

MAGNA MARIA DE PINA

**RESISTÊNCIA A DROGAS ANTIMICROBIANAS EM
Acinetobacter baumannii: MECANISMOS E IMPACTO CLÍNICO**

Belo Horizonte

2014

Magna Maria de Pina

Resistência a drogas antimicrobianas em *Acinetobacter baumannii*:
mecanismos e impacto clínico

Monografia apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientadora: Paula Prazeres Magalhães

Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas
UFMG

Belo Horizonte

2014

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	4
RESUMO	5
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	6
2 METODOLOGIA	7
3 REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1 O GÊNERO <i>Acinetobacter</i>	8
3.1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS	8
3.1.2 TAXONOMIA	9
3.1.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS	10
3.2 A ESPÉCIE <i>Acinetobacter baumannii</i>	12
3.2.1 RELEVÂNCIA CLÍNICA	12
3.2.2 FATORES DE VIRULÊNCIA	13
3.2.3 RESISTÊNCIA A DROGAS ANTIMICROBIANAS	14
3.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS	16
3.3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	16
3.3.2 CARBAPENEMASES	17
3.3.2.1 Metallo-β-lactamases	18
3.3.2.2 Oxacilinases	18
3.3.2.3 Serino-β-lactamases	19
3.3.3 PORINAS	20
3.3.4 BOMBAS DE EFLUXO	20
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DNA -	Ácido desoxirribonucleico
Complexo ABC -	Complexo <i>Acinetobacter baumannii</i> - <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
EDTA -	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ESBL -	β -lactamase de espectro estendido
FDA -	<i>Food and Drug Administration</i>
IRAS -	Infecções relacionadas à assistência a saúde
MBL -	Metallo- β -lactamase
MFS -	<i>Mayor facilitator</i>
OXA -	Oxacilinase
RDN -	<i>Resistance-nodulation-cell division</i>
rDNA -	DNA ribossômico
TSA -	<i>Tryptic Soy Agar</i>
UTI -	Unidade de terapia intensiva
SBL -	Serino- β -lactamase

RESUMO

Acinetobacter é um grupo bacteriano que vem sendo extensivamente estudado, aonde, mais recentemente, *A. baumannii* vem sendo apontado como um dos patógenos mais problemáticos nas instituições de assistência à saúde. Tal bactéria tem papel importante na colonização e infecção de pacientes internados, principalmente, em UTIs. É um microrganismo ubíquo, podendo ser encontrado no solo, água, diversos animais e, até mesmo, colonizando a pele de seres humanos. A espécie vem sendo, frequentemente, associada à resistência a diversas drogas antimicrobianas, inclusive, aos carbapenêmicos.

A detecção precoce da colonização e ou infecção por este agente no meio hospitalar, é essencial para tomar medidas preventivas e terapêuticas adequadas. A incorreta intervenção nestas situações determina a presença contínua deste agente nos sistemas de saúde.

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O gênero *Acinetobacter* sofreu diversas modificações taxonômicas nos últimos 30 anos, sendo *Acinetobacter baumannii* a espécie de maior relevância. A espécie vem sendo, frequentemente, associada à resistência a diversas drogas antimicrobianas, inclusive, aos carbapenêmicos. A propriedade relaciona-se, principalmente, à expressão de enzimas, bombas de efluxo e alteração de porinas, proteínas transmembranares observadas na membrana externa de bactérias Gram negativas.

Este trabalho tem por objetivo avaliar os principais mecanismos de resistência da espécie *A. baumannii* aos carbapênemicos e seu impacto clínico. A escolha do
10 tema justifica-se pela importância clínica e epidemiológica das infecções hospitalares, pelas inúmeras descrições de surtos causados por clones resistentes de *A. baumannii* e pelo índice elevado de mortalidade da infecção pela bactéria, o que torna relevante o aprofundamento do conhecimento sobre o assunto.

15 A atenção à terapêutica antimicrobiana inapropriada, aos internamentos prolongados, aos procedimentos invasivos clínicos ou hospitalares, aos antecedentes clínicos dos pacientes e aos métodos de diagnóstico e tratamento é fundamental para o controle da evolução da resistência antimicrobiana de *A. baumannii*.

2 METODOLOGIA

Este estudo foi realizado a partir de levantamento bibliográfico de publicações científicas em bases de dados eletrônicos, como *Pubmed* e *Google acadêmico*. Os artigos foram selecionados de acordo com o tema proposto e foram publicados no período de 1996 a 2014.

Como critérios de inclusão, foram selecionadas publicações que abordavam as principais características relacionadas à espécie *A. baumannii* e a problemática da resistência a antimicrobianos envolvendo a espécie. Foram utilizadas, ainda, publicações que abordam os principais fatores envolvidos no desenvolvimento da resistência, como produção de enzimas, superexpressão de bombas de efluxo e alterações nas porinas, importantes para o desenvolvimento do tema proposto.

O texto foi confeccionado no processador de texto Microsoft Word 2007 e formatado segundo normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (FRANÇA *et al.*, 2013).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O GÊNERO *Acinetobacter*

5

3.1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

O gênero *Acinetobacter* foi descoberto no século XX, em 1911, por Beijerinck, um microbiologista holandês, que o descreveu na época como *Micrococcus calcoaceticus*, sendo este, isolado a partir de amostras do solo. Posteriormente, diversos microrganismos pertencentes ao gênero foram descritos, porém, com outras designações: *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herella vaginicola* e *Bacterium anitratum* (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008).

