



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**LARISSA SILVA FERNANDES**

**RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS BETALACTÂMICOS POR MECANISMO  
ENZIMÁTICO: UMA REVISÃO DE LITERATURA COM ENFOQUE NAS  
BETALACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**2014**

**LARISSA SILVA FERNANDES**

**RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS BETALACTÂMICOS POR MECANISMO  
ENZIMÁTICO: UMA REVISÃO DE LITERATURA COM ENFOQUE NAS  
BETALACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação **em Farmácia  
Generalista** da Universidade Estadual da  
Paraíba, em cumprimento à exigência para  
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Raïssa Mayer Ramalho Catão

CAMPINA GRANDE – PB

2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

F363r Fernandes, Larissa Silva

Resistência bacteriana aos betalactâmicos por mecanismo enzimático [manuscrito] : uma revisão de literatura com enfoque nas betalactamases de espectro estendido / Larissa Silva Fernandes. - 2014.

40 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Raïssa Mayer Ramalho Catão, Departamento de Farmácia".

1. Betalactâmicos. 2. Resistência bacteriana. 3. Betalactamases. 3. Fármacos. I. Título.

21. ed. CDD 615.6

LARISSA SILVA FERNANDES

**RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS BETALACTÂMICOS POR MECANISMO  
ENZIMÁTICO: UMA REVISÃO DE LITERATURA COM ENFOQUE NAS  
BETALACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação em **Farmácia  
Generalista** da Universidade Estadual da  
Paraíba, em cumprimento à exigência para  
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 20 / 02/2014.

*Raissa Mayer Ramalho Catão*

Profª Drª Raissa Mayer Ramalho Catão / UEPB  
Orientadora

*Ivana Maria Fechine*

Profª Drª Ivana Maria Fechine / UEPB  
Examinadora

*Karlete Vânia Mendes Vieira*

Profª. Drª Karlete Vânia Mendes Vieira / UEPB  
Examinadora

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Josinaldo e Luciene dedico este trabalho, pois é fruto de toda uma vida de investimento, dedicação e amor.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, ser supremo de amor e bondade, que envia seu Espírito Santo inspirando a criatividade e a sabedoria humana.

À professora Dr<sup>a</sup> Raïssa Mayer Ramalho Catão, por ter orientado a construção deste trabalho com tamanho zelo, paciência e dedicação e por compartilhar de seu grande conhecimento, tornando-se um exemplo de profissional a ser seguido.

Aos meus amados pais Josinaldo e Luciene, por todo investimento, amor e incentivo. Dois seres de amor a quem Deus confiou a minha vida, meus grandes exemplos de perseverança, fé e determinação. Agradeço de todo coração.

Aos meus irmãos amados, Vanessa e Eduardo, pelo companheirismo e amizade que se estende da infância para toda a vida. Também ao meu cunhado, Nicolas, mais um irmão que ganhei, por seu apoio.

Aos meus avós, Dária, Lenir e José Antônio, pelo grande amor e torcida, e por sempre terem acreditado no meu sucesso.

Ao meu amado Matheus, pela sua fundamental presença no processo de construção deste trabalho, por seu apoio incondicional, seu amor e companheirismo, acreditando sempre no meu potencial. Também a seus pais, Sávio e Gilvana, grandes amigos, pelo incentivo.

Aos amigos, em especial à Jéssica e Samuel, pela amizade, apoio e carinho durante a construção desse trabalho.

Aos colegas de curso, por partilharem momentos tão importantes na vida acadêmica. Em especial à amiga Ayana Cartaxo, por todo incentivo e companheirismo, sempre essenciais para meu êxito ao longo desses anos de curso.

Aos professores do curso de farmácia desta instituição, por todo aprendizado ao longo desses anos. Em especial às professoras Dr<sup>a</sup> Karlete e Dr<sup>a</sup> Ivana, examinadoras deste trabalho.

## RESUMO

Diversos mecanismos de resistência são utilizados pelas bactérias para sua proteção contra os letais efeitos dos antibióticos betalactâmicos. Porém, o mecanismo de maior importância dentre estes é a produção de betalactamases, enzimas capazes de catalisar a hidrólise do anel betalactâmico, grupo farmacofórico destes quimioterápicos, levando à inativação de seu efeito terapêutico. A resistência bacteriana a antibióticos betalactâmicos é constatada há mais de 60 anos e sua ocorrência tem se mostrado cronologicamente crescente desde a descoberta da penicilina até os dias de hoje. Atualmente a resistência por betalactamases se torna cada vez mais relevante em consequência da emergência de bactérias produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL) que constitui uma ameaça crescente à saúde pública, pondo em risco a eficácia terapêutica de drogas de amplo espectro, defasando cada vez mais as opções terapêuticas para as doenças infecciosas de etiologia bacteriana disponíveis atualmente. Por serem de origem plasmidial, as ESBLs disseminam-se rapidamente o que torna urgente a adoção de medidas estratégicas para conter esse fenômeno.

