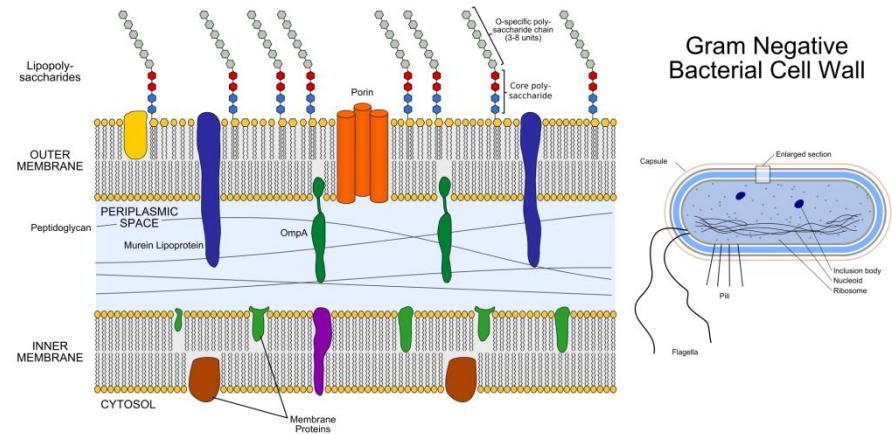
- Organismos desprovidos da estrutura inibida pelo antibiótico
- Micoplasmas (desprovidos de parede celular) – resistentes a penicilina



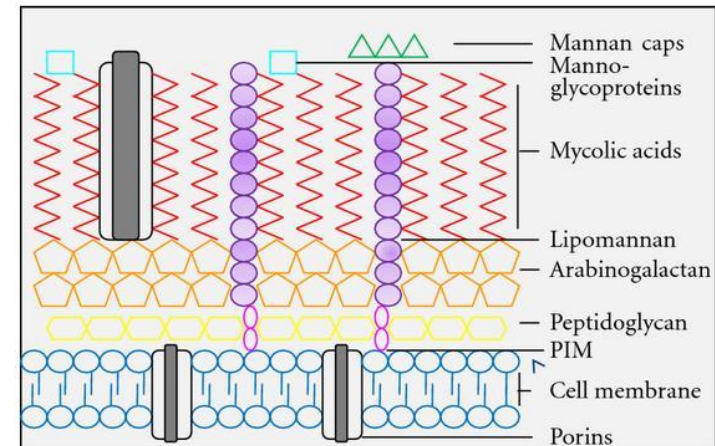


# 2 . Alteração na permeabilidade de membrana

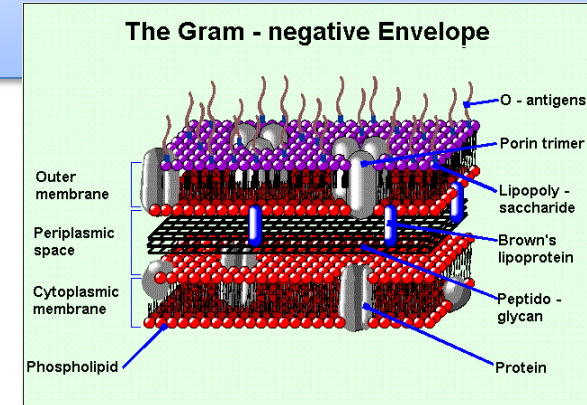
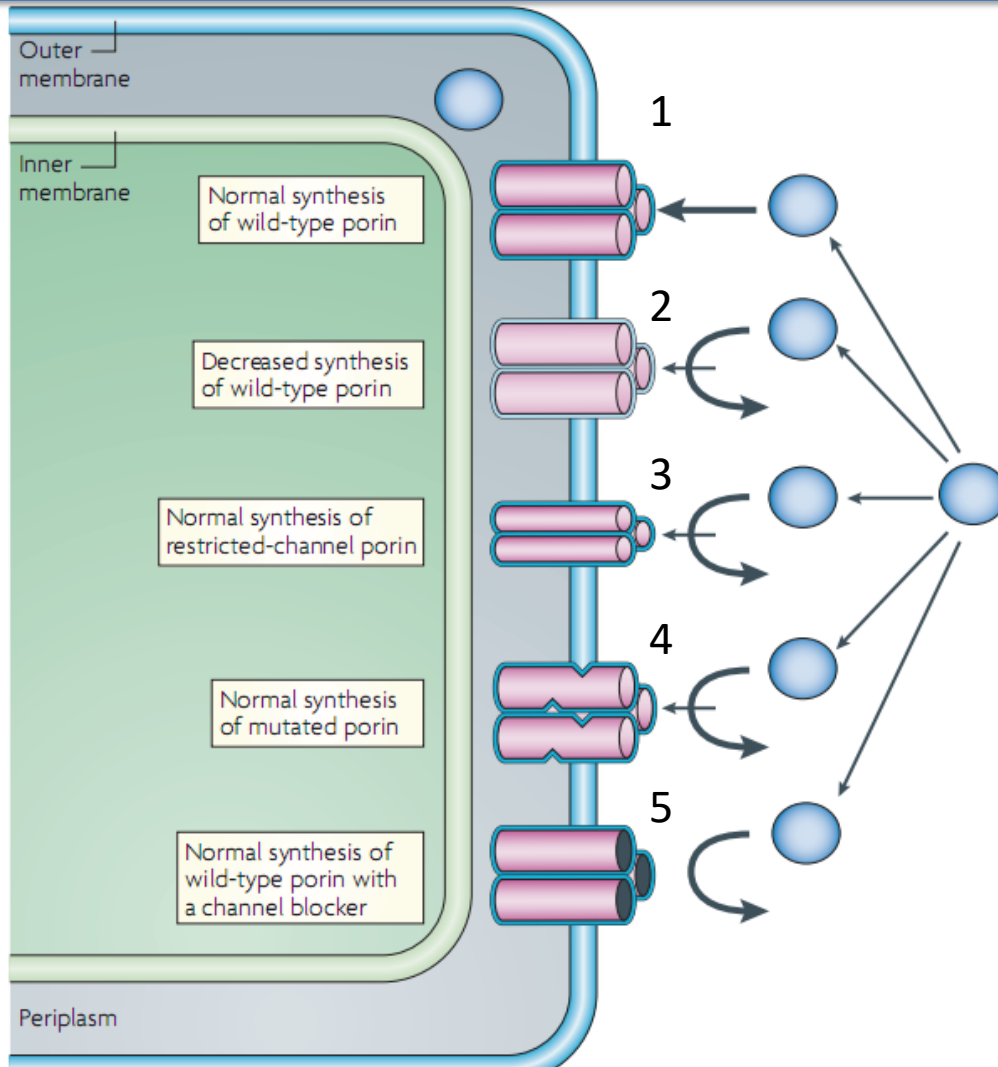
- Bactérias Gram negativas
- Impermeáveis a penicilina G



- *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)

