

Maria Galvão de Figueiredo Mendes Baptista

Mecanismos de Resistência aos Antibióticos

Orientadora: Prof. Doutora Maria João Simões

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia
Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2013

Maria Galvão de Figueiredo Mendes Baptista

Mecanismos de Resistência aos Antibióticos

Tese apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas ao
Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, conferido pela Universidade
Lusófona de Humanidades e Tecnologia

Orientadora: Prof. Doutora Maria João Simões

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia
Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa
2013

“Antibiotic are truly miracle drugs that have saved countless millions of lives.

But antibiotic resistance is a critical public health issue that is eroding the effectiveness of antibiotics and may affect the health of each and every one of us.”

Betsy Bauman

“Os antibióticos são medicamentos milagrosos que têm salvo milhões de vidas. Mas a resistência bacteriana é um tema delicado de saúde pública que está a diminuir a efectividade dos antibióticos e pode afectar a saúde de todos e que cada um de nós”

Tradução, Betsy Bauman

Agradecimentos

O escrever desta tese de mestrado é o culminar de cinco anos de estudo árduo. Após a passagem por diversas dificuldades, principalmente ao nível pessoal, quero agradecer o grande e incondicional apoio dos meus pais, Maria Luísa Baptista e Júlio Baptista.

Agradeço à Professora Dr^a Maria João Simões, do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, toda a ajuda dada na realização desta tese de mestrado, tendo sido uma excelente orientadora.

Quero, ainda, agradecer a todas as equipas dos locais de estágio realizados no ano de 2012, o LAC Reymão Pinto, nomeadamente à Dr^a Maria da Graça Tomé, da área de microbiologia, aos colegas da Farmácia do hospital CUF Infante Santo, especialmente à Dr^a Paula Barreto e aos colegas da Farmácia Joleni.

Por último, mas não menos importante, um obrigado a todos os Amigos e colegas presentes ao longo destes cinco anos, que me ajudaram e apoiaram bastante.

Resumo

Este trabalho aborda como principal tema os mecanismos de resistência aos antibióticos. Em primeiro lugar, refere-se às bases genéticas desta resistência, em que os genes que conferem esta resistência estão contidos em plasmídeos R, A transmissão horizontal de genes por conjugação.

A resistência pode ser intrínseca, se a bactéria possuir características estruturais ou enzimáticas que levam à resistência a um determinado antibiótico, ou, na maioria das vezes, adquirida. A resistência adquirida refere-se a quatro grandes grupos, a alteração da permeabilidade ou do local de acção do antibiótico, bombas de efluxo e o mecanismo enzimático da degradação ou inactivação do antibiótico.

Diversas organizações, tanto nacionais, como o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, como internacionais como a OMS, têm tido um desempenho essencial no combate à resistência bacteriana, nomeadamente na descrição de estratégias. No entanto é necessário a contribuição dos governantes, dos profissionais de saúde bem como da sociedade em geral.

Palavras – Chave: bases genéticas, resistência bacteriana, resistência natural, resistência adquirida e combate à resistência.

Abstract

The main theme of this work is the antibiotic mechanisms of resistance. First it is referred the genetic basis of this resistance, namely R plasmids and horizontal gene transfer by conjugation. The resistance can be either intrinsic, when the wild bacterial strain has structural or enzymatic features that lead to resistance to a particular antibiotic or, in most cases, acquired resistance. Acquired resistance is due to four main reasons: the change of permeability, changes on the site of action of the antibiotic, the efflux pumps and the mechanism of enzymatic degradation of the antibiotic. Several organizations, either national as the National Institute of Health Dr. Ricardo Jorge, or international as the WHO, have been playing an essential role establishing strategies to fight against bacterial resistance. However, to achieve the proposed goals, it is required the contribution of the governments, health professionals and general society.

Key-word: Genetic basis, bacterial resistance, intrinsic resistance, acquired resistance and fight against bacterial resistance.

Esta monografia não foi realizada de acordo com o novo acordo ortográfico.

Abreviaturas e símbolos

- AAC** ⇨ Acetiltransferase aminoglicosídeos
- ABC** ⇨ *Adenosine triphosphate binding cassette*
- Acil – D – Ala – D – Ala** ⇨ D – Alanina – D – Alanina
- Acil – D – Ala – D – Lac - Acil** ⇨ D – Alanina – D – Lactato
- Acil – D – Ala – D – Ser** ⇨ Acil – D – Alanina – D – Serina
- ADN** ⇨ Ácido desoxirribonucleico
- APH** ⇨ Fosfotransferase aminoglicosídeos
- ANT** ⇨ Adenililtransferase aminoglicosídeos
- ARN** ⇨ Ácido ribonucleico
- ARNm** ⇨ Ácido ribonucleico mensageiro
- ARNr** ⇨ Ácido ribonucleico robossómico
- ARNt** ⇨ Ácido ribonucleico de transferência
- cAMP** ⇨ Adenosina monofosfato cíclico
- CAT** ⇨ Acetiltransferase do cloranfenicol
- CIM** ⇨ Concentração mínima inibitória
- D-Ala** ⇨ D - Alanina
- ESBLs** ⇨ β-lactamases de espectro estendido
- Factor F** ⇨ Factor de fertilidade
- IM** ⇨ Intramuscular
- INSA** ⇨ Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
- IV** ⇨ Intravenosa
- MATE** ⇨ *Multidrug and toxic efflux*
- MFS** ⇨ *Major facilitator family*
- Mg²⁺** ⇨ Ião de magnésio
- MLS_B** ⇨ Macrólitos, Lincosamida e Estreptogramina B
- MRSA** ⇨ *Methicilin resistente S. aureus*
- NAD⁺** ⇨ Dinucleótido de nicotinamida e adenina
- NAG** ⇨ N-acetilglucosamina
- NAM** ⇨ Ácido N-acetilmurâmico
- PABA** ⇨ Ácido para-aminobenzóico
- PBP** ⇨ Proteínas de ligação de penicilina
- RND** ⇨ *Resistance nodulation division family*
- ROS** ⇨ Espécies reactivas de oxigénio
- SMR** ⇨ *Small multidrug resistance*
- Tn** ⇨ Transposição
- UDP – glucose** ⇨ Uracil-difosfato de glucose
- UDP – NAM** ⇨ Ácido N-acetilmurâmico-fosfato
- UMP** ⇨ Uridina monofosfato
- UTP** ⇨ Uridina trifosfato
- WHO** ⇨ *World Health Organization*

Índice geral

Epígrafe.....	I
Agradecimentos.....	II
Resumo.....	III
Abstract.....	III
Abreviaturas e símbolos.....	IV
Índice geral.....	V
Índice de tabelas.....	VI
Índice de figuras.....	VII
1. Introdução	1
1.1. Abordagem geral sobre os Antibióticos	1
1.2. Classificação das famílias dos antibióticos	2
1.2.1. Antibióticos que inibem a síntese da parede celular.....	2
1.2.2. Antibióticos que inibem a síntese da membrana citoplasmática .	7
1.2.3. Antibióticos que inibem da síntese proteica nos ribossomas	8
1.2.4. Antibióticos que alteram na síntese dos ácidos nucleicos.....	11
1.2.5. Antibióticos que alteram os metabolismos celulares.....	13
2. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos	15
2.1. Bases genéticas da resistência aos antibióticos	15
2.2. Resistência Natural	20
2.3. Resistência Adquirida.....	21
2.3.1. Alteração da permeabilidade.....	22
2.3.2. Alteração do local de acção.....	23
2.3.3. Bomba de Efluxo.....	27
2.3.4. Mecanismo enzimático	28
3. Discussão.....	32
3.1. Estratégias de combate à resistência aos antibióticos	32
3.2. Impacto da resistência bacteriana na sociedade	34
4. Conclusão	37
5. Bibliografia	38
6. Glossário.....	41

Índice de tabelas

Tabela 1 - Sumário dos antibióticos inibidores da síntese da parede celular e respectivo espectro de acção	4
Tabela 2 - Sumário dos antibióticos inibidores da síntese da membrana citoplasmática e respectivo espectro de acção	7
Tabela 3 - Sumário dos antibióticos inibidores da síntese proteica nos ribossomas e respectivo espectro de acção	8
Tabela 4 - Sumário dos antibióticos que actuam em alterações na síntese dos ácidos nucleicos e respectivo espectro de acção.....	11
Tabela 5 - Sumário dos antibióticos que actuam em alterações de metabolismos celulares e respectivo espectro de acção	13
Tabela 6 - Descrição dos tipos de mutação que podem ocorrer	16
Tabela 7 - Exemplos de bases genéticas em alguns antibióticos	19
Tabela 8 - Resistência intrínseca de algumas bactérias na presença de certos antibióticos.....	20
Tabela 9 – Percentagem de resistência, por ano, aos antibióticos em diversas bactérias, em Portugal.....	36

Índice de figuras

Figura 1 - Esquema representativo dos diversos mecanismos de acção dos diversos antibióticos.....	2
Figura 2 - Ilustração da parede celular das bactérias Gram positiva e Gram negativa .	3
Figura 3 - Representação da estrutura química dos antibióticos β -lactâmicos, com realce no anel β -lactâmico	4
Figura 4 - Acção de diversos antibióticos ao nível da síntese proteica.....	8
Figura 5 - Representação esquemática dos locais de acção das sulfonamidas e trimetoprim.....	14
Figura 6 - Representação esquemática da transferência horizontal de gene	16
Figura 7 - Representação ilustrada da transferência horizontal de gene.....	16
Figura 8 - Representação esquemática da transferência de genes por conjugação...	18
Figura 9 - Representação esquemática da transposição.....	19
Figura 10 - Representação dos diversos tipos de mecanismos de resistência bacteriana.....	21
Figura 11 - Antibióticos afectados pelos diversos mecanismos de resistência das bactérias.....	21
Figura 12 - Representação da alteração da permeabilidade da membrana externa de algumas bactérias.....	22
Figura 13 - Representação da alteração do local de acção do antibiótico	24
Figura 14 - Representação dos mecanismos de resistência através da existência de bombas de efluxo	27
Figura 15 – Representação da destruição enzimática do antibiótico em algumas bactérias.....	28
Figura 16 – Alteração enzimática do antibiótico amoxicilina pela Ser- β -lactamase (A) e metalo- β -lactamase (B).....	29
Figura 17 - Esquemática da alteração enzimática dos aminoglicosídeos	30
Figura 18 - (Esquerda) Resistência à meticilina em <i>Staphylococcus aureus</i> e (Direita) resistência às cefalosporinas de 3ª geração em <i>Klebsiella pneumoniae</i> , na Europa em 2011	35

1. Introdução

1.1. Abordagem geral sobre os Antibióticos

As infecções têm sido uma das principais causas de doença ao longo da história da humanidade. Com a introdução dos antibióticos, este problema tendeu a desaparecer. No entanto, os microrganismos têm vindo a desenvolver mecanismos de resistência que têm contrariado os avanços alcançados no tratamento de infecções. (Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Tenover, 2006)

Os primeiros antibióticos eram substâncias produzidas por diversas espécies de microrganismos que impediam o desenvolvimento de outros microrganismos. Assim o Homem começou a associar os antibióticos a uma forma de tratamento das doenças infecciosas. Estes diferem uns dos outros nas suas propriedades físicas, químicas, farmacológicas, no espectro e mecanismos de acção. (Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007)

Para que os antibióticos tenham um efeito eficaz é importante que a sua concentração, no local da infecção, seja suficiente. Os antibióticos podem apresentar duas funções distintas, a inibição do crescimento bacteriano através da acção bacteriostática, e a destruição de uma população bacteriana, por uma acção bactericida. A acção bacteriostática impede o crescimento das bactérias, mantendo o mesmo na fase estacionária. (Pankey & Sabath, 2013) Um bactericida actua em processos vitais para a célula levando à morte celular. (Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Lago, 2011)

Os antibióticos ideais definem-se por diversas características, tais como, alvo selectivo, alcançar rapidamente o alvo, bactericida, espectro estreito de forma a não afectar a flora saprófita, com baixo nível tóxico e elevados níveis terapêuticos, poucas reacções adversas, quer seja toxicidade ou alergia, várias vias de administração, tais como, oral, intravenosa (IV) e intramuscular (IM). Deve ter uma boa absorção e caso seja administrado por via oral, ter uma boa absorção intestinal, boa distribuição no local de infecção e ser um antibiótico pró-hospedeiro, isto é, que não contraria as defesas imunológicas, não deve induzir resistências e deve ter uma boa relação custo/eficácia. No entanto nem todas estas características conseguem ser obtidas, pois a relação entre os antibióticos e as bactérias não é linear. (Katzung, 2007)

1.2. Classificação das famílias dos antibióticos

Ao longo dos anos foram descobertos e posteriormente descritos os antibióticos hoje conhecidos. Desta forma foi necessário arranjar uma classificação. A classificação mais comum dos antibióticos baseia-se no seu mecanismo de acção. Assim são descritos cinco mecanismos de acção, tal como representado na **figura 1**:

- * Inibição da síntese da parede celular;
- * Inibição da síntese ou dano da membrana citoplasmática;
- * Inibição da síntese proteica nos ribossomas;
- * Alterações na síntese dos ácidos nucleicos;
- * Alteração de metabolismos celulares. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Tenover, 2006)

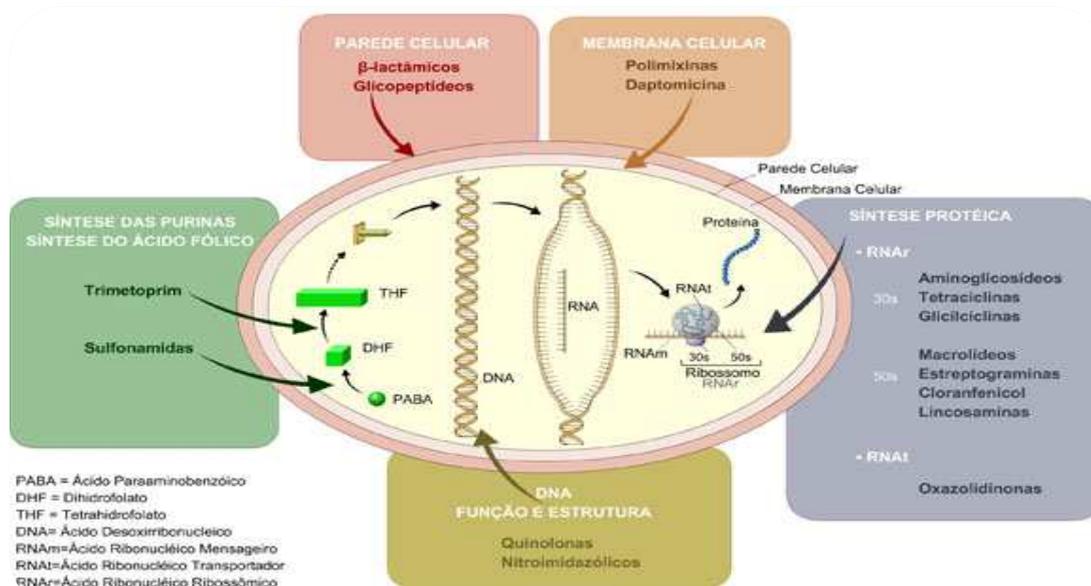


Figura 1 - Esquema representativo dos diversos mecanismos de acção dos diversos antibióticos. (ANVISA, 2007)