O gênero *Acinetobacter* foi proposto, inicialmente, por Brisou e Prévot, em 1954, mas, somente em 1968, o gênero foi aceito. Isso ocorreu com base em um estudo de Baumann e colaboradores (1968). Os autores publicaram um levantamento completo e concluíram que as diferentes espécies listadas pertenciam a um único gênero e que demais subclassificações seriam possíveis com base nas características fenotípicas. Isto resultou no reconhecimento oficial do gênero *Acinetobacter* (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008).

Mais tarde, em 1986, Bouvet e Grimont identificaram espécies do gênero, empregando hibridização DNA-DNA, dividindo-o em 12 grupos. Alguns deles receberam nomes de suas espécies principais, tais como, *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* e *A. lwoffii* (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008).

Infecções por espécies do gênero *Acinetobacter* vêm sendo descritas há alguns anos. Em 2003, durante operações de combate das forças armadas no Iraque, foi observado um grande número de infecções causadas por bactérias multirresistentes do complexo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*,

denominado complexo ABC, em pacientes que apresentavam lesões traumáticas (SCOTT *et al.*, 2007).

Pouco depois das operações de combate, houve um aumento exorbitante do número de infecções causadas por *Acinetobacter* em pacientes internados no sistema de saúde militar. A maior parte das infecções foi causada por amostras resistentes a grande parte dos antimicrobianos disponíveis e acometeu pacientes que estavam em estado crítico, com lesões traumáticas graves. Na época, sugeriu-se que as infecções poderiam ter sido originadas de três fontes: colonização prévia da pele dos pacientes, implantação do microrganismo no momento da lesão ou aquisição durante o tratamento das lesões no serviço de saúde (SCOTT *et al.*, 2007).

3.1.2 TAXONOMIA

15

O gênero *Acinetobacter* pertence ao Domínio Bateria, filo Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, ordem Pseudomonadales, família Moraxellaceae (EUZÉBY, 2014a). Microrganismos pertencentes ao gênero são cocobacilos Gram negativos, aeróbios, não fermentadores, imóveis, catalase positivos e oxidase negativos (LEE *et al.*, 2011).

20

O gênero possui 34 espécies, quais sejam: *A. baumannii*, *A. baylyi*, *A. beijerinckii*, *A. bereziniae*, *A. boissieri*, *A. bouvetii*, *A. brisouii*, *A. calcoaceticus*, *A. gernerii*, *A. grimontii*, *A. guillouiae*, *A. gyllenbergii*, *A. harbinensis*, *A. haemolyticus*, *A. indicus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. kookii*, *A. lwoffii*, *A. nectaris*, *A. nosocomialis*, *A. parvus*, *A. pittii*, *A. puyangensis*, *A. qingfengensis*, *A. radioresistens*, *A. rudis*, *A. schindleri*, *A. soli*, *A. tandoii*, *A. tjernbergiae*, *A. townneri*, *A. ursingii* e *A. venetianus* (EUZÉBY, 2014b).

25

O complexo ABC é representado por quatro espécies, *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *Acinetobacter* genoespécie 3 e *Acinetobacter* genoespécie 13TU.

30

Assim, compreende não só as três espécies de maior relevância clínica, implicadas na grande maioria das infecções nosocomiais, ou seja, *A. baumannii*,

Acinetobacter espécie genômica 3 e *Acinetobacter* espécie 13TU, mas, também, espécies ambientais. *A. calcoaceticus* tem sido frequentemente recuperado do solo e da água, mas nunca foi isolado de pacientes com doenças graves (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008).

5 As espécies do complexo ABC são fenotipicamente semelhantes e genotipicamente distintas, sendo, portanto, difíceis de serem distinguidas por métodos fenotípicos convencionais. A identificação no nível de espécie ainda é problemática, apesar dos progressos realizados na taxonomia do gênero e dos esforços para o desenvolvimento de métodos adequados (VEGAS; NIEVES,
10 2005). A diferenciação entre elas só é possível empregando-se métodos genotípicos, como, por exemplo, hibridização DNA-DNA e sequenciamento do rDNA 16S. Este conjunto de métodos, entretanto, não é aplicável em grande parte dos laboratórios de rotina (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008; WANG *et al.*, 2014).

15

3.1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

As amostras de *Acinetobacter*, em fase logarítmica de crescimento, apresentam-se na forma bacilar, medindo em torno de 1,0 a 1,5 µm de diâmetro e 1,5 a 2,5 µm de comprimento, tornando-se cocobacilares em fase estacionária. São pouco exigentes do ponto de vista nutricional, multiplicando-se em meios de cultura como TSA, Ágar Sangue e Ágar MacConkey, rotineiramente utilizados em laboratórios de microbiologia clínica. Tolera diferentes valores de pH e a
25 temperatura ótima para cultivo é de 37 °C (PELEG; SEIFERT; PATERSON, 2008), porém, *A. baumannii* pode multiplicar-se em ampla faixa de temperatura, de 20 a 44 °C. O microrganismo forma colônias cremosas, brancas ou branco-acinzentadas (VEGAS; NIEVES, 2005).

O gênero é ubíquo, podendo ser encontrado no solo, água, em seres humanos e
30 em outros animais. Coloniza a pele humana e pode ser isolado da orofaringe e das vias respiratórias de pacientes hospitalizados. Sugere-se que a pele humana

seja uma fonte importante de infecções, como bacteremia (FOURNIER; RICHET, 2006).