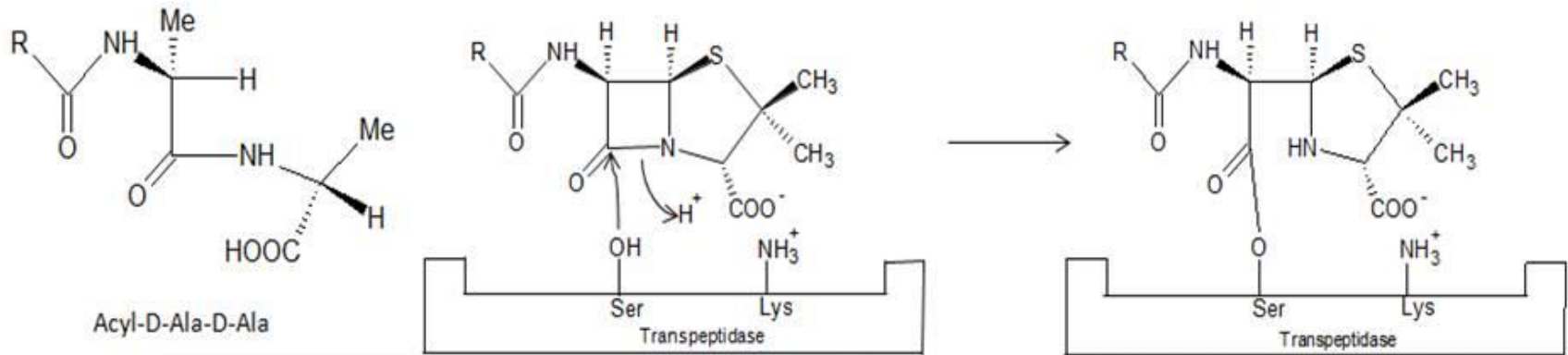
# Mecanismos de Resistência

## *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

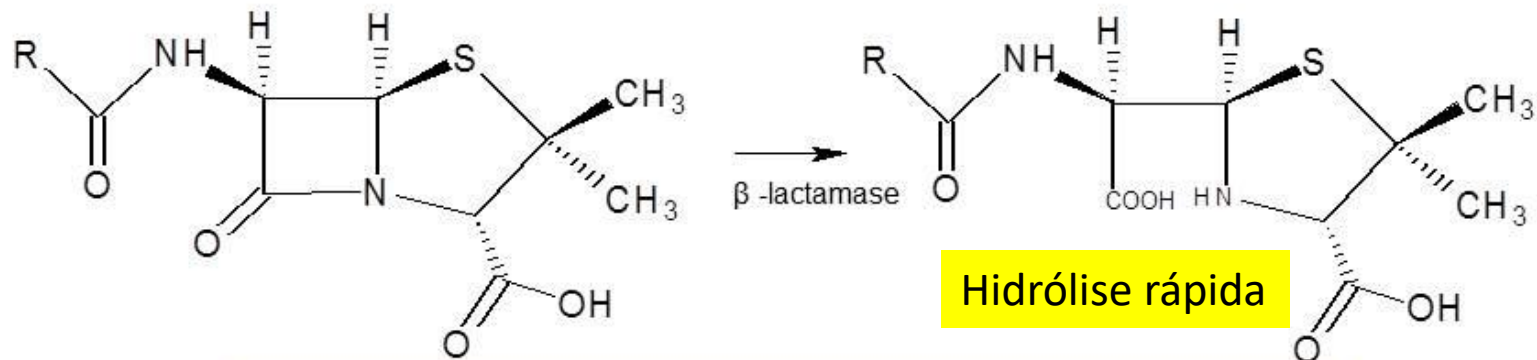
## Mechanism of Action of Penicillin



• 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

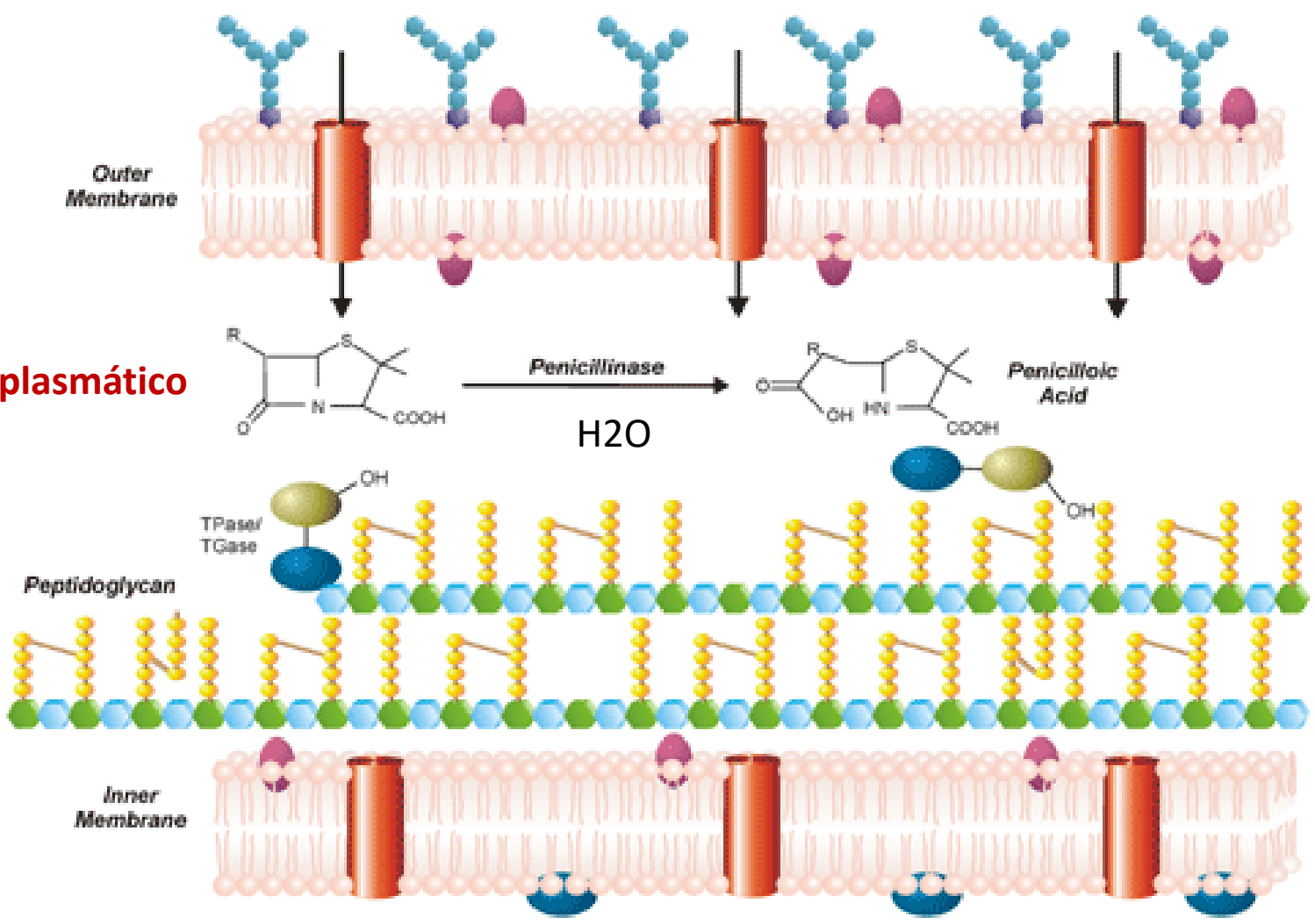


Bacteria releases  $\beta$ -lactamase, which is similar in structure to transpeptidase, has serine residue in active site, it opens up  $\beta$ -lactam ring of penicillin to form ester link to the structure. Penicillin is inactivated before reaches cell membrane.

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

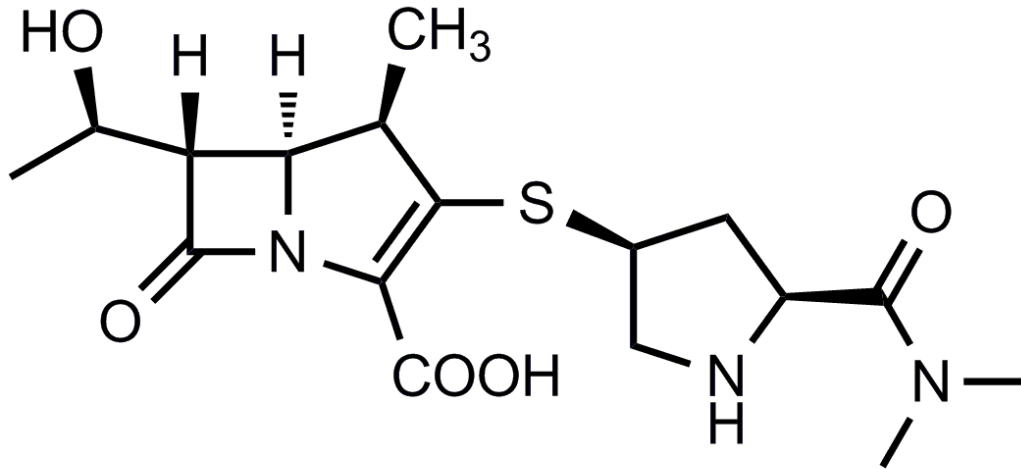
# Beta-lactamase

**Espaço periplasmático**



# Inibidores de Beta-lactamases

Substratos lentos de Beta lactamases

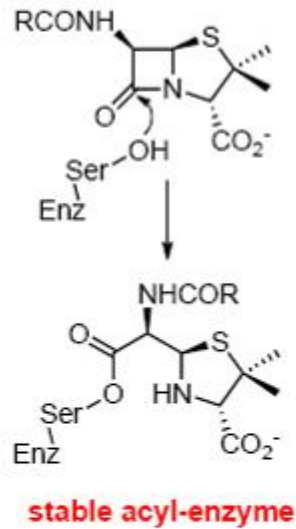


**meropenem**

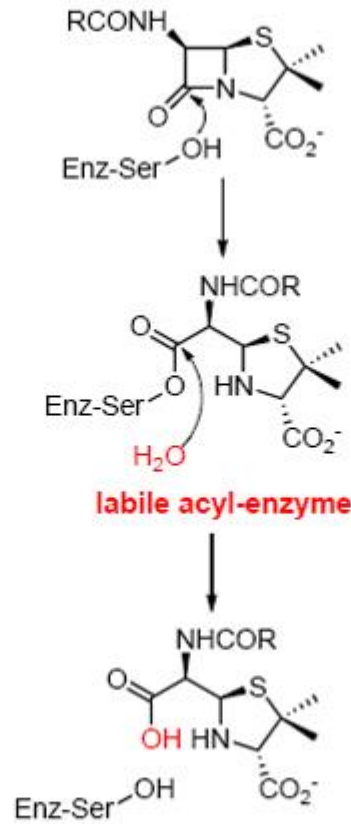
Não interagem com as PBPs.

# Inibidores de Beta-lactamases

## a) Transpeptidase

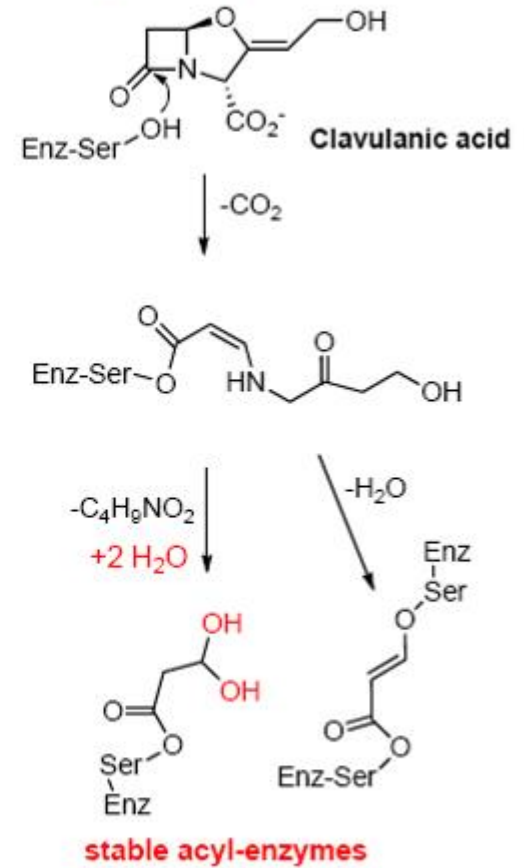


## b) Serine β-Lactamase



## Inibidores suicidas

### c) Serine β-Lactamase



**500 mg**  
NDC 0029-6080-12

**AUGMENTIN®**  
AMOXICILLIN/CLAVULANATE  
POTASSIUM TABLETS

AMOXICILLIN, 500 MG,  
as the trihydrate  
CLAVULANIC ACID, 125 MG,  
as clavulanate potassium