1.2.1. Antibióticos que inibem a síntese da parede celular

Para a sobrevivência de qualquer bactéria é essencial manter a integridade da parede celular, sendo importante referir que a parede celular das bactérias Gram positivas e das bactérias Gram negativas é diferente, como se pode visualizar na **figura 2**. A parede celular é suficientemente flexível em virtude da sua estrutura entrelaçada do seu principal constituinte, o peptidoglicano, com o alto índice de ligações cruzadas. (Goodman & Gilman's, 2008)

A primeira fase da síntese do peptidoglicano ocorre no citoplasma, onde a glicosamina é convertida a ácido *N*-acetilmurâmico (NAM). De seguida, o NAM é activado através da reacção com a uridina trifosfato (UTP) de forma a produzir o ácido *N*-acetilmurâmico-fosfato (UDP-NAM). Posteriormente, o NAM passa por várias etapas

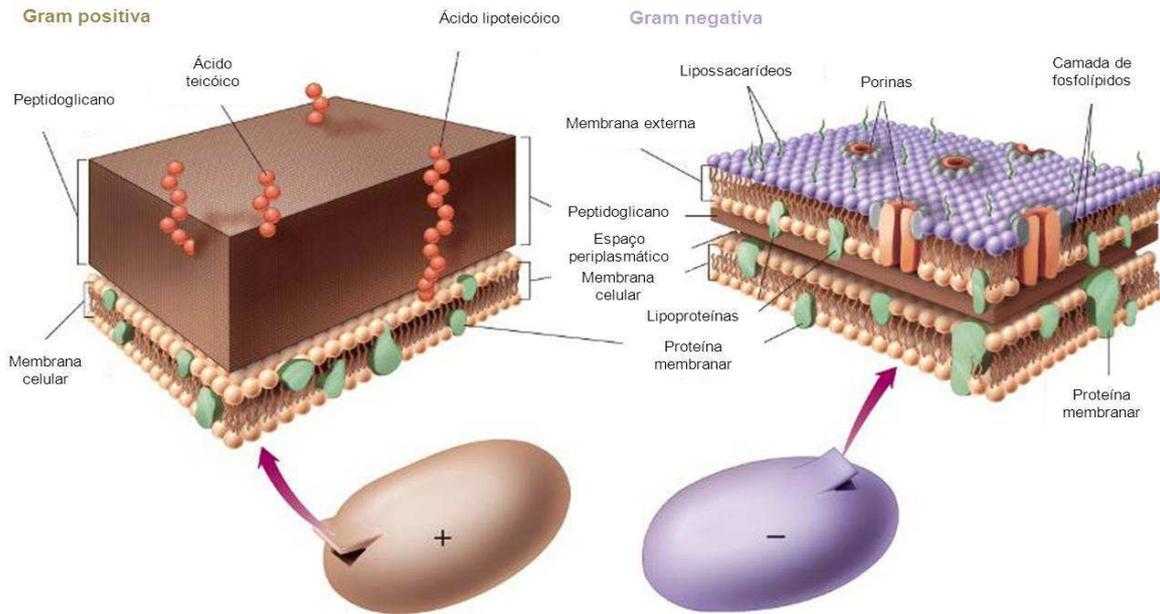


Figura 2 - Ilustração da parede celular das bactérias Gram positiva e Gram negativa. (S., 2010)

enzimáticas e é transformado em UDP-NAM-pentapeptídeo. Este liga-se ao bactoprenol, presente na membrana citoplasmática, por ligação pirofosfato e libertação de uma uridina monofosfato (UMP). A ligação do *N*-acetilglucosamina (NAG) origina o dissacárido NAG-NAM, que é transportado para fora da célula pelo bactoprenol. O dissacárido NAG-NAM é ligado à cadeia de peptidoglicano, por ligação pirofosfato. Este tipo de ligação permite obter energia para a acção das enzimas transglicosilases. O pirofosfato-bactoprenol é reconvertido em fosfobactoprenol, e por conseguinte é reutilizado. Por último, junto da membrana, as cadeias de glicanos são cruzadas por ligação peptídica entre a amina livre do aminoácido na terceira posição do pentapeptídeo ou o *N*-terminal da cadeia ligada de pentaglicina, e a *D*-Alanina (*D*-Ala) na quarta posição de uma outra cadeia peptídica, libertando a *D*-Ala terminal do precursor. Estas ligações cruzadas são catalizadas pelas transpeptidases ligadas à membrana, e as enzimas *DD*-carboxipeptidases removem as *D*-Ala que não reagiram de forma a limitar a extensão das ligações cruzadas. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2010)

São exemplo de antibióticos com acção ao nível da síntese do peptidoglicano os antibióticos β -lactâmicos, a bacitracina e os glicopéptidos, como se pode verificar na **tabela 1**.

Tabela 1 - Sumário dos antibióticos inibidores da síntese da parede celular e respectivo espectro de acção. ^(Infarmed)

Inibidores da síntese da parede celular			
β-Lactâmicos	Penicilinas	Benzilpenicilina (Penicilina G) Fenoximetilpenicilina (Penicilina V)	Espiroquetas e cocos (excepto estafilococos) Gonococo
		Aminopenicilina (Amoxicilina e Ampicilina)	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i>
		Isoxazolilpenicilina (Flucloxacilina)	Estafilococos produtores de penicilinas
		Ureidopenicilina (Piperacilina, Azlocilina e Mezlocilina)	Bactérias Gram negativas
		Carboxipenicilina (penicilinas anti-pseudomonas)	Pseudomonas
	Cefalosporinas	1ª Geração (Cefalotina, Cefazolina e Cefradina)	Bactérias Gram positivas
		2ª Geração (Cefoxitina, Cefotetano e Cefmetazole)	↑ eficácia em bactérias Gram negativas ↓ eficácia em bactérias Gram positivas
		3ª Geração (Ceftazidima, Cefotaxima e Ceftriaxona)	Bactérias Gram negativas
		4ª Geração (Cefepima)	Igual à 3ª geração, mas maior estabilidade na presença de β-lactamases
	Carbapenemes	Imipenem e Meropenem	Bactérias Gram positivas e Gram negativas
Monobactâmicos	Aztreonam	Bactérias Gram negativas aeróbias	
Bacitracina		Bactérias Gram positivas	
Glicopeptídeos	Vancomicina Teicoplanina	Bactérias Gram positivas	

Os antibióticos **β-lactâmicos** são bastante prescritos nos dias que correm, dada a sua eficácia terapêutica e baixa toxicidade. Este grupo de antibióticos engloba as penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactâmicos e alguns inibidores das β-lactamases. Todos estes antibióticos contêm na sua estrutura molecular um anel β-lactâmico, diferindo nas cadeias laterais, como se verifica na **figura 3**. ^(Goodman & Gilman's, 2008)

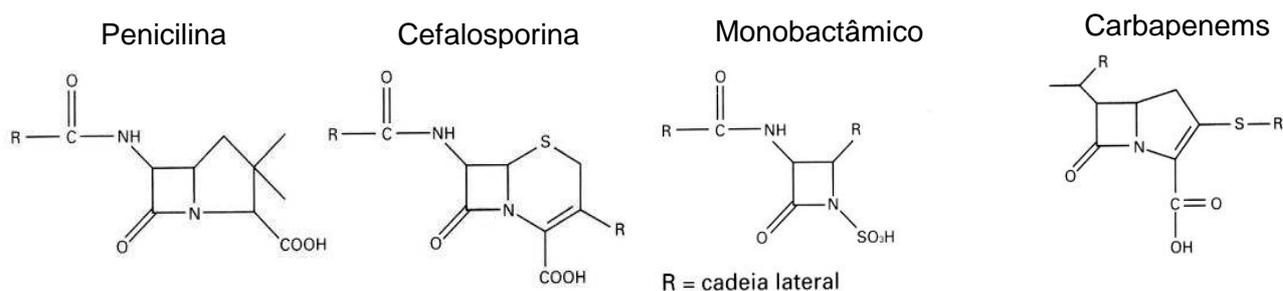


Figura 3 - Representação da estrutura química dos antibióticos β-lactâmicos, com realce no anel β-lactâmico. ^(Williams, 1999)

A penicilina G e V têm grande eficácia na presença de cocos Gram positivos, em infecções como a erisipelóide e a listeriose. As penicilinas resistentes às penicilinases, como a nafcilina, são activas em *Staphylococcus aureus*, a ampicilina e outros β -lactâmicos de espectro aumentado são activos na presença de bactérias Gram negativas e, por último, as penicilinas de largo espectro, como a ticarcilina e piperacilina, são activas em *Pseudomonas aeruginosa*. (Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Merk, 2009) As cefalosporinas são classificadas por gerações: 1ª geração exibe actividade na presença de microrganismos Gram positivos e actividade moderada na presença de bactérias Gram negativas; 2ª geração tem actividade melhorada na presença de Gram negativos e incluem fármacos com actividade anti-anaeróbica; 3ª geração apresenta actividade na presença de Gram positivos e Gram negativos, nomeadamente na presença da família de *Enterobacteriaceae* (como por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*); as cefalosporinas de 4ª geração têm um espectro semelhante ao das cefalosporinas de 3ª, porém com maior estabilidade face às β -lactamases. (Goodman & Gilman's, 2008) Em agosto de 2012 foi aprovado pelo Infarmed, a comercialização de uma cefalosporina de 5ª geração, a ceftarolina. Segundo o resumo das características do medicamento é activa em infecções por *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes e *Streptococcus pneumoniae* não susceptível à penicilina. É utilizada em duas situações clínicas, como infecções complicadas da pele e tecidos moles e na pneumonia adquirida na comunidade. (EMA, 2012; Infarmed)

Os inibidores da β -lactamases como o ácido clavulânico, tazobactam ou sulbactam são utilizados para ampliar o espectro das penicilinas na acção de destruição dos microrganismos produtores de β -lactamase. Os inibidores possuem uma estrutura idêntica à penicilina, modificando apenas a cadeia lateral. Desta forma as β -lactamases actuam nos inibidores, de forma a deixar disponível o antibiótico para a actuar na infecção em causa. Dois exemplos comuns são a combinação da amoxicilina com o ácido clavulânico, utilizado no combate a infecções do tracto respiratório e a piperacilina com tazobactam administrada em infecções do tracto respiratório inferior e vias urinárias. A piperacilina com tazobactam é administrado em doentes imunocomprometidos, sempre em associação com os aminoglicosídeos, para a profilaxia de infecções por estirpes de *Pseudomonas aeruginosa*. (Infarmed; Ministério da Saúde, Março de 2011)

Os carbapenemes, como o imipenem e o meropenem, são dos antibióticos β -lactâmicos, que têm o espectro mais amplo. Estes dois antibióticos são similares na sua acção, simplesmente na formulação do imipenem conjuga-se a cilastatina, que é inibidor da enzima de-hidropeptidase presente nos túbulos renais. Estes são activos na presença de bactérias da família de *Enterobacteriaceae*, *pseudomonas*, e muitos cocos Gram positivos. Os monobactâmicos, como o aztreonam, têm actividade apenas

em bactérias Gram negativas, como por exemplo, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia enterocolitica*, entre outras. O aztreonam apresenta uma elevada afinidade para as proteínas de ligação à penicilina (PBPs) e inibe a síntese da parede celular. A sua estrutura é altamente resistente à hidrólise pelas β -lactamases, como a penicilinase e cefalosporinase, daí a apresentar acção mesmo nas bactérias produtoras de β -lactamases. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

As enzimas, transpeptidases e carboxipeptidases, referidas acima são designadas como proteínas de ligação à penicilina, pois são o alvo da penicilina e de outros β lactâmicos. (Neu & Gootz, 1996)

Cada bactéria possui várias PBPs, sendo que o *Staphylococcus aureus* tem quatro PBPs, e a *Escherichia coli* tem, pelo menos sete PBPs. As afinidades das PBPs com os diferentes antibióticos β -lactâmicos divergem, no entanto as interacções ocorrentes são covalentes. Em *Escherichia coli*, as PBPs com maior peso molecular, abrangem as transpeptidases responsáveis pela síntese de peptidoglicano. As restantes PBPs incluem as enzimas importantes para manter a forma bastonete da bactéria e para a formação do septo na divisão bacteriana. A inibição destas enzimas leva à formação de esferoplastos e rapidamente à lise. Entretanto a inibição das actividades de outras PBPs, tais como PBP2 ou PBP3, pode causar uma de duas coisas, ou a lise ou a formação de formas filamentosas longas da bactéria, respectivamente. A acção bactericida da penicilina inclui mecanismos líticos e não líticos. A ruptura do equilíbrio entre a formação do peptidoglicano, mediada pela PBP, e a actividade hidrolítica na mureína, induz a autólise. Para ocorrer destruição não lítica, pode ser necessário a presença de proteínas semelhantes à holina na membrana bacteriana, que desequilibram o potencial de membrana. (Neu & Gootz, 1996)

A **bacitracina** é um antibiótico produzido pela bactéria *Bacillus subtilis*, que exerce o seu mecanismo de acção ao bloquear a passagem do pirofosfato-bactoprenol a fosfobactoprenol, em bactérias Gram positivas. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2010; Neu & Gootz, 1996)

O **glicopéptido** tricíclico, como a vancomicina é um complexo, que tem como mecanismo de acção a inibição da síntese da parede celular das bactérias sensíveis por meio da sua ligação de alta afinidade à extremidade terminal *D*-alanil-*D*-alanina de unidades precursoras da parede celular, impedindo o alongamento do peptidoglicano e a ligação cruzada. A vancomicina é utilizada em situações de sepsis ou endocardite causadas pelos estafilococos resistentes à meticilina, apesar de não ser tão efectiva como a penicilina. Assim, tende a ser usada em associação com a gentamicina, em caso de alergia à penicilina. Também é recomendada, em associação com a

ceftriaxone, cefotaxima ou rifampicina no tratamento da meningite pneumocócica resistentes à penicilina. (Katzung, 2007; Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2010; Neu & Gootz, 1996)

1.2.2. Antibióticos que inibem a síntese da membrana citoplasmática

Existem antibióticos que conseguem desorganizar a membrana citoplasmática, podendo ser agentes aniões, catiões ou neutros. Os polimixinas são disto exemplo, tal como referenciado na **tabela 2**.