A capacidade de sobreviver em ambientes secos e úmidos torna as espécies de *Acinetobacter* amplamente dispersas em diferentes ambientes de serviços de
5 assistência à saúde (HOWARD *et al.*, 2012). A bactéria tem papel significativo na colonização e infecção de pacientes internados em hospitais, estando, assim, associada a IRAS, incluindo bacteremia, infecção do trato urinário e meningite secundária. É, frequentemente, causa de pneumonia associada a ventilação mecânica em pacientes internados em UTIs (BERGOGNE-BEREZIN; TOWNER,
10 1996). Ainda, algumas espécies são reconhecidas como importantes patógenos oportunistas, acometendo, principalmente, pacientes imunocomprometidos, particularmente, aqueles cuja hospitalização seja mais prolongada (HOWARD *et al.*, 2012).

Com base em dados epidemiológicos, observa-se um aumento no número de
15 infecções hospitalares associadas a *Acinetobacter*. Merecem destaque infecções do trato respiratório. Entre 7 e 18% das amostras obtidas de faringe são positivas para a bactéria, enquanto 45% dos swabs de traqueostomia são positivos (VEGAS; NIEVES, 2005).

Em ambientes hospitalares, os surtos estão, geralmente, relacionados ao contato
20 direto de profissionais da área de saúde com pacientes. A colonização prévia desempenha papel importante no desenvolvimento de infecções, por isto, a importância das medidas de higiene em centros de cuidado a saúde (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007). Amostras de *Acinetobacter* são intrinsecamente menos suscetíveis aos antibióticos e têm propensão para adquirir resistência
25 (LEE *et al.*, 2011).

Estudos recentes têm demonstrado a presença de espécies do gênero em componentes e estruturas hospitalares, tais como luvas, torneiras, maçanetas, água destilada, medicamentos, soluções parenterais, agulhas, monitores, superfícies, ar condicionado, camas, ou seja, em todo o ambiente (VEGAS;
30 NIEVES, 2005). Dentre as espécies que constituem o gênero, destaca-se *A. baumannii*.

3.2 A ESPÉCIE *A. baumannii*

3.2.1 RELEVÂNCIA CLÍNICA

5

A. baumannii é considerado, atualmente, um patógeno oportunista que frequentemente coloniza o trato respiratório e representa um grande problema de saúde pública, principalmente devido à escassez de opções terapêuticas. A sua constante presença em ambientes nosocomiais estabelece uma relação com

10 multirresistência a quase todas as classes de antimicrobianos (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007).

A participação da bactéria em infecções nosocomiais teve, nos últimos 15 anos, um aumento significativo (SINGH; THANGARAJ; CHAKRABARTI, 2013). *A. baumannii* pode ser encontrado em objetos inanimados, no solo, na água e em

15 seres vivos, sendo transmitidos por contato direto ou indireto, ou, ainda, por via aérea (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007). A bactéria adere-se tanto a superfícies abióticas como bióticas, nas quais é capaz de formar biofilme, habilidade de virulência importante que contribui, inclusive, para a resistência a antimicrobianos (GORDON; WAREHAM, 2009).

20 Como mencionado para *Acinetobacter*, *A. baumannii* é de grande importância em ambientes hospitalares, por sobreviver facilmente em ambientes úmidos e secos e por colonizar a pele de pacientes e da própria equipe de saúde, facilitando, assim, uma rápida transmissão e o prolongamento dos surtos (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007). Numerosos estudos observam que a espécie é a

25 principal causadora de surtos nosocomiais (BERGOGNE-BEREZIN; TOWNER, 1996). As mãos dos profissionais de saúde estão envolvidas na contaminação cruzada. Assim, é fundamental a higienização correta das mãos antes e depois do contato com o paciente (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007).

A espécie é uma ameaça emergente à saúde. A verdadeira frequência de

30 infecção hospitalar provocada por *A. baumannii* é difícil de avaliar, porque seu isolamento pode refletir colonização ao invés de infecção. De acordo com

programas de vigilância da resistência antimicrobiana, *Acinetobacter* estava entre os 10 patógenos mais frequentemente isolados de infecções da corrente sanguínea em 14 países europeus que participaram do programa entre 1997 e 2000 (SOULI; GALANI; GIAMARELLOU, 2008).

- 5 Os fatores de riscos associados à infecção por *A. baumannii* estão relacionados a procedimentos invasivos, cirurgias, nutrição enteral, uso de cateter venoso central, cateter urinário e equipamentos para monitoramento de pressão arterial, traqueostomia, transfusão sanguínea, traumas com fraturas, exposição prévia a antimicrobianos, drenagem abdominal e torácica, lavagem de feridas,
10 broncoaspiração e ventilação mecânica (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007).

Em alguns dos estudos feitos, foi estimado o impacto clínico do *A. baumannii* na mortalidade, custo e tempo de hospitalização. A grande maioria deles identificou aumento das taxas de mortalidade. A maior parte encontrou aumento do tempo
15 de internação hospitalar e um deles detectou somente o aumento dos custos associados ao quadro (SOULI; GALANI; GIAMARELLOU, 2008). Atualmente, a taxa de mortalidade associada à infecção por *A. baumannii* é alta, girando em torno de 26% a 68% (MARAGAKIS; PERL, 2008).