**20 Tablets**

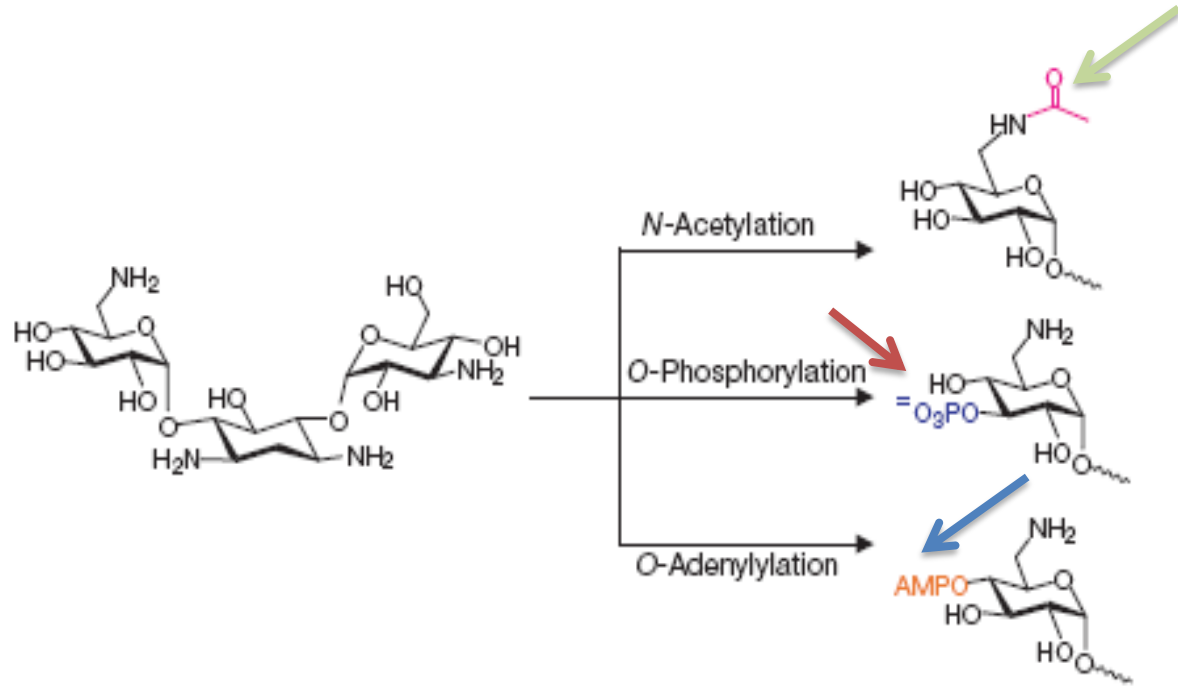
GlaxoSmithKline

LOT  
EXP.

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

## b. Resistência Mediada por Enzimas Inativadoras

Aminoglicosídeos

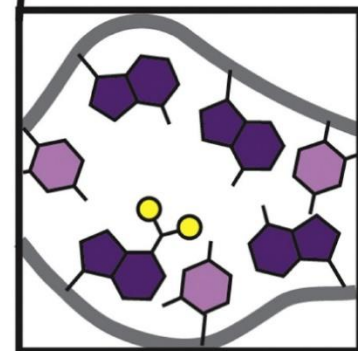
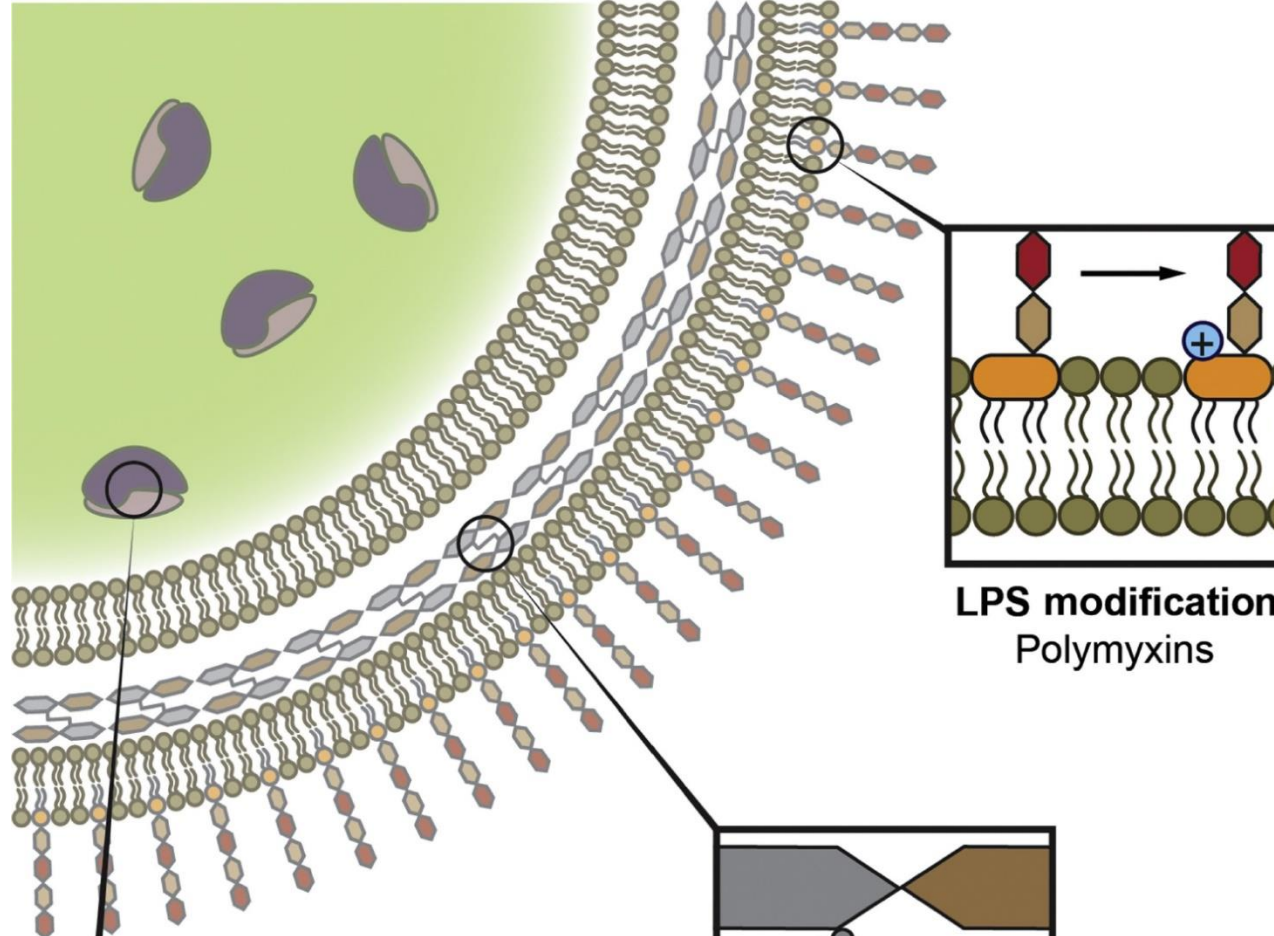




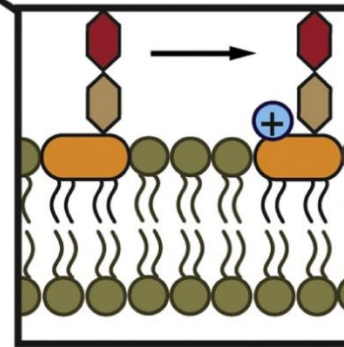
# Mecanismos de Resistência

## 4. *Modificar o alvo do antibiótico*

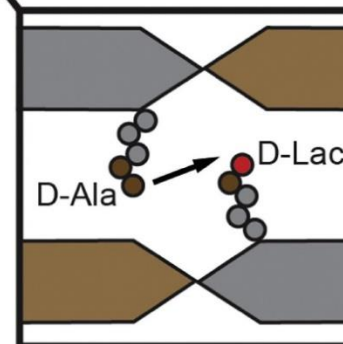
- Resistência a Beta lactâmicos em *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*
- Metilação da adenina do rRNA 23S da subunidade 50S do ribossomo bacteriano
- Reprogramação da síntese da parede celular em *S. aureus* e *S. pneumoniae*