Tabela 2 - Sumário dos antibióticos inibidores da síntese da membrana citoplasmática e respectivo espectro de acção. ^(Infarmed)

Inibição da síntese da membrana citoplasmática		
Polimixinas	Polimixina C ou Colistina	<i>Pseudomona aeruginosa</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> <i>sp.</i> , <i>Salmonella sp.</i> ,
	Polimixina E	<i>Pasteurella sp.</i> , <i>Bordetella sp.</i> e <i>Shigella sp.</i>

São antibióticos produzidos por várias estirpes de *Bacillus polymyxa*, um bastonete aeróbico formador de esporos encontrados no solo. Dois exemplos bem conhecidos são as polimixinas C e E. A polimixina E, também conhecida como colistina é produzida por *Bacillus colistinus*. A actividade da polimixina B e colistina é semelhante e restringem-se às bactérias Gram negativas, incluindo a *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella sp.*, *Pasteurella sp.*, *Bordetella sp.* e *Shigella sp.*. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

As polimixinas são moléculas anfipáticas tensioactivas, pois contém grupos tanto lipofílicos como lipofóbicos. Estas interagem com a molécula de polissacarídeo presente na membrana externa, retirando o cálcio e magnésio necessários á estabilidade da mesma. A permeabilidade na membrana modifica-se imediatamente em contacto com o fármaco e a subsequente entrada de água na célula causa a sua destruição. A sensibilidade à polimixina B está relacionada com o conteúdo fosfolipídico da parede celular. Também apresenta actividade anti-endotoxina, através da ligação da polimixina B à porção lipídica A do lipossacarídeo das Gram negativas e inactivando a endotoxina. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

1.2.3. Antibióticos que inibem da síntese proteica nos ribossomas

Os ribossomas bacterianos são organelos celulares constituídos por duas subunidades, 30s e 50s, onde ocorre a ligação dos fármacos de forma a inibir ou modificar a síntese proteica. (Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007) São exemplo de antibióticos que inibem a síntese proteica, os aminoglicosídeos, tetraciclina, anfenicóis, macrólitos, lincosamida e oxazolinidonas, tal como se refere na **tabela 3** e **figura 4**.

Tabela 3 - Sumário dos antibióticos inibidores da síntese proteica nos ribossomas e respectivo espectro de acção. (Infarmed)

Inibição da síntese proteica nos ribossomas		
30s	Aminoglicosídeos (Estreptomicina, Gentamicina, Canamicina e Amicacina)	Bactérias Gram negativas aeróbias (<i>Klebsiella sp.</i> , <i>Serratia sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i>) e <i>Staphylococcus aureus</i>
	Tetraciclina (Doxiciclina)	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Mycobacterium leprae</i> , <i>Brucella sp.</i> , <i>Rickettsiaceae</i> , <i>Chlamydia sp.</i> e <i>Mycoplasma sp.</i>
50s	Anfenicóis (Cloranfenicol)	<i>Salmonella typhi</i>
	Macrólitos (Eritromicina e Claritromicina)	<i>Chlamydia sp.</i> , <i>Mycoplasma sp.</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Haemophilus ducreyi</i> , <i>Campylobacter sp.</i> e <i>Moraxella catarrhalis</i>
	Lincosamida (Clindamicina)	Bactérias Gram positivas e bactérias anaeróbias
ARNt	Oxazolinidonas (Linezolide)	Estafilococos (incluindo os resistentes à meticilina) e enterococos (incluindo os resistentes à vancomicina)

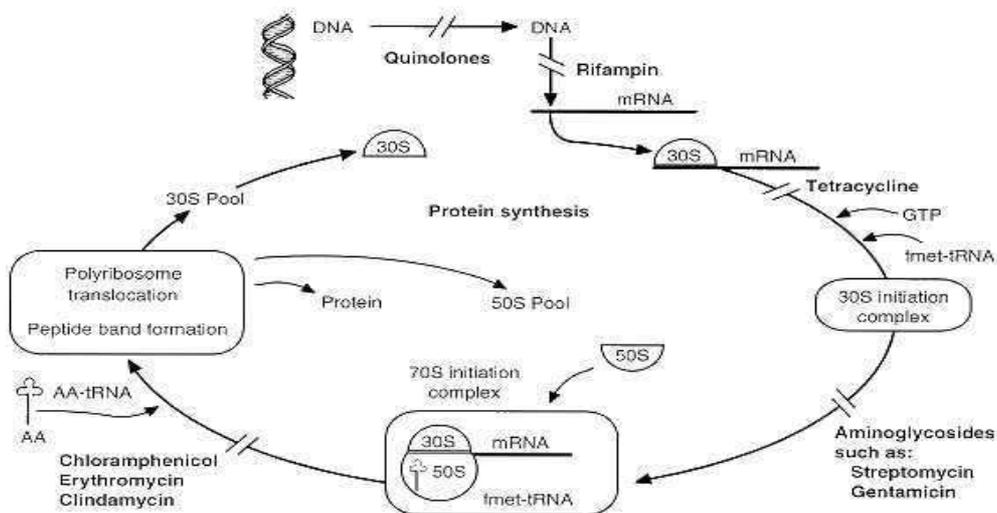


Figura 4 - Acção de diversos antibióticos ao nível da síntese proteica. (Neu & Gootz, 1996)

* Acção na Subunidade 30s

Os **aminoglicosídeos** são usados no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram negativas aeróbias. Exemplos desta classe de antibióticos são a gentamicina, tobramicina e amicacina usados no tratamento inicial de sépsis graves como infecções nosocomiais em combinação com os β -lactâmicos e a estreptomicina e a canamicina indicados no tratamento da tuberculose e brucelose. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

Os antibióticos aminoglicosídeos caracterizam-se por um efeito pós- antibiótico, isto é, a actividade bactericida permanece mesmo com a diminuição da concentração sérica abaixo da concentração mínima inibitória (CIM). Estes antibióticos penetram no interior das bactérias Gram negativas, por difusão facilitada nas porinas presentes na membrana externa. O local de acção é a subunidade 30s dos ribossomas, que é composto por vinte e uma proteínas e uma molécula 16s de ARN. O antibiótico aminoglicosídeo liga-se à proteína 12s na subunidade 30s ribossómica, o que leva a um erro de leitura do código genético. A síntese proteica pode ser inibida de duas formas diferentes, por interferência sobre o complexo de iniciação ou a leitura errónea do ARNm, que leva à incorporação de diferentes aminoácidos, resultando numa proteína não funcional. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

As **tetraciclínas** apresentam um espectro de acção amplo, que engloba a maioria das bactérias Gram positivas e Gram negativas, quer anaeróbias como aeróbias. As tetraciclínas penetram nas bactérias Gram negativas por difusão passiva, através de canais hidrofílicos nas porinas da membrana externa, ou por transporte activo através de um sistema dependente de energia, que bombeia todas as tetraciclínas através da membrana citoplasmática. Estas inibem a síntese proteica através da sua ligação reversível à subunidade 30s, impedindo o acesso do aminoacil-ARNt ao local de acção no complexo ARNm-ribossoma. Desta forma impedem a adição de aminoácidos aos péptidos em formação. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

* Acção na Subunidade 50S

O cloranfenicol (classe dos **anfencóis**) é um antibiótico produzido pelo *Streptomyces venezuelae*, que actua na inibição da síntese proteína nas bactérias. Este antibiótico apresenta-se como bacteriostático, embora tenha acção bactericida na presença de algumas bactérias como, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae*. Em menor escala também afecta as células eucarióticas, porque o ribossoma bacteriano 50s assemelha-se bastante com os

ribossomas 80s das células eucarióticas. Este penetra na bactéria por difusão facilitada, e actua ao nível da subunidade 50s do ribossoma de forma reversível. Apesar da ligação do ARNt ao local de reconhecimento do codão na subunidade 30s não tenha sido atingida, o fármaco parece impedir a ligação da extremidade aminoacil-ARNt ao local do receptor da subunidade ribossómica 50s. A interacção entre a peptidiltransferase e o seu substrato aminoácido não pode ocorrer, levando à inibição da ligação peptídica. É de referir que este antibiótico é prescrito, de preferência, em hospital de forma ao estado de saúde do doente seja controlado, pois o cloranfenicol apresenta uma elevada toxicidade. Por este motivo a administração de cloranfenicol feita em ultimo caso, como por exemplo na brucelose em que há resistência às tetraciclinas. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996; Wolters Kluwer Health, et al., 2012)

Os **macrólitos** possuem na sua constituição anéis de lactona aos quais se ligam um ou mais açúcares. Deste grupo fazem parte a eritromicina, claritromicina e azitromicina. Os macrólitos inibem a síntese das proteínas através da sua ligação reversível à subunidade 50s. A eritromicina é bacteriostática, no entanto em concentrações elevadas é bactericida contra microrganismos muito sensíveis. É bastante eficaz na presença de cocos Gram positivos aeróbios e bacilos, sendo as estirpes de *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae* sensíveis a este antibiótico. Esta não inibe directamente a formação das ligações peptídicas, mas a etapa de translocação na qual a molécula peptil-ARNt recém-sintetizada move-se do local receptor no ribossoma para o local peptidil (local aceitador). As bactérias Gram positivas acumulam cerca de cem vezes mais eritromicina do que as Gram negativas, pois as células são mais permeáveis à forma não – ionizada do fármaco e isso pode explicar o aumento da sua actividade em pH alcalino. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

A clindamicina (classe das **lincosamidas**) é derivada do aminoácido *trans-L-4-n-propilgrínico*, ligando-se a uma octose que contém enxofre. É mais activa na presença das bactérias anaeróbias, especialmente em *Bacillus fragilis*. Este antibiótico só se liga à subunidade 50s ribossómica, impossibilitando a síntese proteica. O uso da clindamicina é comum em bactérias Gram positivas em doentes que apresentem alergia à penicilina. A sua prescrição médica engloba patologias, como faringites, amigdalites, otite média, erisipela entre outros. (Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007)

A clindamicina, eritromicina e cloranfenicol são estruturalmente diferentes, no entanto, exercem a sua acção em locais bastante próximos, apresentando-se como antagonistas, pois a ligação de um deles inibe a ligação dos restantes, não devendo

ser administrados concomitantemente. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007)

* Acção sobre a tARN

Os antibióticos da classe das **oxazolinidonas**, como a linezolide são eficazes na presença de Gram positivos, incluindo estafilococos, estreptococos, enterococos, cocos anaeróbicos Gram positivos e bastonetes Gram positivos, como *Corynebacterium sp.* e *Listeria monocytogenes*. A utilização terapêutica deste antibiótico são as pneumonias nosocomiais e infecções complicadas na pele e nos tecidos moles. Esta inibe a síntese proteica por ligação ao local 23s da subunidade 50s, impedindo a formação do fMet-ARNt que inicia a síntese proteica. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007)

1.2.4. Antibióticos que alteram na síntese dos ácidos nucleicos

Os antibióticos que interferem na síntese dos ácidos nucleicos são as fluoroquinolonas e a rifampicina, tal como descrito na **tabela 4**. (Infarmed)

Tabela 4 - Sumário dos antibióticos que actuam em alterações na síntese dos ácidos nucleicos e respectivo espectro de acção. (Infarmed)

Alterações na síntese dos ácidos nucleicos	
Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina, Norfloxacina e Ofloxacina)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Campylobacter sp.</i> e <i>Neisseria sp.</i>
Rifampicina	<i>Mycobacterium leprae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> e <i>Brucella sp.</i>

As **quinolonas** são os antibióticos mais antigos, em particular o ácido nalidíxico, que era usado no tratamento de infecções do sistema urinário. Tem uma utilidade terapêutica limitada e um rápido desenvolvimento de resistência bacteriana. Face a isto, a introdução mais recente das **fluoroquinolonas**, como a ciprofloxacina, norfloxacina e ofloxacina, representa um avanço terapêutico particularmente importante, visto que estes fármacos são dotados de ampla actividade antimicrobiana e mostram-se eficazes após a administração oral no tratamento de diversas doenças infecciosas. No caso da norfloxacina é indicada nas infecções urinárias baixas, pois concentra-se na urina tornando-se desprovida de acção sistémica. Estas fluoroquinolonas têm um pequeno número de efeitos secundários e não se verifica o rápido desenvolvimento de resistências. Apresentam actividade na presença de

Escherichia coli, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Campylobacter sp.*, *Neisseria sp.* (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

O mecanismo de acção centra-se nas enzimas ADN girase e topoisomerase IV bacteriana. Para muitos Gram positivos (e.g., *Staphylococcus aureus*) a topoisomerase IV é o local primário de inibição das quinolonas. Em contraste para muitos Gram negativos (e.g., *Escherichia coli*) o principal alvo é a ADN girase. Os dois filamentos de ADN dupla hélice devem ser separados para permitir a replicação ou transcrição do mesmo. Entretanto, qualquer factor capaz de separar os filamentos resulta no superenrolamento positivo excessivo do ADN em frente do ponto de separação. Para combater este processo a enzima bacteriana ADN girase é responsável pela introdução contínua de superespirais negativas no ADN. Trata-se de uma reacção dependente de adenosina trifosfato (ATP) e requer a ruptura de ambos os filamentos de ADN para permitir a passagem de um segmento do ADN através da separação, que posteriormente é selada. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

A enzima ADN girase presente em *Escherichia coli* apresenta duas subunidades A e B, codificadas pelos genes *gyrA* e *gyrB* respectivamente. As duas subunidades A desempenham a função de corte dos filamentos da enzima girase, constituindo o local de acção das quinolonas. Os fármacos inibem a superespiral do ADN de forma a impedir o crescimento bacteriano. As mutações do gene que codifica o polipeptídeo das subunidades A podem conferir resistência a esses fármacos. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

A topoisomerase IV é constituída por quatro subunidades codificadas pelos genes *parC* e *parE* na bactéria *Escherichia coli*. A topoisomerase separa as duas novas moléculas de ADN interligadas, que são produto da replicação do ADN pré-existente. Apesar das células eucaróticas não possuírem a ADN girase, exibem a topoisomerase II, que é idêntica. Desta forma desfaz o superenrolamento positivo do ADN eucariótico. As quinolonas só inibem a topoisomerase II das células eucarióticas em concentrações bastante elevadas. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

A **rifampicina** é um antibiótico activo na presença de quase todos os microrganismos. No entanto as indicações terapêuticas restringem-se à lepra (*Mycobacterium leprae*), tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*), brucelose (*Brucella sp.*), portadores de meningococos (*Neisseria meningitidis*) e a profilaxia de infecções por *Haemophilus influenzae* tipo b, porque não existem antibióticos tão efectivos, pois o uso da rifampicina limita-se ao máximo, de forma a não criar resistências bacterianas. É uma classe de antibióticos que são inibidores das ARN-

polimerase. As cadeias peptídicas da ARN-polimerase ligam-se a um factor que confere especificidade para o reconhecimento ao sítio do promotor, onde se inicia a transcrição do ADN. A rifampicina actua ligando-se às cadeias peptídicas de forma não-covalente e interfere especificamente no início do processo de transcrição. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

1.2.5. Antibióticos que alteram os metabolismos celulares

O metabolismo celular retratado neste ponto é a síntese do ácido fólico, que pode ser inibido pelas sulfonamidas ou da sua combinação com o trimetoprim e está sumariamente descrita na tabela 5. (Infarmed)

Tabela 5 - Sumário dos antibióticos que actuam em alterações de metabolismos celulares e respectivo espectro de acção. (Infarmed)

Alteração de metabolismos celulares	
Sulfonamidas (Sulfadiazina)	Cocos Gram positivos e cocos Gram negativos
Sulfametoxazol + Trimetoprim	<i>Pneumocystis jirovecii</i> e estreptococs β hemolítico do grupo A

As **sulfonamidas** foram dos primeiros antibióticos a serem utilizados em doenças infecciosas. Estes possuem um espectro de acção bastante amplo, na presença de Gram positivos e Gram negativos. No entanto nos últimos anos surgiu o desenvolvimento de estirpes resistentes. As sulfonamidas exercem o efeito bacteriostático em *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *ducreyi*, *Nocardia sp.*, *Actinomyces sp.*, *Calymmatobacterium granulomatis* e *Chlamydia trachomatis*. As estirpes de *Neisseria meningitidis* dos sorogrupos B e C tornaram-se resistentes a este antibiótico. (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