20

3.1.1 FATORES DE VIRULÊNCIA

Embora *A. baumannii* tenha sido inicialmente considerado uma bactéria oportunista com potencial de virulência baixo, hoje, diversos fatores de virulência
25 já foram descritos para a bactéria. Eles estão associados à capacidade de sobrevivência do microrganismo, mesmo em ambientes desfavoráveis, e de causar doença. Merecem destaque, entre outros, a capacidade de captação de ferro e a habilidade de formar biofilme (ABBOTT *et al.*, 2013).

A bactéria é capaz de formar biofilmes em superfícies bióticas e abióticas. Os
30 fatores mais comumente relacionados ao controle da formação de biofilme incluem disponibilidade de nutrientes, presença de proteínas e outras

macromoléculas e expressão de fímbrias (GUILLOU, 2005; HOWARD *et al.*, 2012; ABBOTT *et al.*, 2013). Esta habilidade relaciona-se ao sucesso do microrganismo no desenvolvimento de doenças nosocomiais e a sua capacidade de persistir em ambientes hospitalares (AFZAL-SHAH; WOODFORD; 5 LIVERMORE, 2001).

A produção de sideróforos, sistemas de captação de ferro, também tem sido descrita para a espécie. O sequestro de ferro de células humanas por *A. baumannii* ocorre através da acinetobactina, semelhante ao sideróforo produzido por *Vibrio anguillarum* (ABBOTT *et al.*, 2013). 10

3.2.3 RESISTÊNCIA A DROGAS ANTIMICROBIANAS

A capacidade de resistência a drogas antimicrobianas é uma característica relevante da espécie (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007). Hoje, podemos dizer que *A. baumannii* apresenta resistência antimicrobiana elevada. A princípio, suscetibilidade a ciprofloxacina, aztreonam, ceftazidima, doxiciclina, cotrimoxazol, imipenem/cilastatina, amoxicilina/clavulanato, ampicilina/clavulanato e ampicilina/sulbactam é relatada. Porém, já foram identificadas amostras 15 resistentes a estes antimicrobianos, associadas a infecções de difícil tratamento. Esta resistência adquirida pelo microrganismo está disseminada em nível mundial (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007). 20

O uso incorreto das drogas antimicrobianas está claramente associado à elevação das taxas de resistência bacteriana. Muitos fatores, como o uso 25 indiscriminado de antimicrobianos em seres humanos, o uso como suplemento na criação de animais e a migração contribuem para o surgimento e propagação de microrganismos resistentes. A propagação atual e extensa de patógenos Gram negativos resistentes aos carbapenêmicos é um motivo de preocupação, uma vez que os mesmo frequentemente são, também, resistentes a agentes não β - 30 lactâmicos, portanto, apresentam resistência a múltiplas drogas (LEE; DOI, 2014).

A. baumannii apresenta aptidão em acumular marcadores de resistência por aquisição de plasmídeos, transpósons e integrons abrigando diversos genes que codificam resistência a drogas antimicrobianas. Atualmente, são conhecidos diferentes mecanismos que estão envolvidos com a resistência da bactéria às
5 drogas β -lactâmicas, como redução da permeabilidade da membrana externa, alteração nos sítios de ligação do antimicrobiano, hiperexpressão de bombas de efluxo e produção de ESBLs (MEDEIROS; YABUMOTO; MOTTA, 2007; MARTINS; BARTH, 2013).

Resistência a carbapenêmicos vem sendo relatada para o grupo. Os principais
10 mecanismos de resistência observados são produção de β -lactamases da classe D (OXA-carbapenemases), perda de porinas e produção de β -lactamases da classe B, as MBLs. Ainda assim, a princípio, os carbapenêmicos são considerados como melhor opção para tratamento de indivíduos com infecção por
15 *A. baumannii*, principalmente com a emergência de resistência a outros β -lactâmicos, aminoglicosídeos e fluorquinolonas (MARTINS; BARTH, 2013).

Estudos mostram que, em 2001, a taxa de resistência a carbapenêmicos foi de 25% na América Latina. Em 2005, houve um aumento significativo da taxa de resistência, que atingiu a faixa de 40% em hospitais colombianos (MASLUNKA *et al.*, 2014).

20 Diversos estudos indicam que o percentual de isolados resistentes tem aumentado gradualmente ao longo dos últimos 10 anos na Europa, América do Norte e América Latina. Um grande número de surtos de clones resistentes a carbapenêmicos foi relatado em hospitais do Norte da Europa. Na maioria dos casos, uma ou duas amostras foram isoladas de hospitais (ZARRILLI *et al.*, 2009).
25 Algumas amostras são suscetíveis apenas a polimixina, que não é rotineiramente empregada por causa de relatos sobre sua toxicidade, tornando o tratamento dos indivíduos infectados por estas amostras extremamente difícil e, em alguns casos, impossíveis (MARAGAKIS; PERL, 2008).

Estudos realizados na Espanha com diferentes clones de *A. baumannii* isolados
30 de pacientes infectados, no período de 2000 a 2010, demonstraram frequência de multirresistência de 94%. A resistência aos carbapenêmicos aumentou

significativamente no período, assim como as taxas de resistência a ceftazidima, piperacilina e colistina (FARIÑAS; MARTÍNEZ, 2013).