**rRNA modification**  
Translation inhibitors



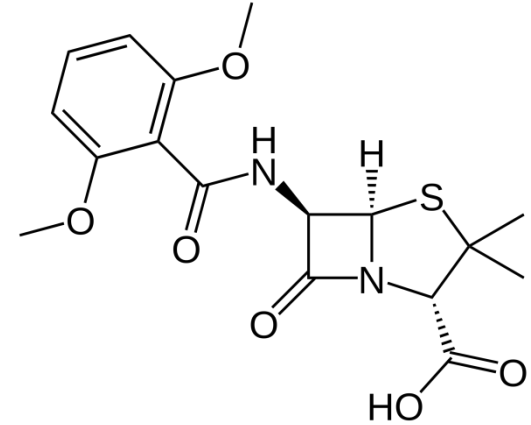
**LPS modification**  
Polymyxins



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

# Resistência a metilicina em *S. aureus*

## Surgimento dos MRSA

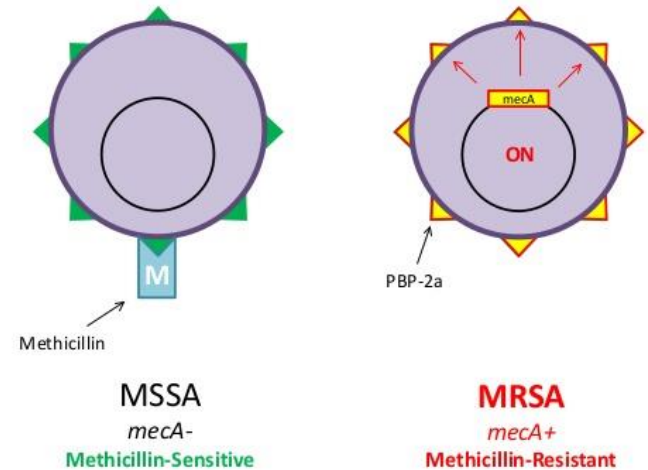
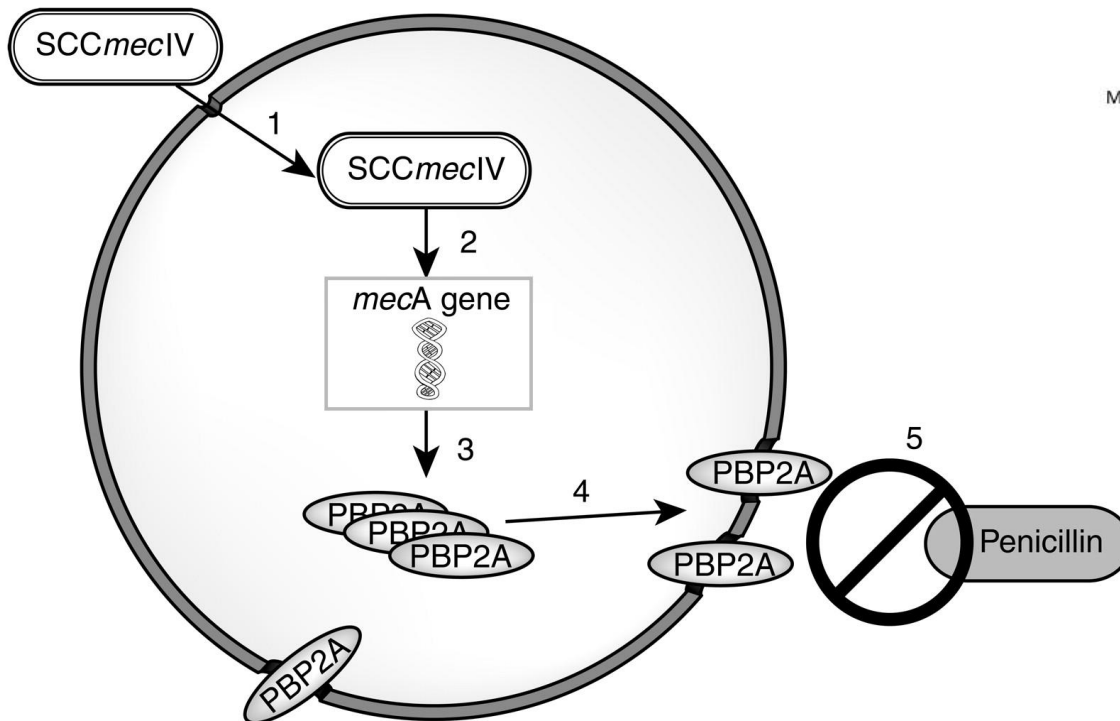


- MRSA é resistente a praticamente todos os beta lactâmicos
- Grave problema em centros de queimaduras
- Responsável por mais de 90% dos isolados clínicos de resistência
- Codifica a MecA (PBP2A) – uma PBP diferenciada de alto peso molecular
- MecA apresenta uma baixa afinidade por beta-lactâmicos e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

# Resistência a meticilina em *S. aureus*

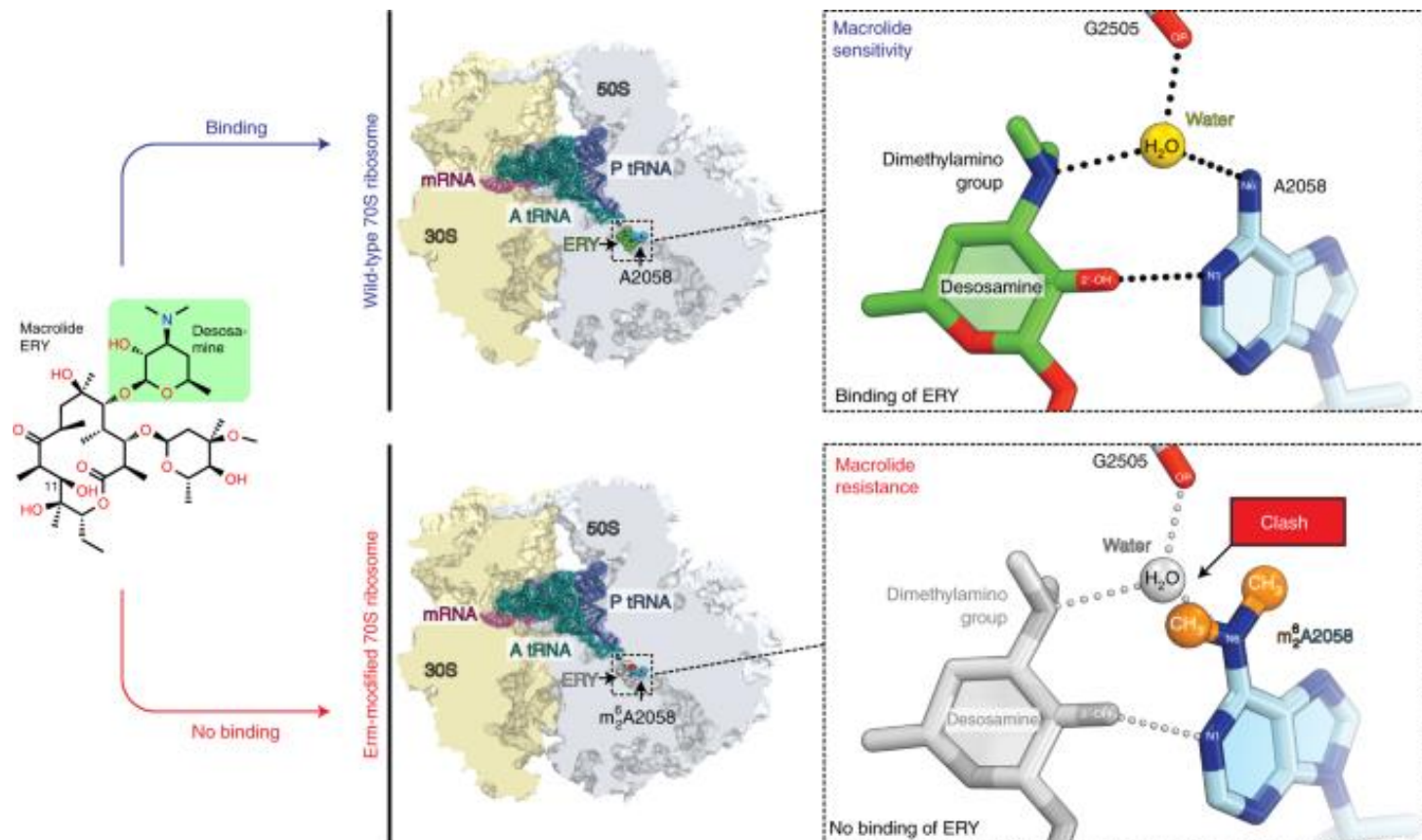
## *mecA*

*mecA*-encoded Methicillin Resistance

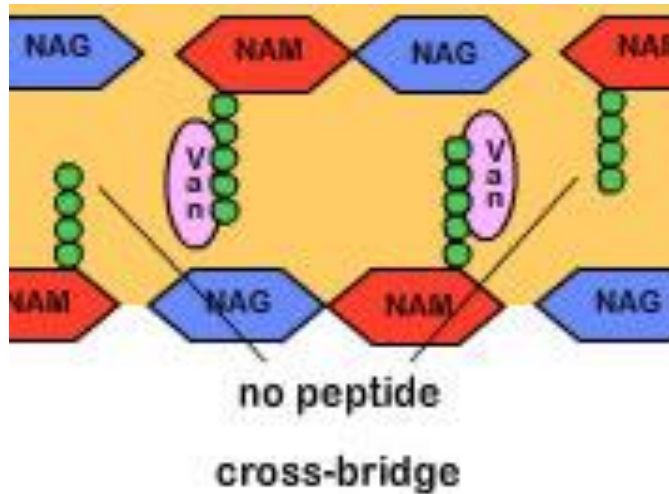


# Metilação do rRNA 23S causa resistência à macrolídeos

- 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)