O mecanismo de acção baseia-se na analogia face ao ácido para-aminobenzóico (PABA), fazendo com que este não seja utilizado pelas bactérias para a síntese de ácido fólico. Mais especificamente, as sulfonamidas são inibidores competitivos da diidropteroato-sintase¹. Os microrganismos sensíveis são todos aqueles que precisam de sintetizar o seu próprio ácido fólico, as restantes não são afectadas pois são capazes de utilizar o folato pré-formado². (Brody, Lerner, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

O **trimetoprim** é o agente mais activo que exerce um efeito sinérgico quando utilizado com uma sulfonamida. Trata-se de um precursor inibidor competitivo e

¹ Esta enzima é responsável pela integração do PABA no ácido diidropteróico, precursor imediato do ácido fólico;

² Este é o motivo pelas quais as células mamíferas não são afectadas;

selectivo da diidrofolato redutase microbiana³. Desta forma a administração concomitante destes leva a bloqueios sequenciais na síntese de tetraidrofolato do microrganismo a partir de moléculas precursoras. (Brody, Lamer, & Minneman, 1998; Goodman & Gilman's, 2008; Katzung, 2007; Neu & Gootz, 1996)

O cotrimoxazol é a combinação de uma sulfonamida, a sulfametoxazol, com o trimetoprim, sendo usado em caso de infecções renais e urogenitais, no aparelho gastrointestinal e na pele. Este é o antibiótico utilizado como primeira linha para a pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, e o mecanismo de acção dos dois antibióticos está representado na **figura 5**. (Infarmed)

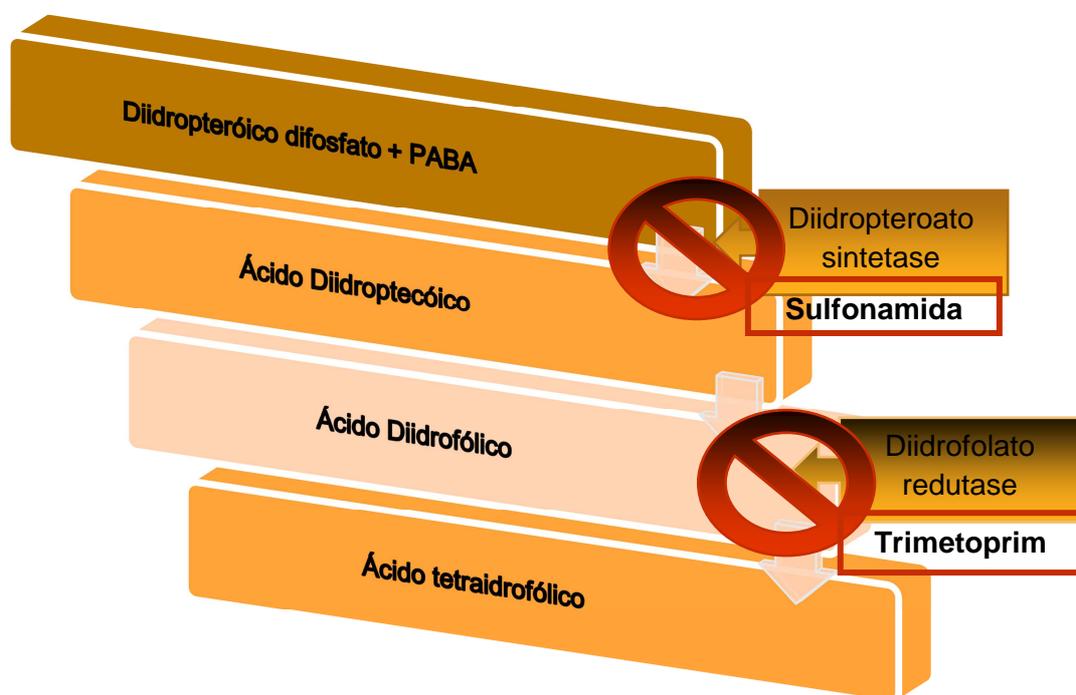


Figura 5 - Representação esquemática dos locais de acção das sulfonamidas e trimetoprim. Adaptado de (Osório & Morgado, 2011)

³ Esta enzima reduz o diidrofolato a tetraidrofolato.

2. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos

Os mecanismos de resistência podem ser intrínsecos do microrganismo ou adquiridos por transmissão de material genético ou mutação. ^(Rice & Bonomo, 2005; Veiga, 1984)

2.1. Bases genéticas da resistência aos antibióticos

A resistência acontece através de dois grandes mecanismos: mutação num *loci* do cromossoma ou transferência horizontal de genes, isto é, por aquisição de genes de resistência anteriormente presentes noutros microrganismos. ^(Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007) Os genes responsáveis pela resistência contidos em plasmídeos, normalmente codificam enzimas que inactivam os antibióticos ou reduzem a permeabilidade das células. Em contraste, a resistência conferida por mutações cromossomais envolve a modificação do alvo. ^(Neihardt, 2004)

Quando se fala da evolução das bactérias é imprescindível referir as mutações que possam ocorrer, quer sejam induzidas quer sejam espontâneas. As mutações são alterações na estrutura dos genes, que podem ocorrer durante a replicação, e encontram-se sumariamente descritas na **tabela 6**. As mutações induzidas devem-se à acção da radiação, como por exemplo a ultravioleta ou ionizante, os agentes alquilantes, a hidroxilamina ou a presença de espécies reactivas de oxigénio (ROS). Se o erro for um benefício para a bactéria, como no caso da resistência aos antibióticos, então tenderá a predominar naquela espécie. Assim o maior problema da resistência mediada por mutação é a sua transmissão às gerações seguintes, o que torna a bactéria resistente predominante. ^(Mayer, 2012; Neihardt, 2004; Veiga, 1984)

Tabela 6 - Descrição dos tipos de mutação que podem ocorrer. (Neihardt, 2004)

Tipo de mutação	Descrição	Consequências da mutação
Reposição	Transição	Troca de uma pirimidina por outra ou de uma purina por outra
	Transversão	Troca de uma purina por uma pirimidina ou vice-versa
Delecção	Macrodelecção	Remoção de vários nucleótidos
	Microdelecção	Remoção de um ou dois nucleótidos
Inserção	Macroinserção	Inclusão de vários nucleótidos
	Microinserção	Inclusão de um ou dois nucleótidos
Inversão	Remoção de uma porção de ADN e inserção da mesma noutra local do cromossoma de forma invertida	Codificação de proteínas não funcionais

A transferência horizontal de genes é um processo de aquisição de material genético entre bactérias da mesma espécie ou espécies diferentes. Pode ocorrer por três mecanismos, transformação, transdução ou conjugação (ver **figura 6 e 7**) e ainda por transposição. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Todar, 2012)

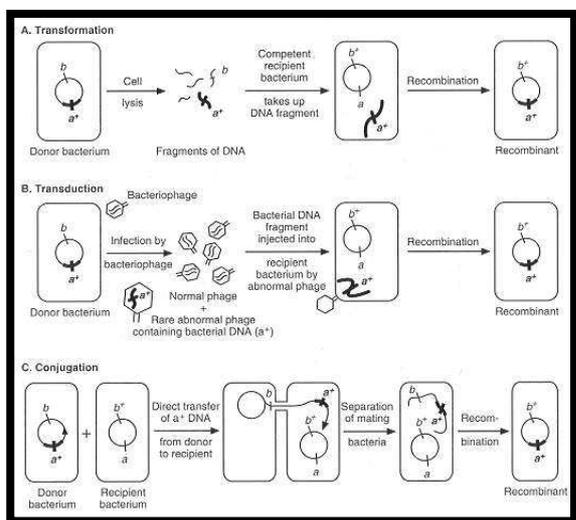


Figura 6 - Representação esquemática da transferência horizontal de gene. (Holmes & Jobling, 1996)

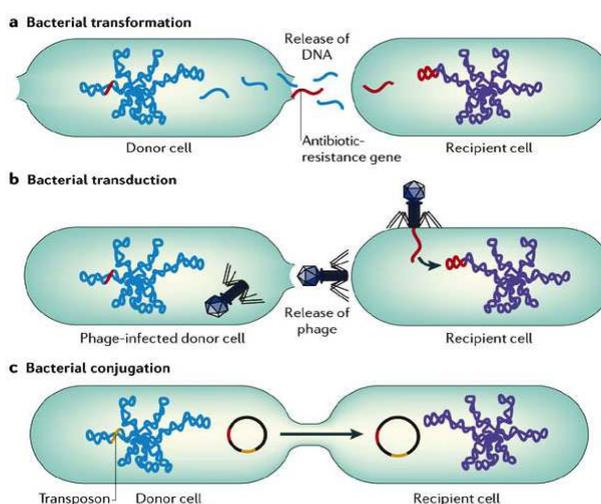


Figura 7 - Representação ilustrada da transferência horizontal de gene. (Furuya & Lowy, 2006)

Este processo de transmissão de genes é possível devido à presença de estruturas específicas no ADN designadas de integrões. Estes são porções de ADN com capacidade para capturar genes que codificam a resistência a antibióticos por recombinação num local específico. (Rice & Bonomo, 2005)

* Transferência horizontal de genes por transformação

Na transformação a bactéria recebe partes de ADN presentes no meio envolvente. A bactéria receptora irá englobar no seu material genético as fracções de ADN adquiridas. Esta porção de ADN tem de ter pelo menos 500 nucleótidos para se conseguir integrar no ADN hospedeiro, e resulta da morte ou lise de outra bactéria. Este mecanismo foi descoberto em *Streptococcus pneumoniae*, em 1928 por F. Griffith, tendo sido mais tarde encontrado em *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus sp.*. Esta capacidade de englobar material genético extracelular e sofrer transformação é designada de competência. Em muitas bactérias, esta capacidade está codificada nos genes cromossómicos, que se tornam activos em determinadas condições externas. Em *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis* ocorre a baixa afinidade para as PBPs, devido à formação de genes mosaicos das PBPs. Os genes mosaicos contêm segmentos de genes normais que codificam as PBPs de pneumococos, meningococos e gonococos, mas também regiões que sofreram transformação, por aquisição de segmentos genéticos relativos a resistência à penicilina em *Streptococcus pneumoniae* ou na *Neisseria sp.* (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Holmes & Jobling, 1996; Neihardt, 2004; Ryan & Ray; Todar, 2012)

* Transferência horizontal de genes por transdução

A transdução envolve a presença de bacteriófagos (também designados de fagos), que funcionam como vectores do ADN, do dador para o hospedeiro. Cada fago transporta uma porção pequena de ADN da bactéria destruída anteriormente, protegendo a sua integridade das nucleases existentes no meio envolvente. (Mayer, 2012) Ao infectar uma nova bactéria, a porção de ADN irá integrar-se no ADN da bactéria infectada. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Rice & Bonomo, 2005; Todar, 2012) Este mecanismo explica a rápida propagação e aumento das β -lactamases que conferem resistência em algumas bactérias como em *Staphylococcus aureus*. Pensa-se que a resistência adquirida em *Staphylococcus aureus* à metilina advém do mecanismo de transdução. Tal é fundamentado pelo tamanho reduzido da porção cromossómica puder ser transportada pelo bacteriófago. (Rice & Bonomo, 2005)

* Transferência horizontal de genes por conjugação

A conjugação é um processo que ocorre entre células bacterianas, da mesma ou de diferentes espécies, que ao entrarem em contacto directo trocam pequenas porções de material genético, como plasmídeos. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Neihardt, 2004; Rice & Bonomo, 2005; Todar, 2012) Este método foi descoberto por J. Lederberg e E. Tatum, em 1946, ao

observarem a transferência de genes cromossômicos entre duas estirpes *Escherichia coli*. O plasmídeo apresenta-se como uma porção de ADN extracromossômico, que contém genes que permitem a sua replicação autónoma e transferência para outras células. (Mayer, 2012) Alguns plasmídeos contêm um grupo de genes, designados de *tra*, que significa *transfer*, e que têm a capacidade de realizar a transferência do mesmo da bactéria dadora (F⁺) para a receptora (F⁻), por formação do *pili*, codificado pelo factor F (ou factor de fertilidade), representado na **figura 8**. (Neihardt, 2004) No que respeita à resistência aos antibióticos, o plasmídeo designa-se de R plasmídeo, pois inclui genes que conferem resistência aos antibióticos. (Neihardt, 2004)

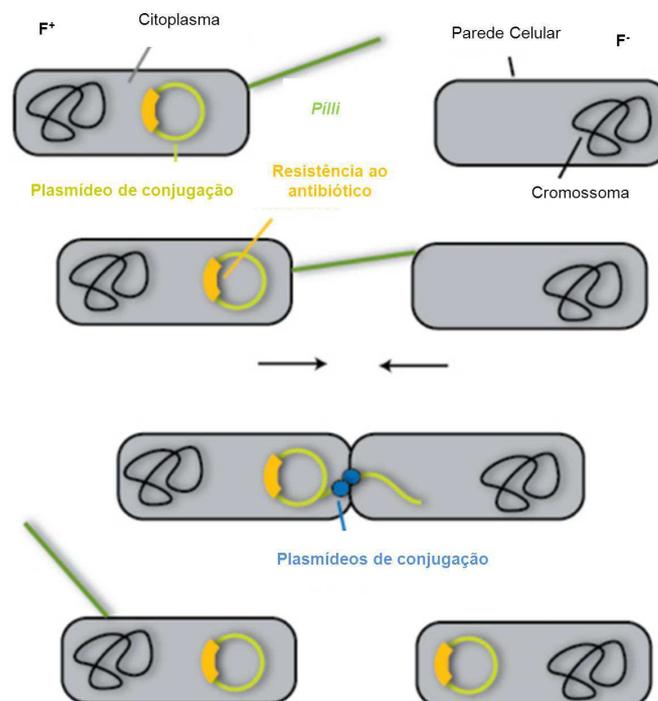


Figura 8 - Representação esquemática da transferência de genes por conjugação. (IGEM, 2013)

Nas bactérias Gram positivas, como por exemplo *Enterococcus faecalis*, a conjugação ocorre mediada por plasmídeos e o envolvimento de genes cromossômicos. A interação entre a célula dadora e a célula receptora dá-se através de proteínas de adesão presentes na dadora. A célula receptora é reconhecida pela libertação de fero-hormonas. Desta forma dá-se a interação entre as duas células, sendo transferindo o plasmídeo. (Neihardt, 2004)

✦ Transposição

A transposição é um processo de transferência genética, resultante da interação entre duas bactérias diferentes, que na maioria das vezes utiliza a conjugação como via, tal como se pode verificar na **figura 9** e **tabela 7**. Os fragmentos de ADN

transferidos designam-se de transposões (Tn). Estes são genes ou grupos de genes que se incorporam num genoma, plasmídeo ou cromossoma através de recombinação. Desta forma, a mobilidade apresentada deve-se à ausência de homologia entre os ADNs recombinantes. Um transposão pode ser estável ao incorporar um dado cromossoma ou plasmídeo de uma bactéria. É de citar que o transposão responsável pela β-lactamase TEM da resistência à ampicilina (Tn^A) pode passar de um plasmídeo para outro, do plasmídeo para o cromossoma e do cromossoma para o plasmídeo. (Mayer, 2012; Neihardt, 2004; Veiga, 1984; Pádua, 2009) Um exemplo de transposão conjugativo é o Tn⁹¹⁶, encontrado em *Enterococcus faecalis*, e contém o gene que confere resistência à tetraciclina. Desta forma ocorre a conjugação entre bactérias, por transferência do respectivo transposão. (Neihardt, 2004)