A resistência a drogas antimicrobianas influencia a taxa de mortalidade associada à infecção por *A. baumannii*. A mortalidade pode estar relacionada tanto com o grau de resistência a antimicrobianos, como com a eficácia terapêutica empírica e a disponibilidade de opções terapêuticas definitivas. Foi relatado, por um grupo da Coréia, que a administração de terapia antimicrobiana empírica ineficaz contra *Acinetobacter* foi um preditor independente de mortalidade em 30 dias (MARAGAKIS; PERL, 2008).

Uma das formas mais utilizadas em unidades de cuidado a saúde para identificação de indivíduos colonizados e/ou infectados por microrganismos resistentes são as culturas de vigilância epidemiológicas, que consistem em coletas de amostras de indivíduos suspeitos e posterior cultivo. Essa medida permite identificar precocemente os pacientes carreadores de microrganismos resistentes e implementar estratégias para o controle, diminuindo a transmissão cruzada e o risco de desenvolvimento de infecções subsequentes. Embora, na prática, o procedimento seja realizado apenas em situação de surto ou em população de risco, devido ao custo elevado, estudos têm demonstrado a importância da realização de culturas de vigilância epidemiológica na rotina, para conhecer a real dimensão do problema da resistência bacteriana nas unidades de cuidado a saúde (MORAES; COHRS; GRINBAUM, 2013).

3.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS

25

3.3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Uma ampla variedade de antimicrobianos β -lactâmicos são usados no tratamento de doenças infecciosas. Estes antimicrobianos bloqueiam a biossíntese da parede celular da bactéria pela inibição de uma transpeptidase. Como já mencionado, as

30

bactérias têm desenvolvido inúmeras estratégias que conferem resistência a este grupo de antimicrobianos (JIN *et al.*, 2004).

Assim, diversos mecanismos de resistência às drogas carbapenêmicas, tais como inativação enzimática, superexpressão de bombas de efluxo, modificação dos sítios de ação dos antimicrobianos e alteração de porinas, já foram descritos para a espécie *A. baumannii*. As β -lactamases catalisam a hidrólise dos antimicrobianos abrindo o anel β -lactâmico, tornando-o, assim, inativo. A degradação enzimática da droga por carbapenemases é o mecanismo mais comumente descrito para a bactéria (JIN *et al.*, 2004; MORAES; COHRS; GRINBAUM, 2013).

3.3.2 CARBAPENEMASES

As carbapenemases são β -lactamases capazes de hidrolisar os carbapenêmicos. Estes antimicrobianos, que apresentam amplo espectro de ação, foram introduzidos na clínica médica em 1985 e, por anos, vêm sendo empregados para o tratamento de pacientes com infecções causadas por microrganismos multirresistentes. Os carbapenêmicos são antimicrobianos mais recentes, se comparados com outros β -lactâmicos. O grupo inclui diversos representantes, entre os quais se destacam imipenem (empregado em associação com cilastina), meropenem e ertapenem, os quais atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana através de ligações covalentes com as proteínas ligadoras de penicilinas presentes na membrana citoplasmática das bactérias (ZARRILLI *et al.*, 2009).

O imipenem é um antimicrobiano natural, sintetizado por um microrganismo do solo, o *Streptomyces cattleya* (WALTHER-RASMUSSEN; HOIBY, 2006). O ertapenem representa os carbapenêmicos do grupo 1 e exerce atividade reduzida contra *A. baumannii*. O meropenem também é uma droga de espectro amplo, geralmente, de ação bactericida, resistente a desidropeptidases, como o ertapenem (SOUSA *et al.*, 2013).

Várias β -lactamases que hidrolisam carbapenêmicos já foram identificadas em *A. baumannii*. Entre elas, citam-se as MBLs, que atuam sobre meropenem, imipenem e ertapenem; as OXA, em especial, da classe D; e as SBLs (MORAES; COHRS; GRINBAUM, 2013).

5

3.3.2.1 METALO- β -LACTAMASES

As MBLs são enzimas que pertencem à classe B de Ambler e possuem um sítio catalítico que é dependente de cátions. O zinco é o principal cofator utilizado por essa enzima. Essa classe de enzimas é inibida por quelantes, como EDTA, e não sofre a ação de inibidores convencionais de β -lactamases. A codificação deste grupo de enzimas é cromossômica (QUEENAN; BUSH, 2007).

10

Diferentes inibidores para MBLs já foram testados *in vitro*. Porém, nenhum se mostrou eficaz contra esse grupo de enzimas (MEINI; LLARRULL; VILA, 2014)

15

3.3.2.2 OXACILINASES

OXAs são enzimas que incluídas na classe molecular D de Ambler e estão inseridas no grupo 2d da classificação de Bush (QUEENAN; BUSH, 2007). Sua denominação está relacionada com a capacidade de hidrolisar os carbapenêmicos como substrato de preferência (WALTHER-RASMUSSEN; HOIBY, 2006). Diversos subgrupos de OXAs já foram descritos para *A. baumannii*, entre eles OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-51 e OXA-58 (HIGGINS *et al.*, 2009).

20

Entre as oxacillinases mais prevalentes, o gene *bla*_{OXA-23} está presente em plasmídios e *bla*_{OXA-51} é um marcador cromossômico. OXA-51 é empregada para identificar amostras de *A. baumannii*, pois acredita-se que esta enzima seja constitutiva para a espécie. Embora *bla*_{OXA-23} e *bla*_{OXA-51} estejam associados a *A. baumannii*, os mesmos já foram descritos em outras espécies bacterianas (TEIXEIRA *et al.*, 2013). O gene *bla*_{OXA-40} e *bla*_{OXA-58} estão localizados em plasmídeos (WALTHER-RASMUSSEN; HOIBY, 2006) e a OXA-24 é de codificação cromossômica (BOU *et al.*, 2000).