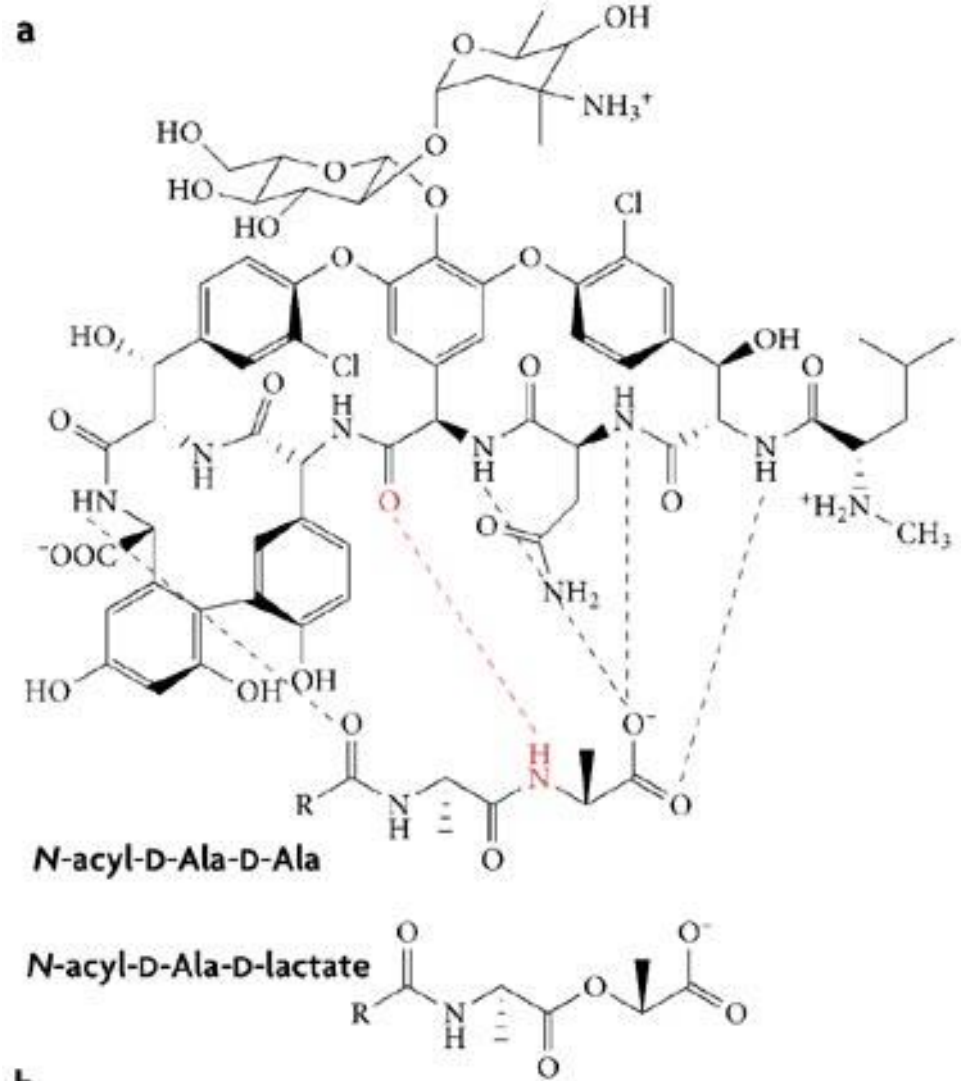


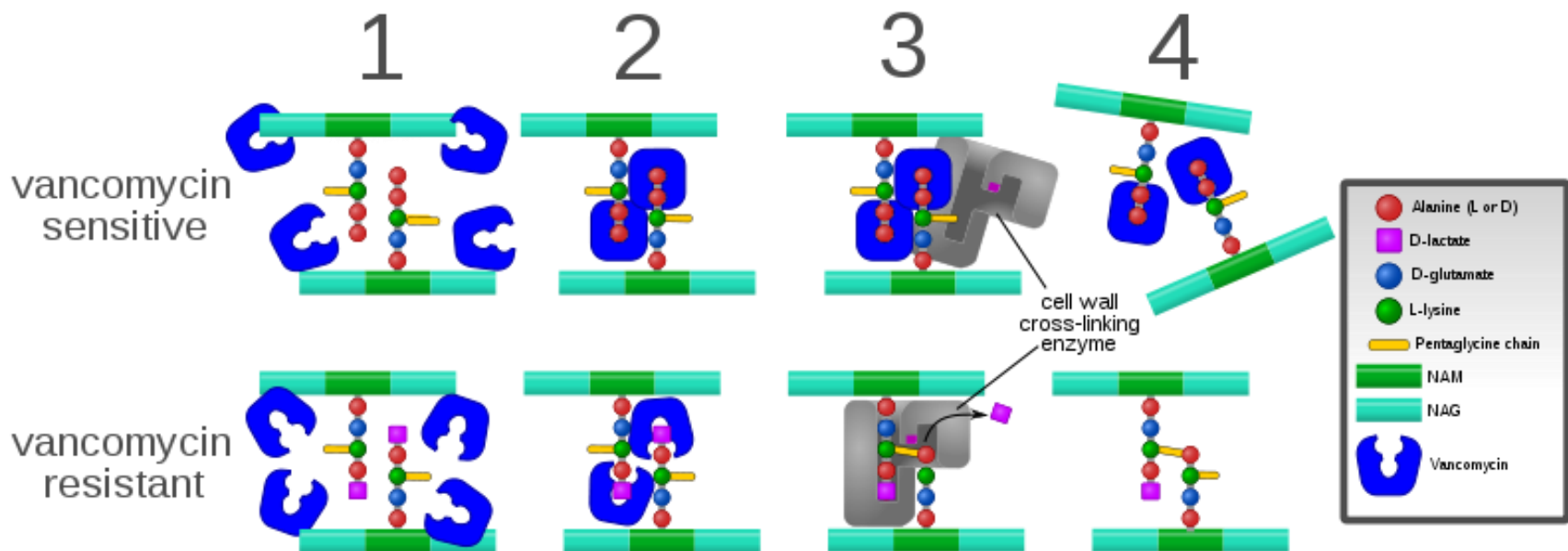
# Mecanismo de resistência a vancomicina em estafilococos



-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*

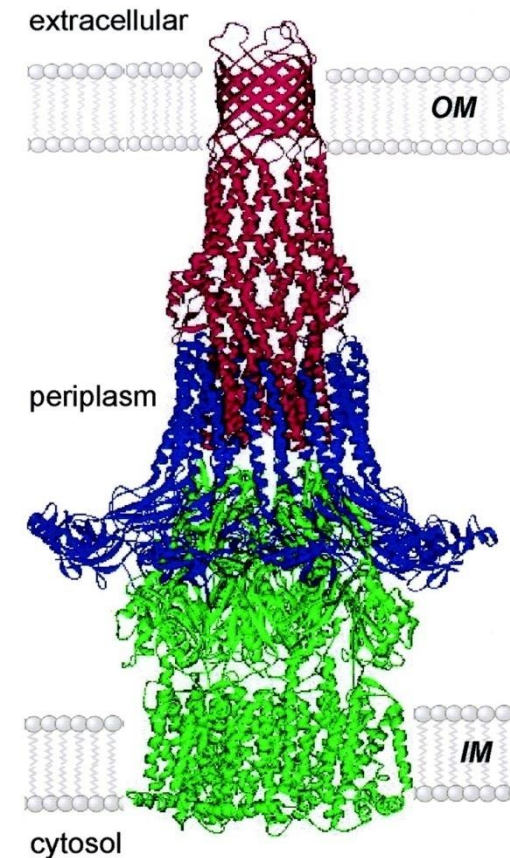
- Modificam seu metabolismo, conseguem captar o ácido fólico do meio externo
- Obtem uma enzima alternativa por plasmídeo R
- Resistência a sulfas (inibe a síntese de ácido fólico em bactérias)