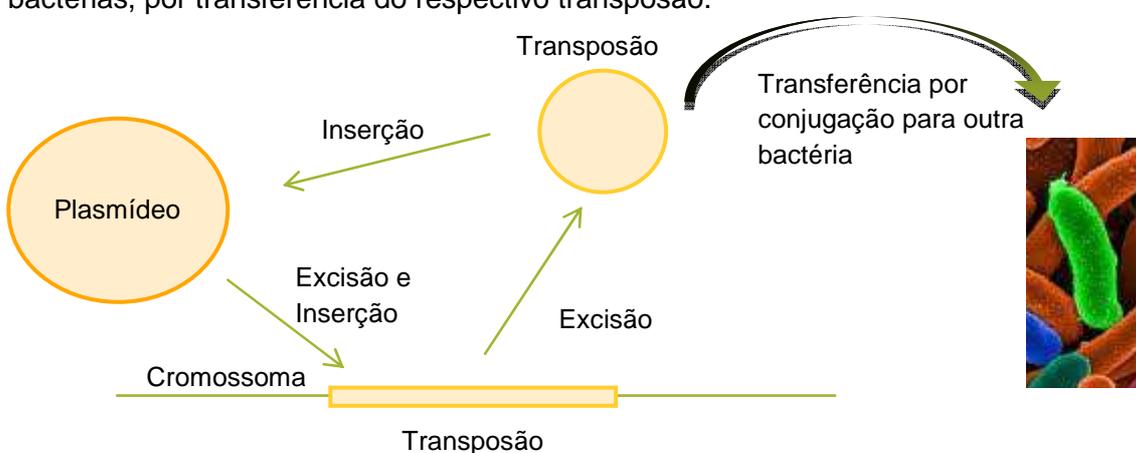


Figura 9 - Representação esquemática da transposição. Adaptado de (Pádua, 2009)

Tabela 7 - Exemplos de bases genéticas em alguns antibióticos. (Foster, 1996)

Antibiótico	Mecanismo de resistência	Base genética dos mecanismos de resistência
Penicilina	Inativação enzimática pela β-lactamase	Transferência por plasmídeo
Meticilina	Expressão de nova PBP	Novo locus cromossomal adquirido
Tetraciclina	Efluxo	Transferência por plasmídeo
	Modificação do ribossoma	Novo locus cromossomal adquirido
Cloranfenicol	Inativação enzimática	Transferência por plasmídeo
	Modificação enzimática o ARN ribossomal (previne a ligação do ARN ao ribossoma)	Transferência por plasmídeo
Estreptomicina	Mutação na proteína ribossomal (previne a ligação do antibiótico)	Mutação no gene cromossomal que codifica o alvo do antibiótico
	Inativação enzimática	Transferência por plasmídeo
Canamicina e Gentamicina	Inativação enzimática	Transferência por plasmídeo e transposão no cromossoma
Trimetoprim	Diidrofolato redutase	Transferência por plasmídeo
Fluoroquinolonas	Alteração da enzima ADN girase	Mutação no gene cromossomal que codifica o alvo do antibiótico
	Efluxo	Mutação aumenta a expressão natural do mecanismo de efluxo

2.2. Resistência Natural

A resistência natural é uma característica intrínseca de um microrganismo, que ocorre sem uma exposição prévia ao antibiótico. O conhecimento da resistência intrínseca das diferentes espécies ajuda a escolher as estratégias de tratamento empírico. (Rice & Bonomo, 2005) Na **tabela 8** pode-se encontrar alguns exemplos de resistência natural.

A resistência das bactérias a determinados antibióticos deve-se a três possíveis razões:

- * A ausência de um processo metabólico influenciável pelo antibiótico; (Veiga, 1984)
- * Existência de enzimas que apresentem a capacidade de inativar o antibiótico; (Veiga, 1984)
- * Presença de particularidades inerentes à morfologia bacteriana. (Veiga, 1984)

Tabela 8 - Resistência intrínseca de algumas bactérias na presença de certos antibióticos. (Michigan State University, 2011)

Microorganismo	Antibiótico	Mecanismo de resistência intrínseco
Bactérias estritamente anaeróbias	Aminoglicosídeos	Incapacidade de atravessar a membrana interna, que se caracteriza por um processo dependente de oxigénio. A resistência ocorre, pois estas bactérias carecem do transporte adequado à entrada do antibiótico. As bactérias aeróbias facultativas só apresentam resistência quando crescem em condições de anaeróbiose (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)
Gram positivos	Aztreonam	Baixo número de PBPs onde se dá a ligação do antibiótico
Gram positivos (<i>Lactobacilli</i> sp. e <i>Leuconostoc</i> sp.)	Vancomicina	Redução do alvo na parede celular impedindo a entrada do antibiótico
<i>Klebsiella</i> sp.	Ampicilina	Deve-se à produção de β -lactamases, que inactivam o antibiótico
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Imipenem	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sulfonamida, trimetoprim, tetraciclina e cloranfenicol	Diminuição da entrada do antibiótico, levando a concentrações intracelulares muito baixas
	Macrólitos	A membrana externa destas bactérias apresenta uma baixa permeabilidade a substâncias hidrofóbicas (Pérez, 2012)
<i>Mycoplasma</i> sp.	β -lactâmicos	Ausência de parede celular, onde actua o antibiótico (Pérez, 2012)
Enterococos	Aminoglicosídeos	Diminuição do metabolismo oxidativo para que ocorra a entrada do antibiótico
	Todas cefalosporinas	Decréscimo de PBPs e a produção de β -lactamases. (Rice & Bonomo, 2005)
Bacilos Gram negativos	MLS _B	Diminuição da permeabilidade na membrana externa aos compostos hidrofóbicos (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

2.3. Resistência Adquirida

Existem quatro grandes mecanismos de resistência aos antibióticos que são: a alteração da permeabilidade, a alteração do local de acção, a bomba de efluxo e o mecanismo enzimático que altera a estrutura química do antibiótico. Estes mecanismos estão representados na **figura 10** e os antibióticos afectados pelos mesmos estão enumerados na **figura 11**.

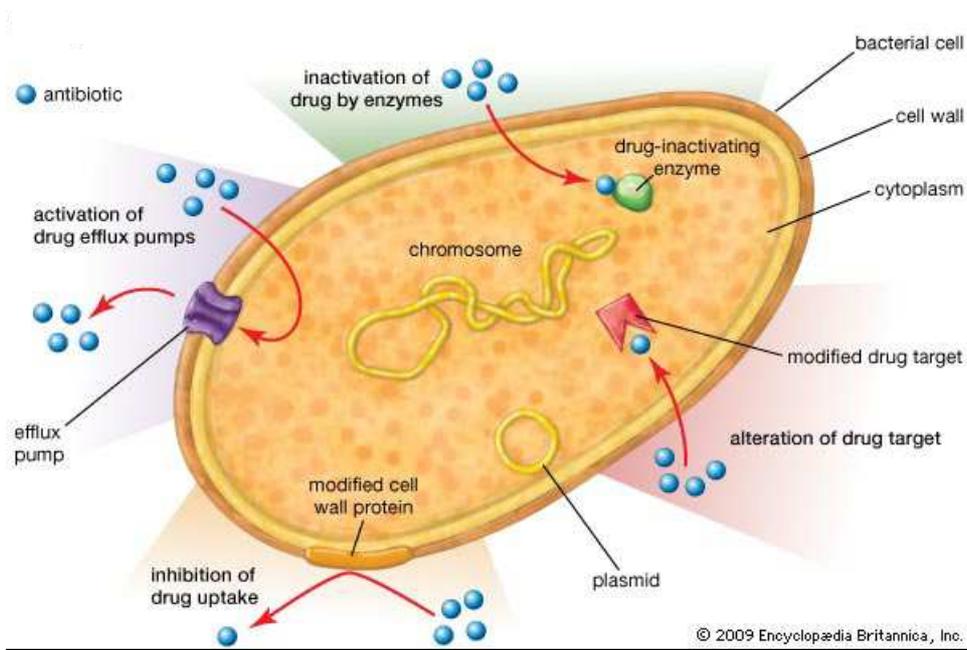


Figura 10 - Representação dos diversos tipos de mecanismos de resistência bacteriana. (S., 2009)

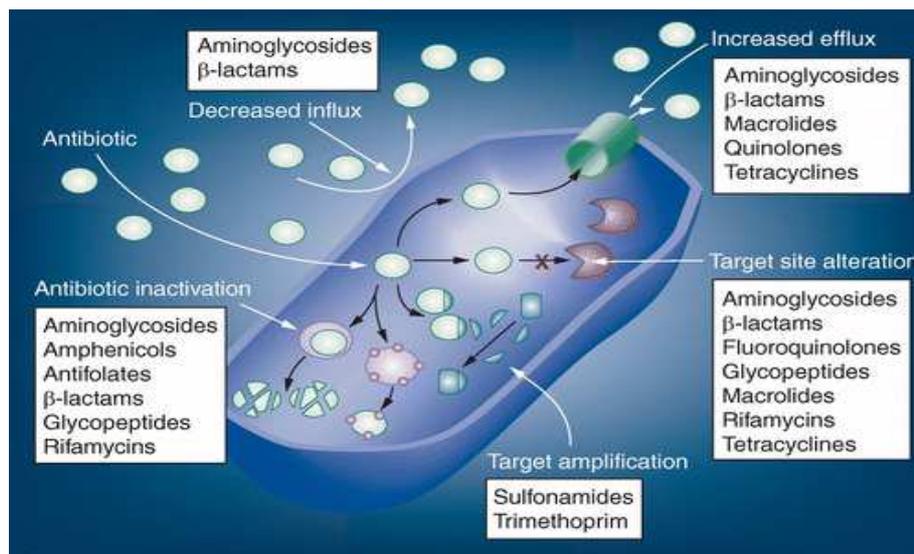


Figura 11- Antibióticos afectados pelos diversos mecanismos de resistência das bactérias. (Schmieder & Edwards, 2012)

2.3.1. Alteração da permeabilidade

A permeabilidade da membrana celular é essencial para que o antibiótico tenha o efeito desejado, quer seja bactericida quer bacteriostático. (Goodman & Gilman's, 2008)

Nas bactérias Gram negativas, a membrana interna é constituída por fosfolípidos e a membrana externa por lípidos. A sua constituição confere uma lenta penetração do fármaco e a passagem pela membrana externa é realizada através das porinas, que formam canais hidrofílicos. Os fármacos podem penetrar através da membrana celular de três formas, através da difusão pela porinas, por difusão na bicamada fosfolipídica ou por *self promoted uptake*. A penetração na bactéria depende das características intrínsecas das moléculas de antibiótico. Desta forma os compostos hidrofílicos penetram através das porinas (e.g., β -lactâmicos) ou por *self promoted uptake* (e.g., aminoglicosídeos). (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Declour, 2009)

Neste tipo de resistência, a modificação da permeabilidade do antibiótico pode dever-se às alterações estruturais, do número, da selectividade ou do tamanho das porinas. (Ryan & Ray) Os antibióticos como os β -lactâmicos, fluoroquinolonas e tetraciclina penetram no interior da célula através de porinas presentes na membrana externa. Qualquer diminuição na função ou quantidade de porinas levará à resistência da bactéria ao antibiótico, baixando o nível de antibiótico no interior da bactéria, tal como está representado na **figura 12**. (Declour, 2009)

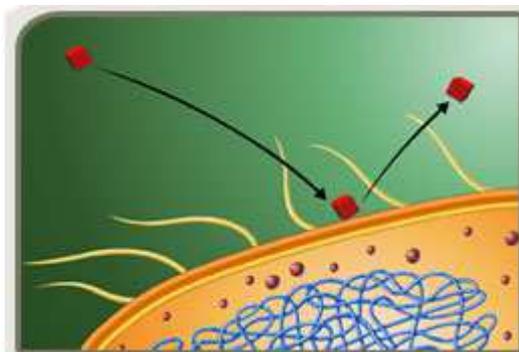


Figura 12 - Representação da alteração da permeabilidade da membrana externa de algumas bactérias. (Anvisa, 2007)

Este é o mecanismo de resistência observado relativamente aos aminoglicosídeos, à fosfomicina, quinolonas e tetraciclina. (Neu & Gootz, 1996)

* Resistência aos **aminoglicosídeos**

Os antibióticos aminoglicosídeos conseguem penetrar tanto em bactérias Gram positivas como em Gram negativas. A resistência a estes antibióticos, em parte, está relacionada com a falta de transporte dependente de oxigénio. Pode dever-se a um defeito na proteína de ligação, isto é na enzima adenilato ciclase ou na adenosina monofosfato cíclica (cAMP). Esta alteração ocorre em certos Gram positivos como a

Staphilococcus aureus. No que respeita à família *Enterobacteriaceae* e *Pseudomona aeruginosa* a resistência deve-se à alteração das porinas. (Neu & Gootz, 1996)

* Resistência à **fosfomicina**

A fosfomicina entra na célula por um sistema de transportes de glucose-6-fosfato ou glicerol-fosfato. Este sistema de transporte não está muito desenvolvido nas bactérias Gram positivas, sendo que a concentração do antibiótico no interior da célula, não alcança o mínimo para inibir a síntese da parede celular. Em relação às bactérias Gram negativas a resistência dá-se pois algumas bactérias conseguem sobreviver sem este transportador, enquanto outras recebem plasmídeos e transposões que codificam a resistência a estes antibióticos, como por exemplo *Serratia marcescens*. (Neu & Gootz, 1996)

* Resistência às **quinolonas**

Para que as fluoroquinolonas exerçam a sua função é necessário alcançarem o citoplasma, onde estão localizadas as enzimas ADN girase e topoisomerase IV. No entanto as alterações que ocorrem na membrana externa das bactérias Gram negativas estão relacionadas com um decréscimo do *uptake* e aumento da resistência a esta classe de antibióticos. No que respeita às Gram positivas, esta diminuição do *uptake* ainda não foi comprovada, no entanto, verificam-se baixos níveis intrínsecos de fluoroquinolonas. (Rice & Bonomo, 2005)

* Resistência às **tetraciclina**s

No que respeita às tetraciclina, um dos mecanismos plausíveis para a alteração de permeabilidade destes antibióticos é a alteração das porinas, como a OmpF. Assim há a limitação da difusão do antibiótico para a zona periplasmática das bactérias Gram negativas. (Speer, Shoemaker, & Salyers, 1992)

2.3.2. Alteração do local de acção

Este tipo de resistência caracteriza-se pela diminuição ou mesmo ausência de afinidade do antibiótico ao local de ligação. Esta ocorre por alteração da estrutura do peptidoglicano, interferência na síntese de proteínas ou na síntese de ADN, tal como se verifica na representação na **figura 13**. (Rice & Bonomo, 2005; Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