30

A oxacilinase OXA-24 tem atividade hidrolítica moderada contra carbapenêmicos e elementos estruturais característicos de β -lactamases de classe D. Apresenta algumas sequências de aminoácidos semelhantes às aquelas encontradas em SBLs (BOU *et al.*, 2000).

- 5 A OXA-23 foi originalmente relatada na Escócia, em 1985, e também identificada em amostras de *Proteus mirabilis*, na França, em 1996. As OXA-25, OXA-26 e OXA-27 foram descobertas a partir da análise de amostras da Espanha, Bélgica e de Singapura, respectivamente. A OXA-40 foi descrita em Portugal (AFZAL-SHAH *et al.*, 2001; DALLA-COSTA *et al.*, 2003).
- 10 O perfil de atividade hidrolítica de OXA-40 é restrito, ativo, principalmente, contra as penicilinas. A hidrólise do imipenem é de baixo nível e a do meropenem não foi detectada (HÉRITIER *et al.*, 2003).

Estas enzimas formam dois grupos distintos. O primeiro compreende as enzimas OXA-23 e OXA-27, intimamente relacionadas, com 99% de equivalência entre os aminoácidos. Há apenas 60% de homologia entre este grupo e OXA-24. O segundo inclui as OXA-24, OXA-25, OXA-26 e OXA-40, que tem 98% de homologia e está diretamente relacionado a surtos (AFZAL-SHAH *et al.*, 2001; DALLA-COSTA *et al.*, 2003). Diferenças significativas na sequência de aminoácidos da OXA-51 foram encontradas quando comparada aos outros dois grupos de OXAs mencionados acima (BROWN *et al.*, 2005).

20 A enzima OXA-51 foi descoberta na Argentina, em amostras clínicas multirresistentes de *A. baumannii* não relacionados geneticamente. A maioria das cefalosporinas são hidrolisadas pela OXA-51, com exceção da cefaloridina. A hidrólise do imipenem é lenta e o meropenem é hidrolisado (BROWN *et al.*, 2005).

25

3.3.2.3 SERINO- β -LACTAMASES

A designação da classe deriva do fato das enzimas possuírem um resíduo de serina essencial no seu sítio ativo, o nucleófilo, que ataca o anel β -lactâmico na primeira etapa do mecanismo catalítico, resultando na formação de um ducto covalente acil-enzima. As SBLs foram historicamente caracterizadas por serem altamente específicas para penicilina ou cefalosporina (MEINI; LLARRULL; VILA, 2014)

30

A primeira amostra de *A.baumannii* que expressava uma SBL foi isolada em 1985, na Escócia, sendo denominada, inicialmente, ARI-1. Esta enzima, de codificação plasmidial apresenta espectro de atividade incomum, não sendo capaz de hidrolisar cefalosporinas de segunda e terceira geração (AFZAL-SHAH *et al.*, 2001).

10 3.3.3 PORINAS

Porinas são proteínas transmembranares observadas em bactérias Gram negativas. Estas proteínas formam canais que possibilitam o transporte de moléculas hidrofílicas através da membrana externa destas bactérias, pouco permeáveis a este tipo de molécula em decorrência de sua constituição química. A regulação da expressão de porinas é um mecanismo de resistência a drogas que utilizam estes canais como acesso ao meio intracelular (VILA; MARTÍ; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, 2007).

Assim, alguns estudos demonstraram que a perda ou diminuição da expressão de porinas podem estar envolvidos na resistência aos carbapenêmicos. A menor quantidade de porinas poderia explicar a diminuição da permeabilidade da membrana externa de *A. baumannii*, quando comparado com outros organismos Gram negativos (VILA; MARTÍ; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, 2007).

25

3.3.4 BOMBAS DE EFLUXO

As bombas de efluxo são responsáveis pela remoção de substâncias do meio intracelular. Assim, podem atuar como um mecanismo de resistência a drogas antimicrobianas (BONOMO; SZABO, 2006). Os antimicrobianos mais comumente expulsos pelas bombas de efluxo são macrolídeos, tetraciclina e quinolonas. Geralmente, em todo processo metabólico há um elevado grau de especificidade

30

no transporte de macromoléculas. Assim, as bombas de efluxo conseguem reconhecer uma gama de substratos determinada (VILA; MARTI; SANCHEZ-CÉSPEDES, 2007).

As bombas de efluxo foram agrupadas em seis famílias. Em *A. baumannii*, foram
5 identificadas as famílias RND e MFS (VILA; MARTI; SANCHEZ-CÉSPEDES, 2007). As bombas de efluxo RND consistem de três componentes, sendo a proteína de membrana interna, que atua como o elemento de extrusão, a proteína de membrana externa que penetra no espaço periplasmático para formar o canal e uma lipoproteína que está ligada a membrana interna, que desempenha papel
10 essencial na estabilização das interações entre os dois outros elementos (JIN *et al.*, 2004). As bombas de efluxo MFS, normalmente, não são transportadoras de antimicrobianos, mas geralmente funcionam como exportadores específicos para certas classes de agentes antimicrobianos (VILA; MARTI; SANCHEZ-CÉSPEDES, 2007).