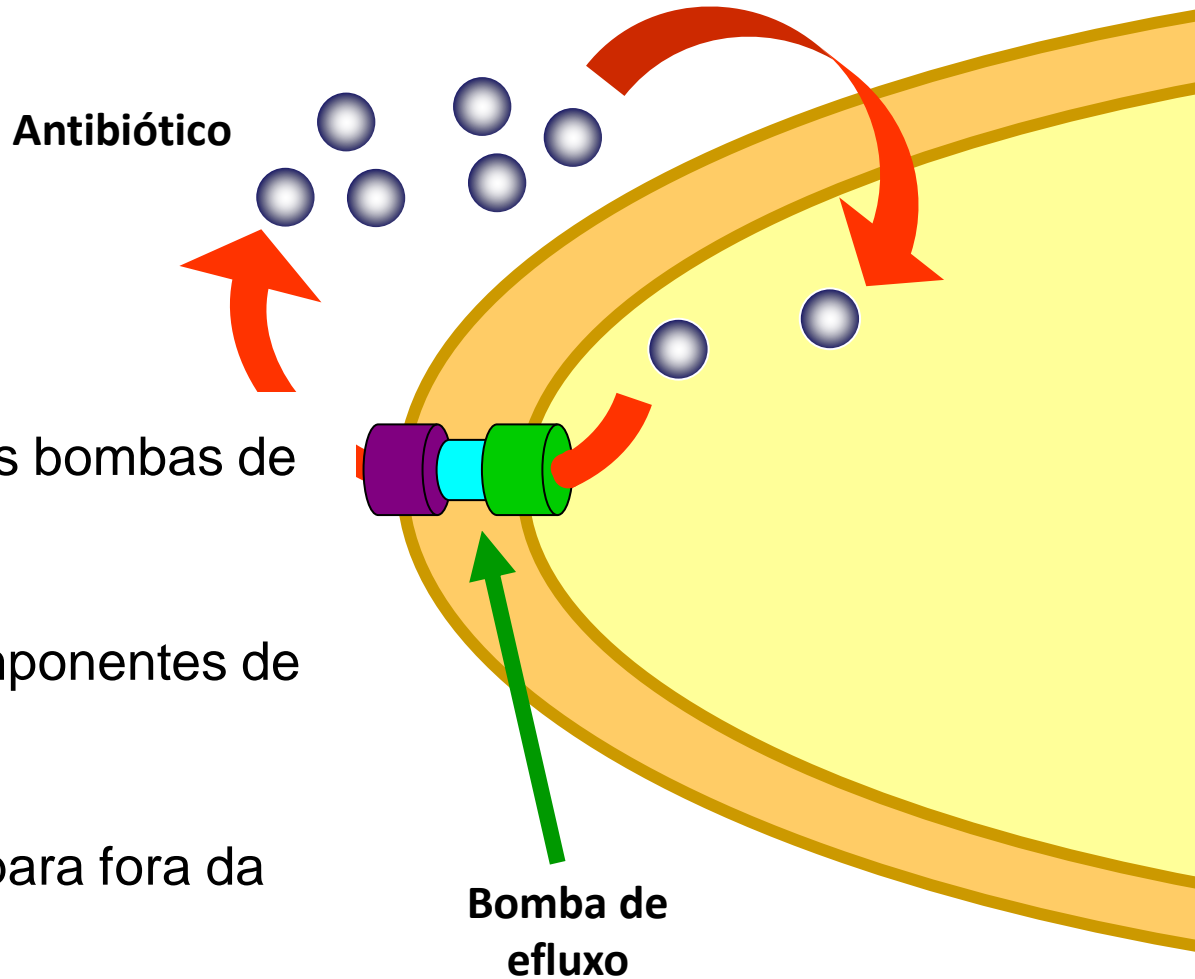
# Mecanismos de Resistência

## 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



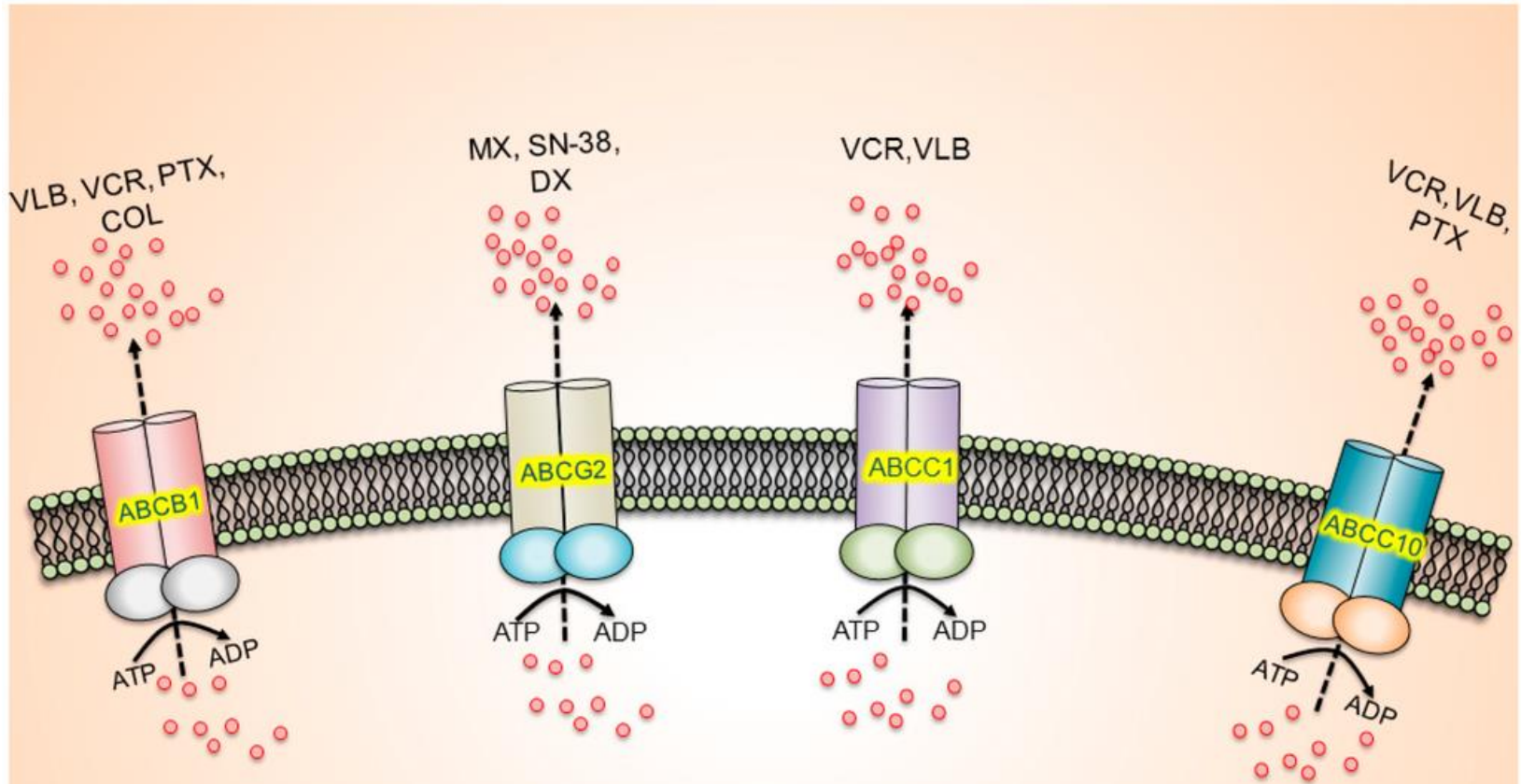
# Mecanismo de Resistência por Sistema de Efluxo



- 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

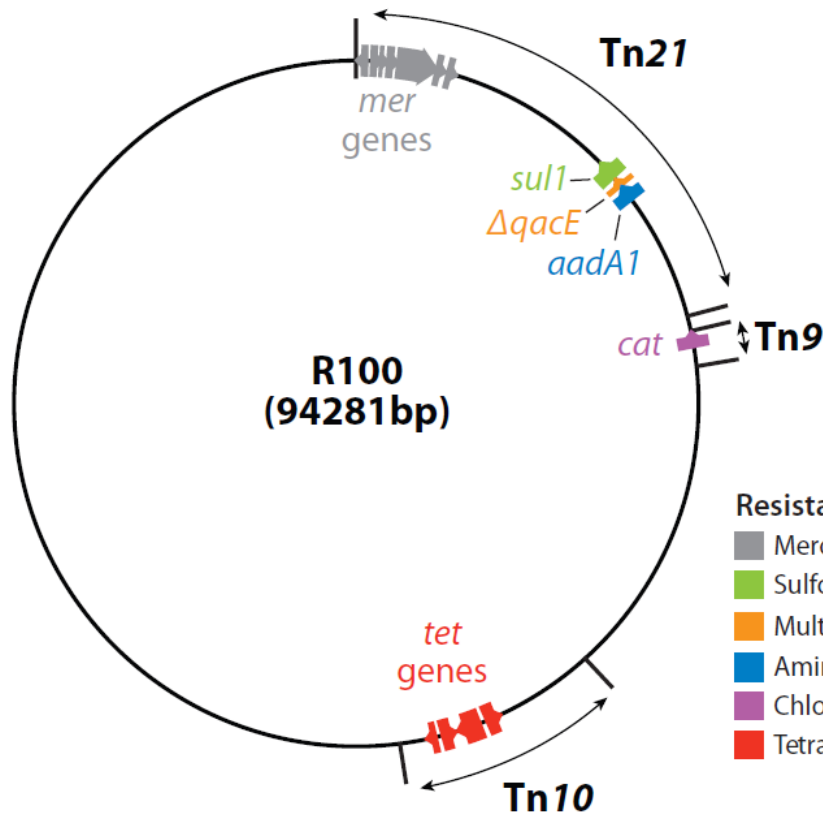
# Aspectos Relacionados à Resistência aos Antibióticos em Bactérias

## □ Origem da Resistência

- resistência cromossomal
- resistência plasmideal

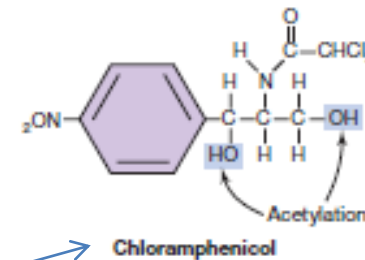
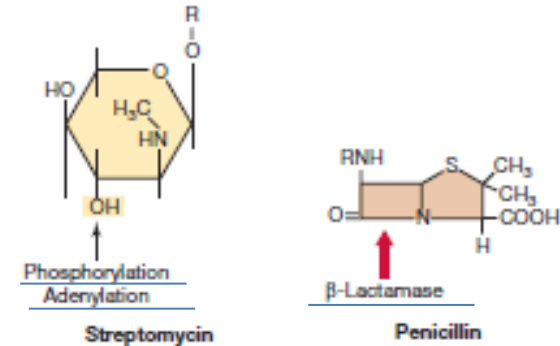
# Cepas Bacterianas Isoladas a partir de Espécimes Clínicos

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



### Resistance genes:

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

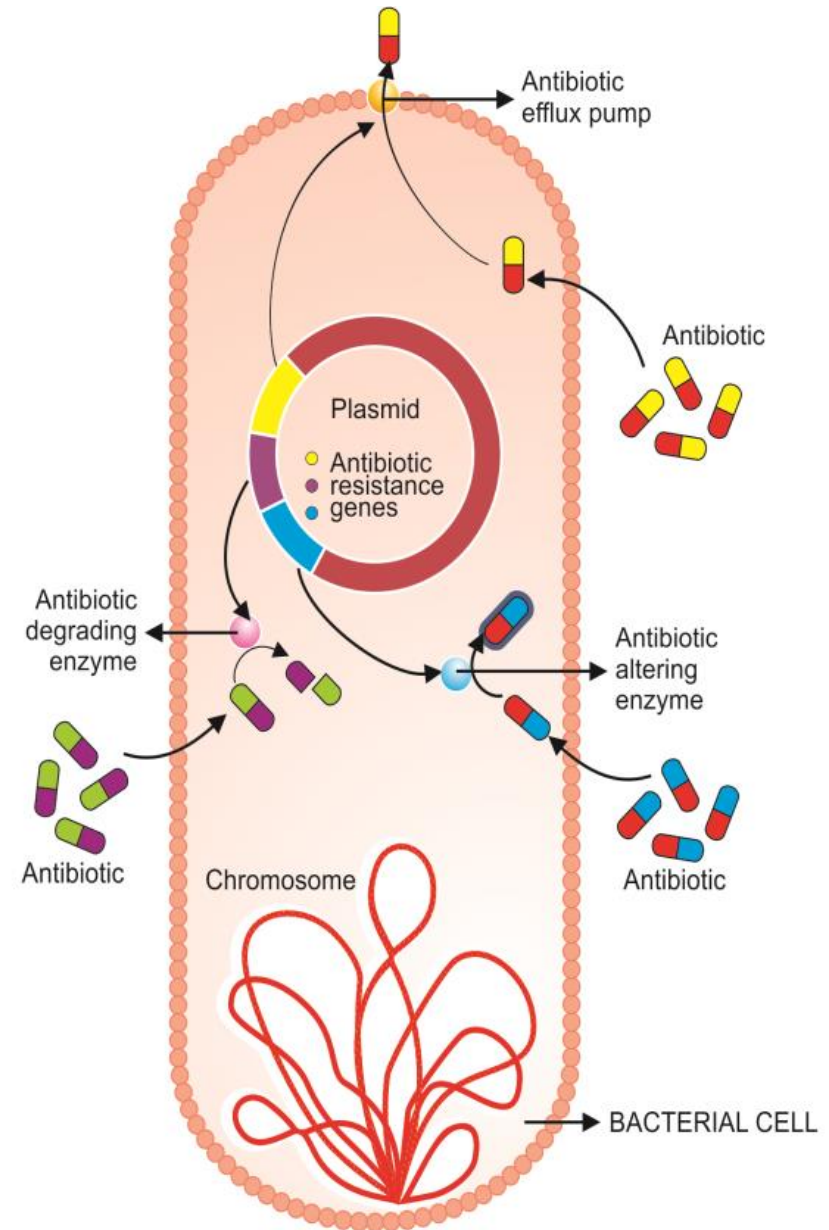


Estreptomicina, neomicina, canamicina, espectinomicina  
-Estruturas similares  
-Enzima que as fosforilam e as inativam