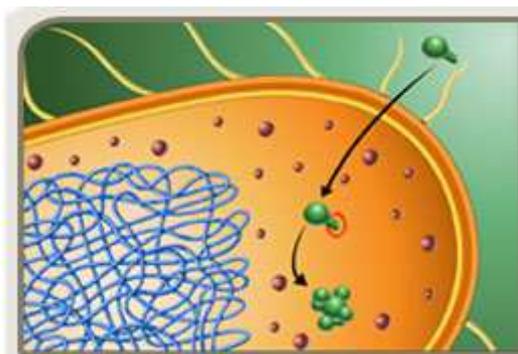


Figura 13 - Representação da alteração do local de acção do antibiótico. (Anvisa, 2007)

- Alteração da estrutura do peptidoglicano

A alteração da estrutura do peptidoglicano consiste na inibição das enzimas que participam na construção do mesmo. Este mecanismo de resistência é observado em diversos antibióticos tais como, β -lactâmicos e glicopeptídeos. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

★ Resistência aos **β -lactâmicos**

No que respeita à resistência aos antibióticos β -lactâmicos, provém de mutações nas PBPs que levam à diminuição da afinidade da ligação do antibiótico ao local de acção. As bactérias *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina, e *Streptococcus pneumoniae* resistentes à penicilina são exemplos da resistência aos antibióticos β -lactâmicos. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

O *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus sp.* de coagulase negativa adquiriram o gene cromossómico, *mecA*, codificando a PBP, que os torna resistentes aos β -lactâmicos. A resistência à meticilina e oxacilina por parte do *S. aureus* (MRSA – methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*), ocorre na presença do gene *mecA*, que codifica a PBP2a. Esta é uma nova PBP distinta das restantes presentes nesta bactéria e que diminui a afinidade pela maioria dos antibióticos β -lactâmicos. A elevada resistência deste gene provoca inibição de todos os β -lactâmicos, e mantém activa a síntese da parede celular mesmo na presença de concentrações letais do antibiótico. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Hawkey, 1998)

Os estreptococos apresentam codificação para seis PBPs diferentes, tais como PBP1a, PBP1b, PBP2a, PBP2b, PBP2x e PBP3. Tanto em *Streptococcus pneumoniae*, como em *Streptococcus mitis* ocorre a presença de PBPs especiais, como a PBP2a, que reduz a afinidade pela penicilina e a PBP2x que diminui a afinidade pela cefotaxima. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

- * Resistência aos **glicopeptídeos**, tais como a vancomicina e a teicoplanina

A resistência adquirida aos antibióticos glicopeptídeos, como a vancomicina e teicoplanina, tem como base a alteração do local de ligação, isto é, a passagem da acil-*D*-Ala-*D*-Ala para acil-*D*-Ala-*D*-Lac ou acil-*D*-Ala-*D*-Ser no terminal C. Esta mutação deve-se à presença do gene *vanA*, que resulta no fenótipo VanA, uma nova enzima *D*-Ala-*D*-Ala ligase. Com esta mutação a afinidade da vancomicina e teicoplanina diminui face à camada de peptidoglicanos primitiva. Caso a alteração ocorra devido ao gene *vanB*, então a resistência adquirida é só conferida à vancomicina. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Fluit, Visser, & Schmitz, 2001; Wright, 2003)

- * Interferência na síntese de proteínas

Uma das formas de resistência é a modificação do alvo específico, interferindo com a síntese de proteínas (e.g., aminoglicosídeos, tetraciclina, macrólitos, estreptograminas, oxazolidinonas) ou na transcrição através da ARN-polimerase (e.g., rifampicina). (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

- * Resistência a **macrólitos, lincosamida e estreptogramina B**

Os macrólitos, lincosamida e estreptogramina B (MLS_B) actuam ligando-se à subunidade 50s do ribossoma, das bactérias Gram negativas, bloqueando a síntese proteica. A resistência dá-se por alteração no 23s ARNr, sendo que acontece na pós – transcrição por acção da enzima adenina-N⁶-metiltransferase. O gene *erm* está envolvido na síntese destas metilases. Para além das mutações no 23s ARNr, também se podem suceder alterações nas proteínas L4 e L22 da subunidade 50s, o que confere resistência aos macrólitos em *Streptococcus pneumoniae*. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

- * Resistência às **oxazolinonas**, como a linezolid

O mecanismo de acção das oxazolinonas, como a linezolid, envolve diversos estágios na síntese de proteínas. Quando ocorre a ligação, não se dá a formação do complexo de iniciação, o que interfere com a translocação do peptidil-ARNt do sítio A para o sítio P. A resistência tem sido relatada numa série de microrganismos, incluindo em *Enterococcus sp.* e está associada às mutações no 23s ARNr, resultando na diminuição da afinidade da ligação. (Rice & Bonomo, 2005)

- * Resistência aos **aminoglicosídeos**

Quando ocorrem mutações no gene 16s ARNr verificam-se resistência aos aminoglicosídeos. Por exemplo, ao haver metilação pós-transcricional do 16s ARNr, afecta a ligação dos antibióticos aminoglicosídeos. Em relação à resistência à

estreptomicina em *Mycobacterium tuberculosis* é adquirida, por mutações cromossomais no gene *rpsL*, que codifica para a proteína ribossômica 12s. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

* Resistência às **tetraciclínas**

Existem proteínas no citoplasma que protegem o ribossoma de ser alvo das tetraciclínas. Estas actuam ligando-se ao ribossoma e alteram a sua conformação, protegendo o ribossoma da acção destes antibióticos. Os antibióticos mais afectados com este mecanismo são a doxiciclina e minociclina. Esta forma de resistência é mais acentuada do que a verificada pela presença de proteínas de efluxo, explicado no ponto **2.3.3**. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001; Rice & Bonomo, 2005)

✦ Interferência na síntese de ADN

Este mecanismo de resistência por interferência na síntese da ADN está descrito para os antibióticos fluoroquinolonas. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

* Resistência às **fluoroquinolonas**

A resistência às fluoroquinolonas deve-se às mutações em regiões específicas nos genes estruturais, que fazem com que o antibiótico não se ligue às enzimas. Esta é a mutação mais comum encontrada na presença destes antibióticos. Nas bactérias Gram negativas a ADN girase é o principal alvo de todas as quinolonas. Nas bactérias Gram positivas tanto pode ser a ADN girase como a topoisomerase IV, dependendo da fluoroquinolona considerada. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

A região que determina a resistência às quinolonas é caracterizada por uma pequena região de codões do 67 ao 106 no GyrA, na bactéria *Escherichia coli*. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001) Embora se pense que as quinolonas interajam principalmente com a subunidade A da ADN girase, foram descobertas mutações na subunidade B, o que confere resistência no caso das bactérias *Escherichia coli*. No entanto a frequência de mutações no gene *gyrB* é menor do que no gene *gyrA*, na maioria das espécies. Em relação à enzima topoisomerase IV, a sua subunidade ParC é homóloga à GyrA e a subunidade ParE é análoga à GyrB. As bactérias Gram positivas, tais como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*, têm sido alvo de estudo desta resistência. As mutações ocorrentes codificam uma alteração de aminoácido, na amina terminal do ParC, em ambos estafilococos. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

2.3.3. Bomba de Efluxo

As bombas de efluxo são proteínas presentes nas membranas, representadas na **figura 14**. Neste tipo de resistência ocorre um efluxo, isto é, o transporte activo dos antibióticos do meio intracelular para o meio extracelular. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

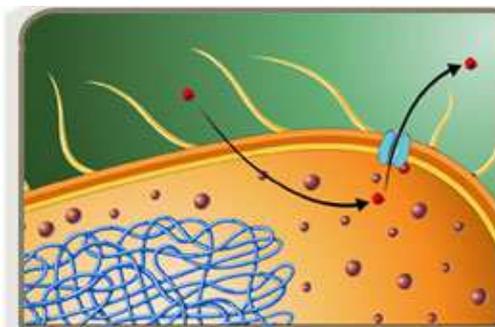


Figura 14 - Representação dos mecanismos de resistência através da existência de bombas de efluxo. (Anvisa, 2007)

Este mecanismo afecta todas as classes de antibióticos, no entanto apresenta maior eficácia na presença de macrólitos, tetraciclina e fluoroquinolonas, pois estes inibem a biossíntese de proteínas e de ADN. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

Existem diversos tipos de bombas de efluxo, que se categorizam em cinco classes de transportadores, tais como, *major facilitator family* (MFS), *multidrug and toxic efflux* (MATE), *resistance-nodulation-division family* (RND), *small multidrug resistance* (SMR), *adenosine triphosphate binding cassette* (ABC).³ A MFS, MATE, RND e SMR funcionam por troca de prótons, enquanto que a ABC actua por hidrólise de ATP. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

* Resistência às **tetraciclina**s

No caso das tetraciclina pode haver efluxo devido a bombas de efluxo da classe MFS. Estas proteínas exportadoras estão associadas às proteínas de membrana cuja a síntese é codificada pelo gene *tet*. Com o aumento do efluxo, a concentração de antibiótico irá diminuir intracelularmente, fazendo com que a aminoacil-ARNt se ligue no local A do ribossoma. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

* Resistência aos **MLS_B**

Nas últimas décadas, o número de resistências em bactérias Gram positivas têm vindo a aumentar na presença do grupo de antibióticos MLS_B. Esta situação deve-se à presença de genes, que codificam a síntese das proteínas que constituem as bombas de efluxo nestas bactérias. Em tempos, julgava-se que a resistência aos macrólitos era simplesmente codificada pelo gene *erm*. No entanto, hoje em dia sabe-se que esta resistência é codificada pelos genes *mef*, *msr* e *vga*, em cocos Gram positivos. Estes codificam as bombas de efluxo que levam à saída dos antibióticos MLS_B, diminuindo a

sua concentração no interior da célula, deixando o ribossoma disponível para a síntese proteica. Foram caracterizados dois genes *mef*, o gene *mefA*, descoberto no *Streptococcus pyogenes* e o gene *mefE*, encontrado em *Streptococcus pneumoniae*. Os estreptococos só possuem o gene *mef*, o que confere resistência aos macrólitos, e não aos restantes antibióticos do grupo MLS_B. No que respeita aos genes *msr*, estes codificam a resistência aos macrólitos e à estreptogramina B. Foram caracterizados dois genes *msr*, o *msrA* e o *msrB* em *Staphylococcus aureus*. Também foram encontrados outros genes, como o *vga* e o *vgaB* em estafilococos, que codificam a resistência à estreptogramina A. As bombas de efluxo específicas para a lincomicina são codificadas pelo gene *ImrA*, encontrado em *Streptomyces lincolnensis*. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

* Resistência às **fluoroquinolonas**

As fluoroquinolonas para conseguirem exercer a sua acção, é necessário entrarem na célula bacteriana. Tanto as bactérias Gram negativas como as bactérias Gram positivas apresentam sistemas de efluxo dependente de energia não específicos. Por exemplo, nas bactérias *Escherichia coli* a bomba de efluxo AcrAB-TolC é a principal responsável pelo efluxo destes antibióticos. O mecanismo de resistência presasse pela mutação no gene *acrR* que aumenta a actividade da bomba de efluxo. (Jacoby, 2005)

2.3.4. Mecanismo enzimático

O mecanismo enzimático de resistência devido a inactivação do fármaco resulta da produção, pela bactéria, de enzimas que degradam ou inactivam o antibiótico, como se verifica na **figura 15**. Existem três grandes estratégias, tais como, hidrólise, transferência de um grupo ou processo redox. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

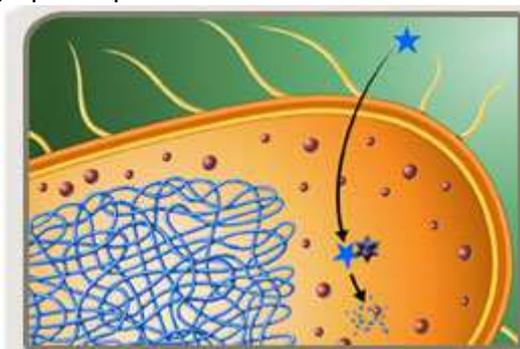


Figura 15 – Representação da destruição enzimática do antibiótico em algumas bactérias. (Anvisa, 2007)

* Hidrólise de antibióticos

A estrutura dos antibióticos contém grupos ésteres e amidas, fazendo com que sejam susceptíveis às hidrolases. A quebra da ligação destes grupos é feita na

presença destas enzimas, que podem ser excretadas pelas bactérias, actuando na inactivação do antibiótico antes que este atinja o seu alvo. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

* Resistência aos β -lactâmicos

O caso clássico são as amidases hidrolíticas, isto é, as β -lactamases, que quebram o anel β -lactâmico das penicilinas e cefalosporinas. Existem dois mecanismos moleculares empregados pelas enzimas β -lactamases para hidrólise destes antibióticos. Assim, a quebra do anel β -lactâmico pode dever-se à acção do nucleófilo Ser ou através do grupo dependente de zinco, nas designadas metalo- β -lactamase, que é activado na presença de água (ver **figura 16**). Muitas bactérias Gram negativas e Gram positivas produzem diversas enzimas, entre as quais diversos tipos de β -lactamases. As β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) medeiam a resistência a todas as penicilinas, cefalosporinas (por exemplo ceftazidima, cefotaxima e ceftriaxona) e aztreonam. Existem mais de 180 ESBLs identificadas, principalmente em *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e outras *Enterobacteriaceae*. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001; Hawkey, 1998; Rice & Bonomo, 2005; Wright, 2003; Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007)

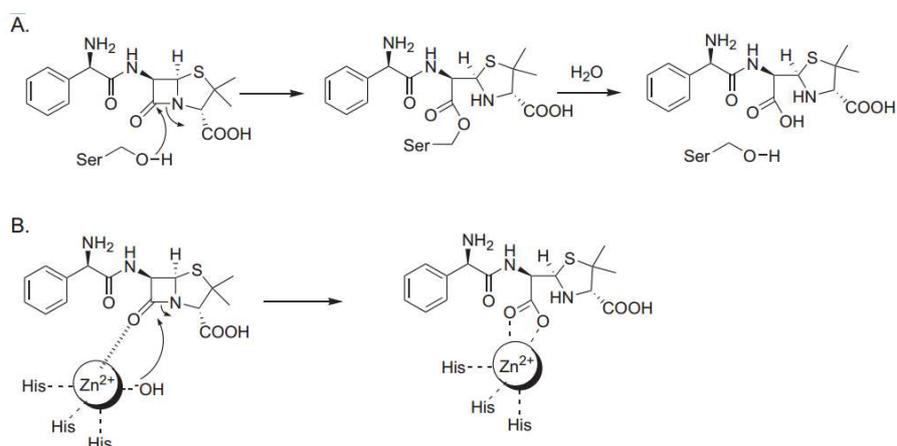


Figura 16 – Alteração enzimática do antibiótico amoxicilina pela Ser- β -lactamase (A) e metalo- β -lactamase (B) (Wright, 2003)

* Transferência de grupos

O segundo mecanismo de inactivação dos antibióticos é o de transferência de grupos, nos quais se realizam as enzimas transferases. Os antibióticos mais afectados são os aminoglicosídeos, anfenicóis, fosfomicina, estreptograminas e macrólitos, nos quais há a aquisição dos diversos grupos químicos, como o adenilil, fosforil ou acetil. Desta forma a ligação antibiótico – alvo fica comprometida. As reacções que podem suceder são O-acetilação, N-acetilação, O-fosforilação, O-nucleotidilação, O-ribosilação, O-glicosilação e transferência do grupo tiol. Estas dependem da presença

de co-substratos como ATP, acetil – Coenzima A, NAD^+ , UDP-glucose ou glutationa, restringindo-se ao citoplasma. (Dzidic, Suskovic, & Kos, 2007; Rice & Bonomo, 2005)