15

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os antimicrobianos são produtos naturais, produzidos por fungos e bactérias, ou
5 sintéticos, que impedem a multiplicação ou matam microrganismos, ou seja, agem
como substâncias bacteriostáticas ou bactericidas. Prevenir e, em especial, tratar
indivíduos com infecção, diminuindo ou eliminando os microrganismos
patogênicos, é o principal objetivo do uso de antimicrobianos (JUNIOR;
FERREIRA; CONCEIÇÃO, 2004).

10 Atualmente, muitos microrganismos possuem resistência a vários grupos de
drogas antimicrobianas, tanto intrínseca como, em especial, adquirida por
recombinação (JUNIOR; FERREIRA; CONCEIÇÃO, 2004). A importante elevação
das taxas de resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública. As
infecções causadas por estas bactérias não são apenas mais graves, mas,
15 necessitam de um período mais longo de internação e tratamentos mais
complexos, o que faz com que sejam mais onerosas. Uma série de fatores, tais
como o alto custo das pesquisas e a o protocolo de uso de drogas
antimicrobianas, torna os agentes antimicrobianos economicamente menos
atrativos para a indústria farmacêutica. Assim, o lançamento de novas drogas
20 antimicrobianas não ocorre em ritmo suficiente para evitar esta situação. De 1998
a 2002, a aprovação de novos agentes antimicrobianos pela FDA reduziu em
56%, em comparação com o período 1983-1987 (SISTANIZAD *et al.*, 2013;
ARDEBILI *et al.*, 2014).

A. baumannii é, hoje, resistente à maioria dos agentes antimicrobianos que estão
25 atualmente disponíveis. Seus mecanismos de resistência muitas vezes trabalham
em sinergismo, incluindo, como discutido, a degradação da droga por enzimas
antimicrobianas, a superexpressão de bombas de efluxo, a deficiência de porinas
e modificações do alvo de ação. As taxas de resistência antimicrobiana da
bactéria diferem entre regiões. Assim, é importante determinar o perfil de
30 suscetibilidade da espécie localmente (JUNIOR; FERREIRA; CONCEIÇÃO,
2004). E, adicionalmente, é fundamental o controle da prescrição e venda de

antimicrobianos, visando reduzir o uso inadequado mesmos (SISTANIZAD *et al.*, 2013).

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, I *et al.* Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. *Rev. Anti Infect. Ther.*, v. 11, n. 4, p. 1-15, 2013.
- AFZAL-SHAH, M.; WOODFORD, N.; LIVERMORE, D. M. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D β -Lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 45, n. 2, p. 583-588, 2001.
- ARDEBILI, A. *et al.* Effect of efflux pumps inhibitor carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone on the minimum inhibitory concentration of Ciprofloxacin in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Jundishapur J. Microbiol.*, v. 7, n. 1, 2014.
- BERGOGNE-BEREZIN, E.; TOWNER K.J. *Acinetobacter spp.* As IRAS Pathogens: Microbiological, Clinical, and Epidemiological Features. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 9, n. 2, p. 148–165, 1996.
- BONOMO, R. A.; SZABO, D. Mechanisms of Multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aureginosa*. *CID*, v. 43, n. 2, 2006.
- BOU, G. *et al.* OXA-24, a novel class D β -lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 44, n. 6, p. 1556-1561, 2000.
- BROWN, S. *et al.* Characterization of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. *Clin. Microbiol. Infect.*, v. 11, n. 1, p. 15-23, 2005.
- CISNEROS, J. M.; BAÑO, R. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 8, p. 11, 2002.

- DALLA-COSTA, L. M. *et al.* Outbreak of Canapenem-resistente *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 7, p. 3403-3406, 2003.
- EUZÉBY, J. P. Classification of domains and phyla – hierarchical classification of prokaryotes. List of prokaryotic names with standing in nomenclature: 2014a. Disponível em: <http://www.bacterio.net/-classifphyla.html#Proteobacteria>. Acesso em: 20 de setembro de 2014.
- _____. Genus *Acinetobacter*. List of prokaryotic names with standing in nomenclature: 2014b. Disponível em: <http://www.bacterio.net/acinetobacter.html>. Acesso em: 20 de setembro de 2014.
- FARIÑAS, M. C.; MARTÍNEZ, L. M. Infecciones causadas por bacterias Gramnegativas multirresistentes: Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos Gramnegativos no fermentadores. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, v. 31, n. 6, p. 402–409, 2013.
- FOURNIER, P. E.; RICHEL, H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Healthcare Epidemiology*, v. 42, p. 692-699, 2006.
- FRANÇA, J. L.; VASCONCELLOS, A. C.; MAGALHÃES, M. H. A.; BORGES, S. M. *Manual para normalização de publicações técnico-científicas*. 9. ed. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2013. 263p.
- GORDON, N. C.; WAREHAM, D. W. Multidrug-resistance *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 35, p. 219-226, 2010.
- GUILLOU, J. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin. Microbiol. Infect.*, v.11, p. 868-873, 2005.
- HÉRITIER, C. *et al.* Genetic and functional analysis of the chromosome-encoded carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-40 of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 47, n. 1, p. 268-273, 2003.