# 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

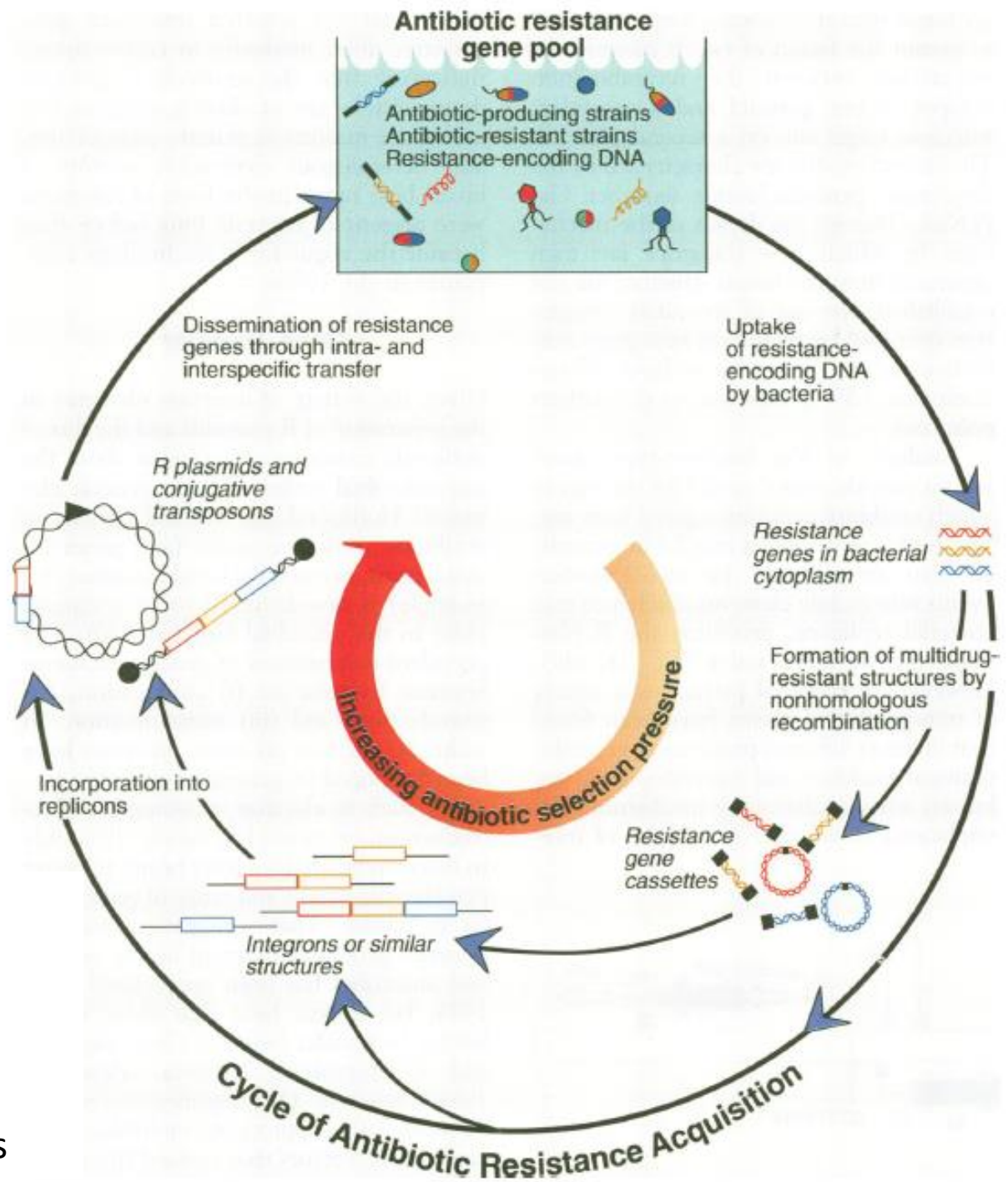
Uso da tetraciclina: 1948



# 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





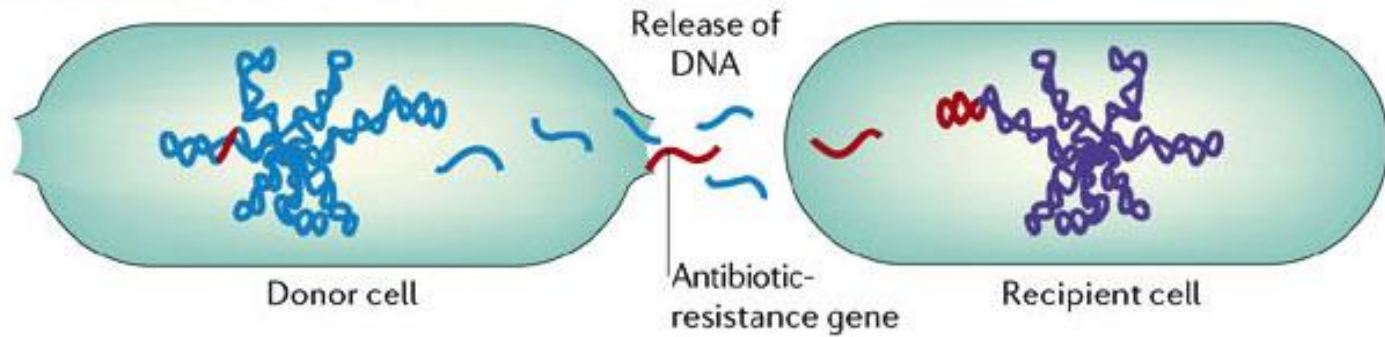
### Integrans:

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

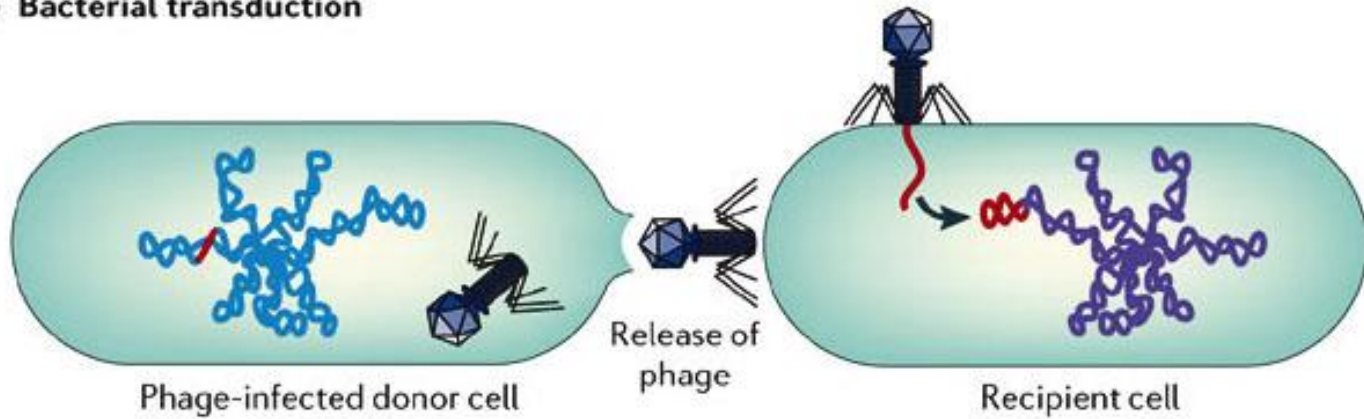
E contém regiões promotoras

# Transmissão Horizontal

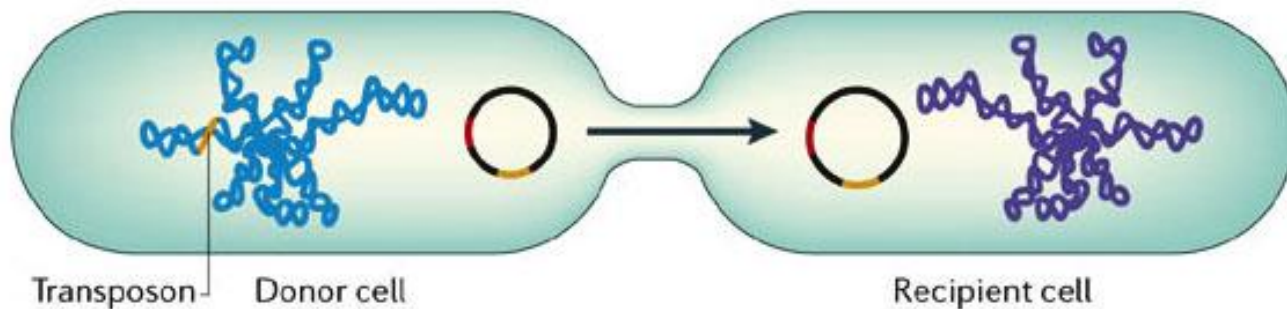
## a Bacterial transformation



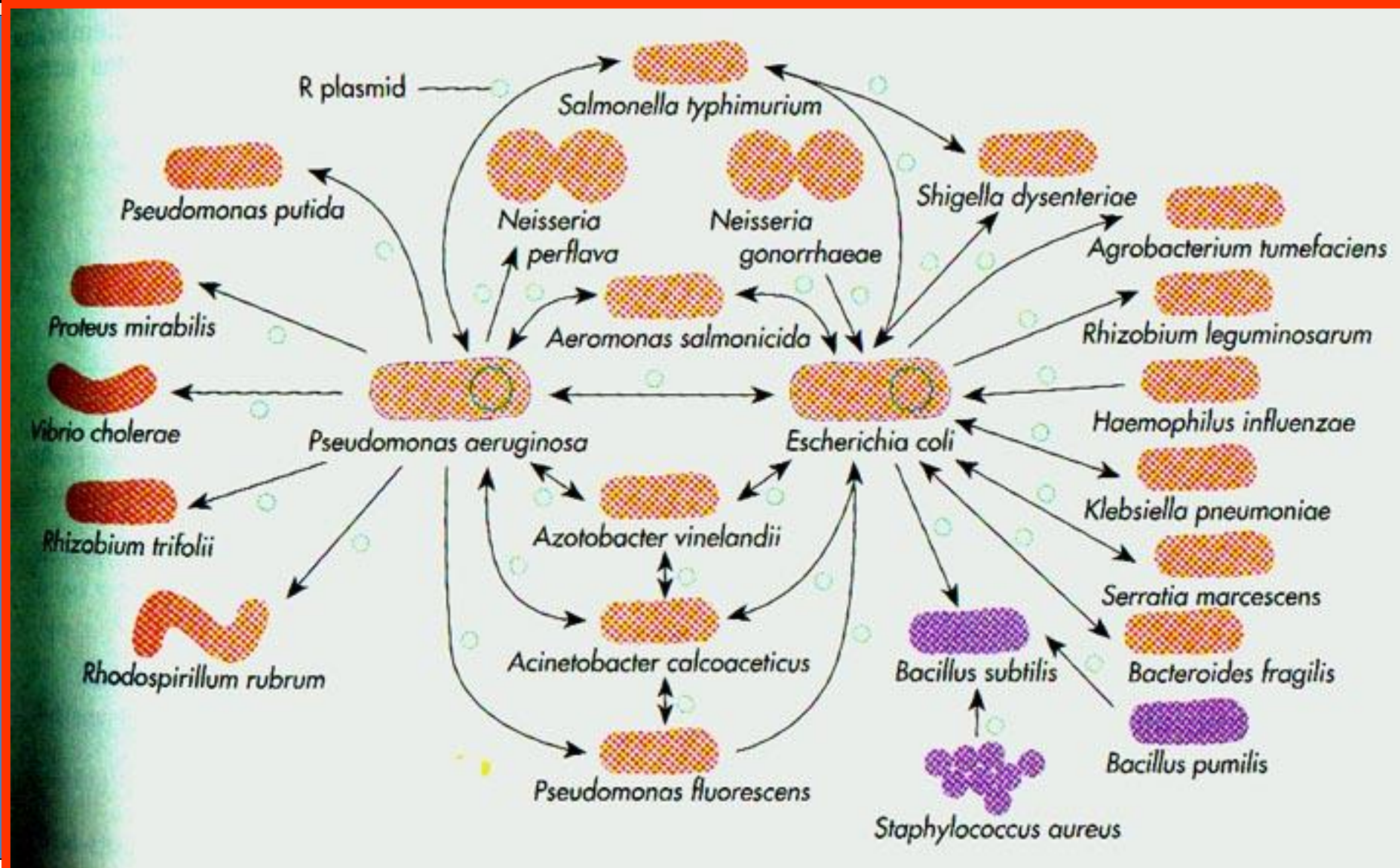
## b Bacterial transduction



## c Bacterial conjugation

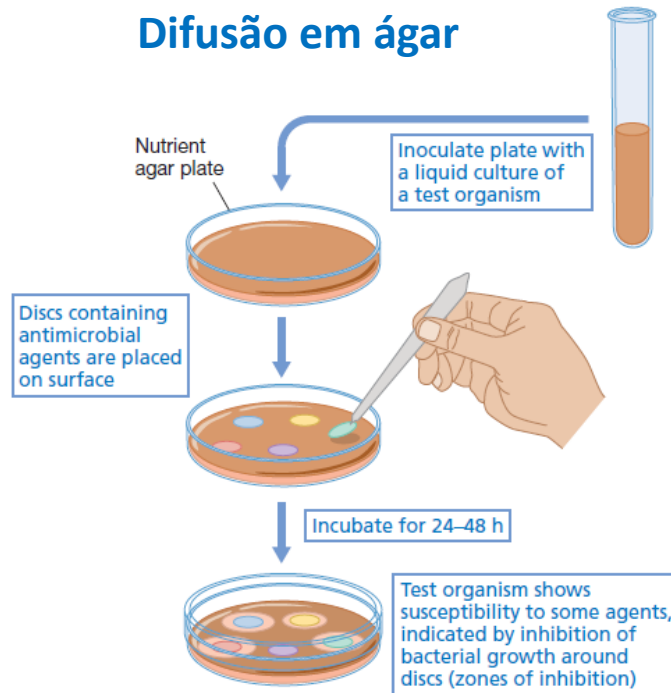


# Transmissão horizontal da resistência bacteriana



# 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

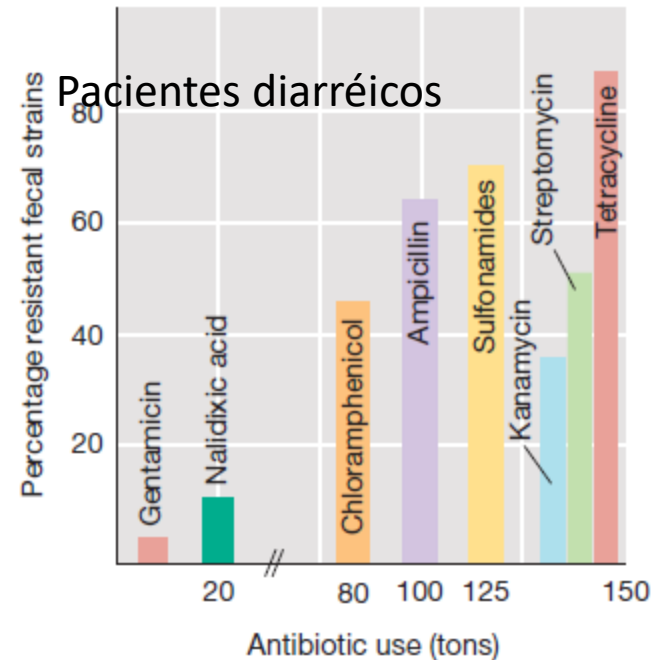


# Alguns Fatores que Favorecem a Disseminação dos Plasmídeos R

- 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

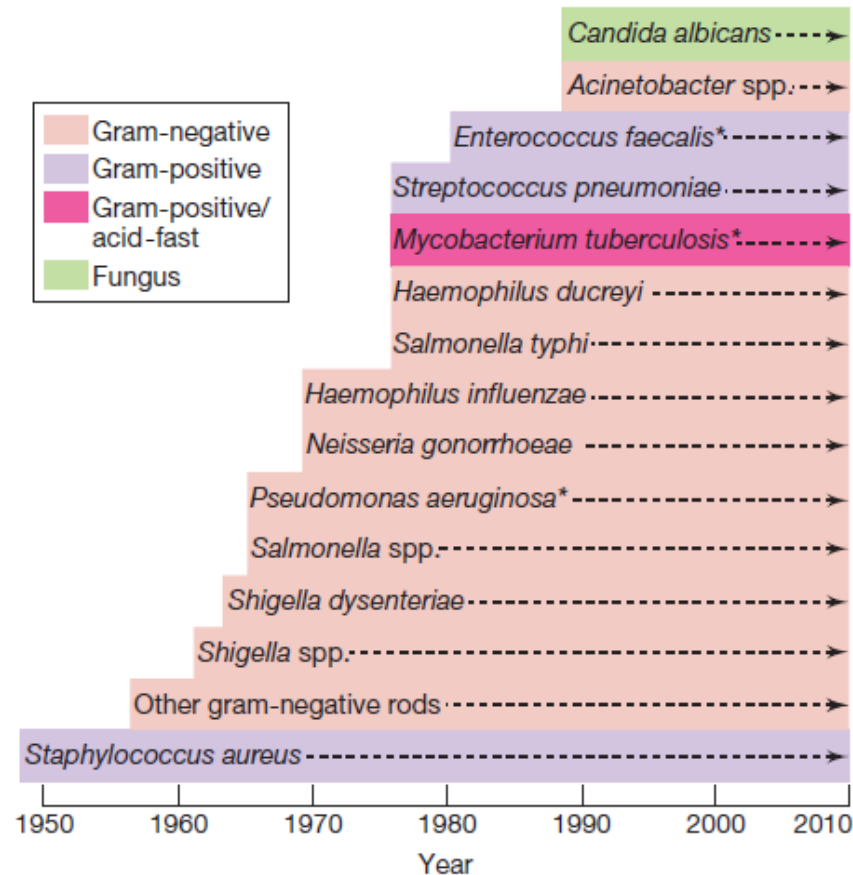


# Patógenos Resistentes

- 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)





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