★ Resistência aos **aminoglicosídeos**

No caso dos aminoglicosídeos já estão descritas mais de cinquenta enzimas, estando a maioria associadas a Gram negativos. Dependendo do tipo de modificação que suceda, estas enzimas são classificadas como acetiltransferases aminoglicosídeos (AAC), adeniltransferases aminoglicosídeos (ANT) e fosfotransferases aminoglicosídeos (APH), representadas na **figura 17**. Os aminoglicosídeos são modificados no grupo amino pela enzima AAC e no grupo hidroxilo pelas enzimas ANT e APH, perdendo a capacidade de ligação ao ribossoma. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001; Leclercq, Glupczynski, & Tulkens, 1999)

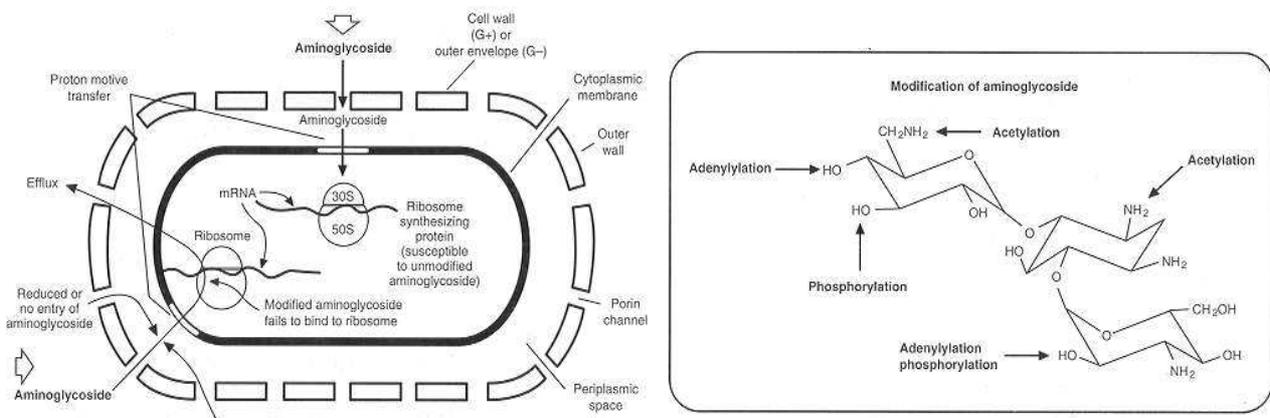


Figura 17 - Esquemática da alteração enzimática dos aminoglicosídeos. (Neu & Gootz, 1996)

Os estafilococos, são uma das bactérias que consegue inactivar estes antibióticos, através da acção enzimática. A enzima ANT(4')-I é codificada pelo gene *ant(4')-Ia*, e confere resistência à gentamicina, tobramicina e canamicina. Este gene encontra-se em pequenos plasmídeos e integra a região *mec* do cromossoma do *Staphylococcus aureus*. A enzima bifuncional AAC(6') e APH (2'') é codificada pelo gene *aac(6')-I + aph(2'')*, que se localiza no transposição 4001 (Tn^{4001}). Assim confere resistência à gentamicina, tobramicina e canamicina. A neomicina e canamicina também podem ser inactivadas pela enzima APH(3')-III, codificada pelo gene *aph(3')-IIIa*, presente no Tn^{5405} , tanto em cromossomas como em plasmídeos. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

As bactérias Gram negativas, como a *Serratia marcescens* também altera enzimaticamente os aminoglicosídeos como a gentamicina. A enzima que medeia esta reacção é a AAC(3)-V. Na maioria dos estudos realizados o gene que codifica esta enzima está num plasmídeo de conjugação. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

★ Resistência a **anfenicóis**, como o cloranfenicol

A resistência ao cloranfenicol deve-se à inativação enzimática do mesmo, na presença da enzima acetiltransferase. Muitas enzimas descobertas estão codificadas pelos genes *cat*, tanto nas bactérias Gram positivas como nas Gram negativas. As enzimas acetiltransferases do cloranfenicol são subdivididas em duas classes, A e B, face à sua estrutura. A CAT da classe A, CAT-III, pertence a *Escherichia coli*, enquanto que a CAT da classe B pertence a *Pseudomonas aeruginosa*. Em termos moleculares o que acontece é um ataque nucleofílico da CAT III ou CAT classe B, com grupo His, ao grupo hidroxilo do cloranfenicol. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

★ Resistência à **fosfomicina**

A fosfomicina pode ser degradada enzimaticamente através da enzima FosA, que é uma metalo-enzima, que está codificada em plasmídeos encontrados em bactérias Gram negativas e nos cromossomas em *Pseudomonas aeruginosa*. Esta enzima, por exemplo, catalisa a abertura do anel da fosfomicina, usando o tiolato ou glutationa como centro nucleofílico. (Wright, 2003)

★ Resistência aos **MLS_B**

No grupo MLS_B, foram descobertos alguns genes que contribuem para a resistência bacteriana, por inativação enzimática. As enzimas EreA e EreB hidrolisam o anel da lactona dos macrólitos e as fosfotransferases que inactivam os mesmos por introdução de um fosfato no grupo hidroxilo (2') do antibiótico, na família *Enterobacteriaceae* e em *Staphylococcus aureus*. Muitas nucleotidiltransferases que inactivam a licomicina foram identificadas, tais como, a linA, em *Staphylococcus haemolyticus*, a linA' em *Staphylococcus aureus* e a linB em *Enterococcus faecium*. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001; Rice & Bonomo, 2005)

★ Processos redox

Por último, também através de mecanismos enzimáticos, pode ocorrer a inativação do antibiótico por um processo redox, em que ocorre oxidação ou redução induzida pela bactéria patogénica. (Wright, 2003)

★ Resistência às **tetraciclina**s

A oxidação da tetraciclina pela enzima TetX é o mecanismo mais estudado. Nesta inativação ocorre a monohidroxilação da tetraciclina na posição 11a, de forma a romper a ligação Mg²⁺ que é essencial à acção antibacteriana. (Fluit, Visser, & Schmitz, 2001)

3. Discussão

3.1. Estratégias de combate à resistência aos antibióticos

Hoje em dia é inquestionável dizer que a resistência aos antibióticos se tornou um risco para a sociedade. A União Europeia viu-se obrigada a tomar um conjunto de medidas destinadas a controlar o fenómeno de resistência. Várias entidades, quer nacionais quer internacionais, estão em alerta para este fenómeno, tendo já sido criadas estratégias para o combate às resistências. ^(WHO, 2001; INSA, 2010)

A preocupação em torno deste problema rege-se pelo facto de que se o microrganismo se torna resistente a um determinado antibiótico, significa que quando ocorre uma infecção com essa bactéria, o efeito do antibiótico irá ser nulo, levando ao prolongamento da doença e um maior risco de morte. Ao ser prolongado o tempo de infecção existe uma maior probabilidade de transmissão entre indivíduos. É de notar que aumenta o custo dos cuidados de saúde, visto que a infecção não responde ao tratamento de primeira linha, será necessário impor terapias mais dispendiosas. Por outro lado os antibióticos também são usados na profilaxia de diversas situações como transplante de órgãos, tratamentos quimioterápicos e cirurgias, desta forma a eficácia do seu uso fica comprometida. A disseminação da infecção é facilitada pela comunicação entre pessoas infectadas, que nos dias de hoje se deslocam com todo à vontade entre países do mundo. A era pré-antibiótica. ^(WHO, 2001; INSA, 2010)

Ao nível nacional, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) através do Laboratório Nacional de Referência das Resistências aos Antimicrobiano (LNR/RA), apresenta actividade no desenvolvimento de estratégias para combater o problema de emergência e propagação da resistência aos antibióticos. Neste sentido, colaborou na realização de uma proposta de recomendação, “Uso Prudente de Agentes Antimicrobianos na Medicina Humana” ^(INSA, 2010), a qual visa sensibilizar os prescritores para uma prescrição correcta de antibióticos e a sociedade para o uso racional de acordo com o receituário. ^(INSA, 2010)

Ao nível internacional pode-se referir a World Health Organization (WHO) que desenvolveu, de igual forma, estratégias de combate à resistência antimicrobiana. Antes de demarcar estratégias é necessário ter noção dos factores que levam a este problema na sociedade. Desta forma o uso inadequado e irracional dos medicamentos proporciona as condições ideais à resistência do microrganismo. As medidas adoptadas englobam atitudes da sociedade, profissionais de saúde, hospitais e dos veterinários no uso de antimicrobianos na alimentação dos animais. ^(WHO, 2001)

Em termos gerais a prevenção deve ter em linha de conta vários pontos ^{(Ryan & Ray):}

- * Os antibióticos só devem tomados em situações em que a doença requer mesmo esse tipo de terapêutica;
- * Durante a terapêutica administrar a dose adequada bem como respeitar o tempo de tratamento;
- * Aquando da prescrição dos antibióticos, ter uma confirmação da susceptibilidade da bactéria ao antibiótico;
- * Sempre que possível utilizar antibióticos de espectro estreito, de forma a não atingir microrganismos sem ser os responsáveis pela infecção;
- * Usar combinação de antibióticos caso esta previna o surgimento de mutações;
- * A profilaxia só deve ser aplicada em situações de provável infecção;
- * Evitar a contaminação do ambiente com os antibióticos;
- * Regulamentação, nomeadamente, na promoção dos antibióticos pela indústria farmacêutica;
- * Estudo dos mecanismos de resistência e da sua disseminação, e obtenção de novos medicamentos com novos alvos;
- * Em caso de infecções com bactérias mutantes, isolar o doente durante o tratamento de forma não haver propagação.

No que respeita à sociedade é necessário educá-la sobre este tema, explicar como se toma e o quão é importante seguir as recomendações do prescritor, bem como a importância de prevenir as infecções, através de imunização ou mesmo protecção contra vectores como os mosquitos em diversas zonas do mundo e procurar os melhores cuidados de saúde. Dar a conhecer a importância de que simples acções como lavar as mãos, a higiene na cozinha podem prevenir a transmissão de infecções.

Nos dias que correm, as pessoas dirigem-se às farmácias muitas vezes com a iniciativa de se auto-medicarem. Em Portugal é proibida a venda de antibióticos sem receita médica, no entanto, verifica-se que as pessoas recorrem às farmácias para a dispensa de antibióticos sem a recomendação médica. As farmácias são o principal local de assistência á saúde que deve explicar à sociedade a importância da existência de uma receita médica para o combate a uma infecção. Os profissionais têm um papel educativo junto da sociedade, sem contudo esquecer as regras a praticar pelos mesmos, de forma a evitar ou minimizar o problema das resistências bacterianas. Os médicos, farmacêuticos, enfermeiros e veterinários, em suma todos os profissionais de saúde devem ter acesso a programas educacionais de diagnóstico, tratamento e medidas de controlo de infecções, de modo a trabalharem em conjunto na prevenção e minimização da resistência bacteriana. É essencial que cada profissional de saúde dar a conhecer à sociedade a importância de cumprir com as

prescrições médicas. Os médicos na presença de uma infecção de etiologia duvidosa, devem solicitar um teste laboratorial, de forma a confirmar o melhor tratamento a prescrever. Nos locais de prestação de serviços de saúde, como hospitais e centros de saúde, são locais privilegiados para a propagação infecções no caso de não existirem medidas, tais como, estabelecer programas de controlo da infecção. Aplicar a supervisão do uso de antibióticos nos hospitais, incluindo os padrões de consumo e *feedback* aos resultados obtidos nos tratamentos, actualizar ou mesmo desenvolver directrizes para o tratamento e profilaxia de infecções. ^(WHO, 2001)

A administração de antibióticos nos animais deve ser mais controlada, criando sistemas nacionais de monitorização do uso de antibacterianos nos animais destinados à alimentação. É importante avaliar a segurança dos medicamentos, face ao risco de potenciarem a resistência a medicamentos humanos, monitorizar as resistências de forma a identificar os problemas de saúde emergentes, para poder tomar iniciativas de protecção da sociedade e por fim desenvolver directrizes para evitar o uso excessivo e má aplicação de antimicrobianos em animais para consumo humano, por parte dos veterinários. ^(WHO, 2001)

Os governantes devem também ter parte activa neste combate, incentivar e estabelecer directrizes nacionais de tratamento e a sua implementação. Realizar uma lista de medicamentos essenciais de acordo com as directrizes referidas anteriormente, de forma a assegurar a acessibilidade e qualidade desses medicamentos. ^(WHO, 2001)

3.2. Impacto da resistência bacteriana na sociedade

A partir do século XX, a utilização dos antibióticos no combate às infecções bacterianas foi um grande passo na medicina moderna, no entanto, a resistência bacteriana não deu tréguas e rapidamente se propagou. Assim a resistência bacteriana não é um problema de cada individuo, mas sim um problema da sociedade. É essencial consciencializar a sociedade para este problema. ^(INSA, 2010)

Estudos realizados em 29 países da comunidade europeia, relativos à resistência bacteriana entre 2008 e 2011 (dois dos estudos indicados na **figura 18**) revelam um crescimento da mesma em bactérias Gram negativas, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Já a resistência nas bactérias Gram positivas, como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, está a estabilizar ou mesmo a diminuir. Em 2011, a resistência combinada às cefalosporinas de 3ª geração, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram as mais predominantes. ^(ECDC, 2011)

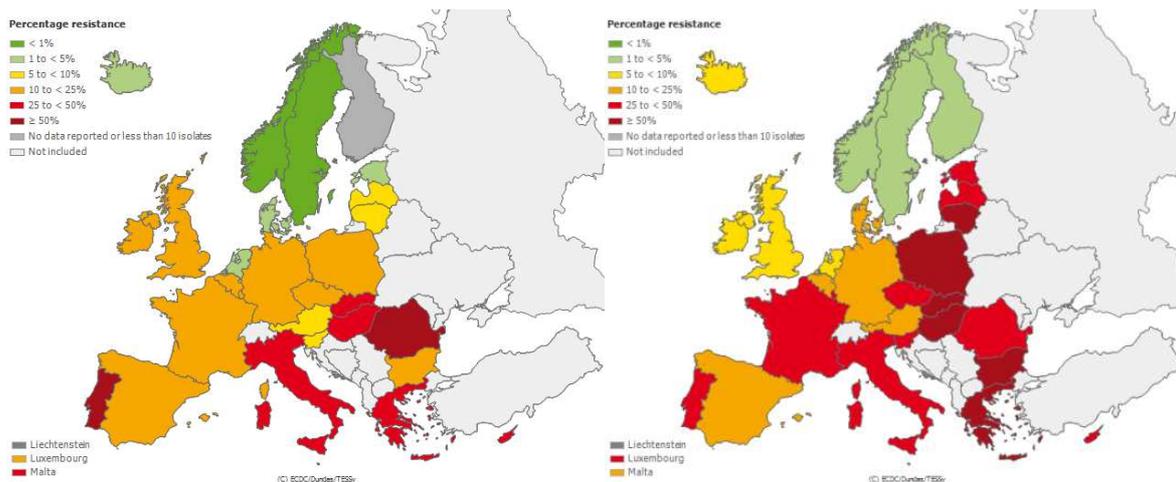


Figura 18 - (Esquerda) Resistência à metilina em *Staphylococcus aureus* e (Direita) resistência às cefalosporinas de 3ª geração em *Klebsiella pneumoniae*, na Europa em 2011. (ECDC, 2011)