- HU, S. W. *et al.* OXA-66/OXA-51-LIKE Carbapenemase and possibly na efflux pump are associated with resistance to Imipenem in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 51, n. 11, p. 3844-3852, 2007.
- HOWARD, A. *et al.* *Acinetobacter baumannii* an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, v. 3, n. 3, p. 243–250, 2012.
- HIGGINS, P. G. *et al.* OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother*, v. 53, n. 12, p. 5035, 2009.
- JIN, W. *et al.* Comparative study of the inhibition of metallo – β – lactamases (IMP-1 and VIM -2) by thiol compounds that contain a hydrophobic group. *Biol. Pharm. Bull*, v. 27, n. 6, p. 851-856, 2004.
- JUNIOR, M. A. S.; FERREIRA, E. S.; CONCEIÇÃO, G. C. Betalactamases de Espectro Ampliado (ESBL): um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no laboratório clínico. *NewsLab*, ed. 63. 2004.
- 15 KETTER, P. *et al.* Genome sequences of four *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex Isolates from combat-related Infections sustained in the Middle East. *Genome Announcements*, v. 2, 2014.
- LEE, K. *et al.* Multidrug-Resistant *Acinetobacter* spp.: Increasingly problematic IRAS pathogens. *Yonsei Med. J.*, v. 52, n. 6, p. 879-891, 2011.
- 20 LEE, C. S.; DOI, Y. Therapy of infections due to carbapenem-resistant Gram-negative pathogens. *Infection and Chemotherapy*, v. 46, n. 3, p. 149-164, 2014.
- MARAGAKIS, L. L.; PERL, T. M. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial resistance, and treatment options. *Antimicrobial Resistance*, v. 46, 2008.
- 25 MARTINS, A. F. *et al.* False-positive results in screening for metallo- β -lactamase are observed in isolates of *Acinetobacter baumannii* due to production of oxacilinases. *Braz J. Infect Dis.*, v. 17, n. 4, p. 500-501, 2013.
- MARTINS, A. F.; BARTH, A. L. *Acinetobacter* multirresistente – um desafio para a saúde pública. *Scientia Medica*, v. 23, n. 1, p. 56-62, 2013.

- MASLUNKA, C. *et al.* Insertions or deletions (Indels) in the *rrn* 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer region (ITS) compromise the typing and identification of strains within the *Acinetobacter calcoaceticus* – *baumannii* (Acb) Complex and closely related members. *Plos one.*, v. 9, n. 8, p. 1-14, 2014.
- 5 MEDEIROS F.; YABUMOTO R.; MOTTA, F. A. Fatores de mortalidade em pacientes de UTI de trauma de um Hospital terciário de referência colonizados e/ou Infectados por *Acinetobacter baumannii*. *News Lab*, ed. 85, 2007.
- MEINI, M.; LLARRULL, L. I.; VILA, A. J. Evolution of metallo- β -lactamases: trends revealed by natural diversity and in vitro evolution. *National Institutes of Health*, v. 10 3, n. 3, p. 285-316, 2014.
- MORAES, G. M.; COHRS, F. M.; GRINBAUM, R. S. Infecção ou colonização por microrganismos resistentes: identificação de preditores. *Acta Paul. Enferm.*, v. 26, n. 2, p. 185-191, 2013.
- OPAZO, A. C. *et al.* Bombas de expulsión multidrogas em *Acinetobacter* 15 *baumannii* y resistênciã a antimicrobianos. *Rev. Chil. Infect.*, v. 26, n. 6, p. 499-503, 2009.
- PELEG, A. Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 21, n. 3, p. 538–582, 2008.
- 20 QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 20, n. 3, p. 440-458, 2007.
- SCOTT, P. *et al.* An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*-*calcoaceticus* Complex infection in the US Military health care system associated with military operations in Iraq, *CID*, v. 44, p. 1577-1584, 2007.
- 25 SINGH, H.; THANGARAJ, P.; CHAKRABARTI, A. *Acinetobacter baumannii*: A brief account of mechanisms of multidrug resistance and current and future therapeutic management. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, v. 7, 2013.
- SISTANIZAD, M. *et al.* Carbapenem restriction on bacterial resistance in na intensive care unit of a teaching hospital. *Journal of Pharmaceutical Research*, v. 30 12, n. 3, p. 503-509, 2013.

- SOUSA, D. *et al.* Impacto f ertapenem use on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* imipenem susceptibility rates: collateral damage or positive effect on hospital ecology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 68, p. 1917-1925, 2013.
- 5 SOULI, M.; GALANI, I.; GIAMARELLOU, H. Emergence os extensively drug-resistant and pandrug-resistant gram-negative bacilli in Europe. *Eurosurveillance*, v. 13, n. 47, 2008.
- TEIXEIRA, A. B. *et al.* First report of Carbapenem-resistant *Acinetobacter nosocomialis* isolates harboring ISAb₁-bla_{OXA-23} genes in Latin America. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 8, p. 2739-2741, 2013.
- 10 TORRES *et al.* *Acinetobacter baumannii* multirresistente: situación clínica atual y nuevas perspectivas. *Ver. Esp. Quimioter.*, v. 23, n. 1, p. 12-19, 2010.
- VEGAS, A., E. Z. S.; NIEVES, B, B. *Acinetobacter spp.*: Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, n. 25, p. 64-71, 2005.
- 15 VILA, J.; MARTÍ, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 59, p. 1210-1215, 2007.
- WALTHER-RASMUSSEN, J.; HOIBY, N. OXA-type carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 57, p. 373-383, 2006.
- 20 WANG, J. *et al.* Distribution of Clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. *Plos one*, v. 9, n. 8, 2014.
- ZARRILLI, R. *et al.* Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J. Infect. Dev. Ctries.*, v. 3, n. 5, p. 335-341, 2009.
- 25