As resistências bacterianas levam à existência de poucas opções terapêuticas, em infecções que podem ser fatais. Segundo o INSA, em Portugal as resistências mais importantes são: *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA), enterococos resistentes à vancomicina, bactérias Gram negativas produtoras de β -lactamase de espectro alargado e meningococos com susceptibilidade diminuída à penicilina. (INSA, 2010)

Em termos percentuais e tal como se pode verificar na **tabela 9**, um dos maiores problemas é a resistência à metilina em *Staphylococcus aureus* que tem vindo a aumentar ao longo dos anos, e embora nos últimos quatro anos se tenham mantido estável, a sua percentagem continua elevada. No que respeita à resistência à Vancomicina em *Enterococcus faecium* tem-se mantido estável, diminuindo gradualmente. (ECDC, 2011)

Tabela 9 – Percentagem de resistência, por ano, aos antibióticos em diversas bactérias, em Portugal. ^(ECDC, 2011)

Bactéria	Antibiótico	(%resistência/ano)			
		2008	2009	2010	2011
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina	52,9	49,1	53,4	54,6
	Rifampicina	6,9	3,5	2,4	1,7
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Macrólitos	20,8	21,1	21,8	14,1
	Penicilina	0	18,1	14,7	8,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	Aminopenicilina	4,4	6,7	17,3	24,2
	Doses elevadas de gentamicina	43,2	34,3	39,1	29,8
	Vancomicina	4,2	4,1	1,8	3,7
<i>Enterococcus faecium</i>	Aminopenicilina	85,5	90,6	91,0	81,0
	Doses elevadas de gentamicina	27,9	48,6	53,3	37,5
	Vancomicina	23,7	22,6	23,4	20,2
<i>Escherichia coli</i>	Cefalosporina 3 ^a geração	10,1	9,2	10,4	11,3
	Aminoglicosídeos	13,6	10,8	12,0	16,1
	Carbapenems	0,0	0,2	0,3	0,0
	Fluoroquinolonas	28,6	27,7	27,3	27,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cefalosporina 3 ^a geração	25,7	27,5	28,3	35,4
	Aminoglicosídeos	19,0	20,4	26,8	31,5
	Carbapenems	0,7	0,8	1,4	0,3
	Fluoroquinolonas	21,8	27,6	31,4	36,3
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Amicacina	4,5	3,8	5,3	8,9
	Aminoglicosídeos	10,7	11,9	14,1	15,2
	Carbapenems	17,7	16,3	16,1	19,8
	Ceftazidina	15,9	12,5	12,2	15,2
	Fluoroquinolonas	23,1	20,5	20,3	25,6
	Piperacilina	17,4	17,0	17,6	19,0

4. Conclusão

Ao longo desta monografia foram descritos os mecanismos de resistência existentes, quer naturais quer adquiridos. Para tal existem bases genéticas que explicam como é que ocorre a proliferação da resistência bacteriana. O uso inadequado de antibióticos, bem como o não cumprimento da prescrição ajudam à aquisição de resistências. É de extrema importância cumprir com as estratégias traçadas pelas diversas entidades mundiais. Segundo estas, coloca-se a questão se se vive numa era igual à pré-antibiótica, em que era impossível a administração de antibióticos por falta do reconhecimento dos mesmos. No entanto, hoje em dia o problema não se prende com a existência, mas sim com a resistência, isto é, na administração de um dado antibiótico saber se o mesmo terá o efeito desejado sobre a infecção existente. Uma escolha adequada, como por exemplo, a escolha de um antibiótico de espectro estreito, e com o conhecimento prévio da etiologia da infecção, haverá melhores condições do tratamento da mesma.

É de ressaltar, o possível exagero da profilaxia, por um lado, nos países desenvolvidos existe um plano nacional de vacinação de extrema importância para impedir diversas infecções, mas, por outro lado em muitas situações são realizadas prescrições / administrações de antibióticos para profilaxia, nomeadamente em meio hospitalar. Nesta segunda forma de profilaxia, pode-se questionar o seu impacto na resistência antimicrobiana, pois existem situações em que a profilaxia é indispensável, como por exemplo numa operação cirúrgica, transplante ou imunocomprometidos, mas existem outras, desde que o sistema imunitário da pessoa esteja bem, não será necessário sobrecarregar a pessoa com uma grande dose de antibióticos.

5. Bibliografia

Anvisa. (2007). Resistência Microbiana. em *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*. Visualizado a Dezembro 20, 2012, no http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/mecanismos.htm

Anvisa. (2007). Mecanismos de acção. em *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*. Visualizado a Dezembro 20, 2012, no http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo1/pop_mecanismo.htm

Brody, Larner e Minneman. (1998). *Human Pharmacology*. (3ª ed.) Missouri: Mosby.

CDDEP. (2009). *The center for disease dynamics economics and policy - Resistamce map*. Visualizado a Janeiro 25, 2013, no <http://www.cddep.org/map>

Declour, A., (2009). Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. *National Institutes of Health*. 1749 (5), 808-816.

Dzidic, S., Suskovic, J., Kos, B., (2008). *Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects*. *Food Technology Biotechnology*. 46(11), 11-21.

ECDPC, (2011), Health. em *European centre for disease prevention and control*. Visualizado a Janeiro 22, 2013, no <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>

EMA. (2012). *European Medicines Agency - RCM Ceftaroline fosamil*. Visualizado a Janeiro 22, 2013, no http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002252/human_med_001584.jsp&mid=WC0b01ac058001d124

Falcão, J., Pisco, A., Simões, J., Falcão, I., Pimenta, Z., Nunes, B. (2003). Prescrição de antibacterianos em clínica geral: Um estudo na rede médicos-sentinela. *Rev. Clínica Geral*, 315 - 329.

Fluit, A., Visser, M., Schmitz, F. (2001). Molecular detection of Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 837-862.

Foster, T. (1996). *Staphylococcus*. Em Baron S (Eds.), *Medical Microbiology*, (4ª ed., Cap. 12). Galveston.

Furuya, Y., Lowy, F. (2006). Antimicrobial resistant bacteria in the community setting, *Nature Publishing Group*, 4(1), 36-45.

Goodman & Gilman's. (2008). *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. Nova Iorque: McGraw Hill.

Hawkey, P. (1998). The origins and molecular basis of antibiotic resistance. *British Medical Journal*. 317, 657-359.

Holmes, R., Jobling, M. (1996). Genetic. Em Baron S (Eds.), *Medical Microbiology*. (4ª ed.) Galveston.

iGEM. (2008). Synthetic Biology. em *iGEM*. visualizado Janeiro 28, 2013, no http://2008.igem.org/Team:Heidelberg/Project/General_information

Infarmed. *Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos* (9ª edição ed.). Lisboa: Infarmed.

Infarmed. (Março de 2011). *Prontuário terapêutico* 10. (1ª ed.). Lisboa: Infarmed, Ministério da Saúde.

INSA. (2010). Resistência aos antimicrobianos. em *Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge*. Visualização janeiro 25, 2013, no <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/AreasTrabalho/ResistencAnti/Paginas/inicial.aspx>

Jacoby, G. (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Oxford Journals*, 41(2), S120 - S126.

Katzung, B. (2007). *Farmacologia Básica e Clínica* (10ª ed.). Brasil: McGraw Hill.

Lago, J. (2011). *Mecanismos de Resistência e Selecção de Antibióticos*. Lisboa: Jornadas bioMérieux.

Leclercq, M., Glupczynski, Y., Tulkens, P. (1999). Aminoglycosides: Activity and Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(4), 727-734.

Levy, S., Marshall, B. (2004). Antimicrobial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature medicine supplement*, 10 (12), S122 - S129

Mayer, G. (2010). Genetic Exchange. em *Microbiology and Immunology On-line*. Visualizado Dezembro 20, 2012, no <http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/genetic%20ex.htm>

Merk. (2009). Biblioteca médica On-line, em *Medical Merck*. Visualizado Janeiro 25, 2013, no <http://www.manualmerck.net/?det=504>

Michigan State University. (2011). Molecular mechanisms of resistance. em *Antimicrobial resistance learning site*. Visualizado a Dezembro 29, 2012, no <http://amrls.cvm.msu.edu/microbiology/molecular-basis-for-antimicrobial-resistance>

Murray, P., Rosenthal, K., Pfaller, M. (2010). Metabolismo e genética bacterianas. em Elsevier (Eds.), *Microbiologia Médica* (6ª ed., pp 90 - 136). Rio de Janeiro.

Neihardt, F. (2004). Bacterial genetics. Em McGraw Hill (Eds.), *Sherris Medical Microbiology - An introduction to infectious diseases* (4ª ed., pp. 53 - 74). Nova Iorque.

Neu, H., Gootz, T. (1996). Antimicrobial Chemotherapy. Em Baron S (Eds.), *Medical Microbiology*, (4ª ed., Cap. 11). Galveston.

W.H.O. (2001). *WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*. Visualizado a Janeiro 20, 2013, no http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/en/EGlobal_Strat.pdf

Osório, M., Morgado, S. (2011). *Mecanismo de Acção de Sulfametoxazol*. Faculdade de Farmácia do Porto, Porto, Portugal, visualizado a Janeiro 20, 2013, no <http://sulfametoxazol11.wix.com/sulfametoxazol#!farmacologia>

Pádua, M. (2009). *Patologia clínica para técnicos - Bacteriologia*. Loures: Lusociência.

Pankey, G., Sabath, L. (2013). Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram positives bacterial infections. *Oxford Journals*, 38, 864-865.

Pérez, C. (2007). SusMedicos.com. em *Resistencia bacteriana*. Visualizado a Dezembro 15, 2012, no http://www.susmedicos.com/art_Resistencia_Bacteriana.htm

Rice, L., Bonomo, R. (2005). Genetic and Biochemical mechanisms of bacterial. em Victor Lorian, M. D. (Eds), *Antibiotics in Laboratory Medicine* (5ª ed., pp. 441-476). Nova Iorque.

Ryan, K., & Ray, G. (s.d.). The bacterial cell. em McGraw-Hill (Eds.), *Sherris - Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases* (4ª ed., pp. 9 - 75), Nova Iorque.

S.a. (2009). Antibiotic resistance: mechanisms of antibiotic resistance. em *Encyclopedia Britannica Online*. Visualizado a Janeiro 20, 2013, no <http://www.britannica.com/EBchecked/media/129670/There-are-multiple-mechanisms-by-which-bacteria-can-develop-resistance>

S.a. (2010, Agosto), Prokaryotes. em *Gram positive and Gram negative bacteria*. Visualizado a Janeiro 20, 2013, no <http://www.pc.maricopa.edu/Biology/rcotter/BIO%20205/LessonBuilders/Chapter%204%20LB/Ch4Lessonbuilder7.html>

Schmieder, R., Edwards, R., (2012). Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiology*. 7(1), 73-89.

Speer, B., Shoemaker, N., Salyers, A. (1992). Bacterial resistance tetracycline: Mechanisms, transfer and clinical significance. *Clinical Microbiology Reviews*, 5(4), 387 - 399.

Tenover, F. (2006). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of medicine*. 119(6A), S3-S9.

Todar, K. (s.d.). Bacterial Resistance to Antibiotics. em *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Visualizado Fevereiro 27, 2012, no http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial_3.html

Veiga. (1984). *Os antibióticos na prática clínica*. Lisboa: Infecon.

Williams, J. (1999). *β -lactamases and β -lactamase inhibitors*. Visualizado a Janeiro 20, 2013 (Disponível em *Journal Antimicrobials Agents*, Web site: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857999000850>)

Wolters Kluwer Health; *et al.* (2012). *Drugs.com*. Visualizado a Janeiro 27, 2013, no www.drugs.com

Wright, G. (2003). Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviewa*, 57, 1451-1464.

6. Glossário

Aeróbiose ⇨ Processo que decorre na presença de oxigénio, para a obtenção de energia; (Pádua, 2009)

Amigdalite ⇨ Infecção nas amígdalas, normalmente provocada por estreptococos; (Merk, 2009)

Anaeróbiose ⇨ Em condições sem oxigénio, a obtenção de energia por processos de fermentação ou respiração anaeróbia; (Pádua, 2009)

Antagonismo ⇨ O resultado da associação é inferior ao de cada um dos antibióticos usados separadamente; (Pádua, 2009)

Antibiótico ⇨ Agentes antibacterianos capazes de destruir/inibir o crescimento uma dada bactéria, por diversas acções; (Pádua, 2009)

β – lactamase ⇨ Enzimas hidrolíticas capazes de abrir o anel β -lactâmico inutilizando esta classe de antibióticos; (Pádua, 2009)

Bactéria Gram negativa ⇨ Célula procarionte, que apresenta uma camada de peptidoglicanos fina. Apresentam esta designação devido ao resultado obtido aquando da coloração de Gram, ficam vermelhas; (Pádua, 2009)

Bactéria Gram positiva ⇨ Célula procarionte, que apresenta uma camada de peptidoglicanos relativamente espessa. Apresentam esta designação devido ao resultado obtido aquando da coloração de Gram, mantêm-se violetas após a lavagem com a safranina; (Pádua, 2009)

Brucelose ⇨ Infecção provocada pela família de bactérias *Brucellaceae*, conhecida por febre de Malta ou febre de Creta entre outros, é uma zoonose de distribuição mundial; (Merk, 2009)

Codões missense ⇨ Caracterizam-se por uma troca dos aminoácidos, codificando uma proteína diferente;

Codões nonsense ⇨ Caracterizam-se pela troca de um codão que codifica um aminoácido por um codão *stop*;

Concentração mínima inibitória ⇨ Concentração mínima do antibiótico em solução capaz de inibir o crescimento de uma estirpe bacteriana; (Pádua, 2009)

Endocardite ⇨ Inflamação do endocárdio do coração de origem bacteriana; (Merk, 2009)

Erisipela ⇨ Infecção cutânea de origem bacteriana; (Merk, 2009)

Erisipelóide ⇨ Infecção cutânea provocada pela bactéria *Erysipelothrix rhusiopathiae*; (Merk, 2009)

Faringite ⇨ Infecção causada por estreptococos na maioria das vezes, causando inflamação da faringe; (Merk, 2009)

Infecção nosocomial ⇨ Infecção adquirida em meio hospitalar; (Merk, 2009)

Listeriose ⇨ Infecção provocada pela *Listeria*, que pode ser adquirida pelas grávidas que pode causar partos prematuros e por imunocompromidos; (Merk, 2009)

Otite ⇨ Infecção bacteriana ou viral do ouvido médio; (Merk, 2009)

Sépsis ⇨ Situação clínica grave, de origem infecciosa; (Merk, 2009)

Sinergismo ⇨ O efeito da associação potencia a acção de cada uma dos antibióticos; (Pádua, 2009)

Tuberculose ⇨ Doença granulomatosa crónica, em que o agente etiológico é o *Mycobacterium tuberculosis*. (Pádua, 2009)