**Palavras-Chave:** Betalactâmicos, Resistência bacteriana, Betalactamases, ESBL.

## **ABSTRACT**

Several mechanisms of resistance are used by bacteria for their protection against the lethal effects of beta-lactam antibiotics. However, the mechanism of major importance among these is the production of beta-lactamases, enzymes able to catalyze the hydrolysis of the beta-lactam ring of these chemotherapeutic pharmacophore, leading to inactivation of its therapeutic effect. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics has been observed for more than 60 years and its occurrence has been shown chronologically increasing since the discovery of penicillin until the present day. Currently, the beta-lactamase resistance becomes increasingly important as a result of the emergence of bacteria producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) which is a growing threat to the public health, jeopardizing the efficacy of broad-spectrum drugs, depleting importantly more therapeutic options for infectious diseases of bacterial etiology currently available. Because ESBLs are from plasmid origin they spread quickly which makes it urgent to adopt strategic measures to curb this phenomenon.

**Keywords:** beta-lactams, bacterial resistance, beta-lactamases, ESBL.

## LISTA DE FIGURAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 1.</b> – Anel betalactâmico.....   | <b>15</b> |
| <b>Figura 2.</b> – Representação da estrutura dos betalactâmicos.....  | <b>15</b> |
| <b>Figura 3.-</b> Espectro de atividade dos betalactâmicos.....  | <b>16</b> |
| <b>Figura 4.-</b> Representação das diferenças estruturais da parede celular de peptidoglicano entre bactérias Gram-negativas (A) e Gram-positivas (B). .... | <b>18</b> |
| <b>Figura 5.-</b> Representação de uma camada única de peptidoglicano mostrando o local de ação dos betalactâmicos.....                                      | <b>19</b> |
| <b>Figura 6.-</b> Alteração enzimática de um betalactâmico (amoxicilina) por Ser- $\beta$ - lactamase (A) e metalo- $\beta$ - lactamase (B).....             | <b>21</b> |
| <b>Figura 7.-</b> Classificação das betalactamases de maior importância clínica segundo a classificação de Ambler e de Bush, Jacoby e Medeiros.....          | <b>22</b> |
| <b>Figura 8.-</b> Vias de transmissão de resistência; Conjugação (A), Transdução (B) e Transformação (C) .....   | <b>26</b> |
| <b>Figura 9.-</b> Teste da dupla difusão em disco- Presença de zona fantasma.....  | <b>28</b> |
| <b>Figura 10.-</b> Método E-test ®.....  | <b>29</b> |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**AmpC** – Betalactamase cromossômica

**CTX-M** – Cefotaxime-Hydrolyzing (betalactamase)

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**EDTA** - etilenodiaminotetracético

**ESBL** – Betalactamase de espectro estendido

**KPC** – *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

**MBL** – Metalo-betalactamase

**MIC** – Concentração inibitória mínima

**OXA** – Oxacilina (betalactamase)

**PBPs** – Proteínas ligadoras de penicilina

**RDC** – Resolução da Diretoria Colegiada

**SHV** – Sulfidril variável (betalactamase)

**SNGPC** – Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados

**TEM** – Temonieira (betalactamase)

**UTI** – Unidade de terapia intensiva

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>11</b> |
| <b>2. ASPECTOS METODOLÓGICOS.....</b>   | <b>12</b> |
| <b>3. DADOS E ANÁLISES DA PESQUISA.....</b>   | <b>13</b> |
| 3.1 Histórico e farmacologia dos betalactâmicos.....                                | 13        |
| 3.2 Mecanismo de ação dos betalactâmicos.....                                       | 18        |
| 3.3 Histórico das betalactamases.....   | 19        |
| 3.4 Mecanismo de ação das betalactamases.....                                       | 21        |
| 3.5 Classificação das betalactamases.....   | 22        |
| 3.6 Betalactamases de espectro estendido (ESBL).....                                | 24        |
| 3.7 Betalactamases mediadas por plasmídeos.....                                     | 25        |
| 3.8 Indução de betalactamases.....  | 25        |
| 3.9 Vias de transmissão de resistência.....   | 26        |
| 3.10 Métodos laboratoriais de detecção de resistência por ESBL.....                 | 27        |
| 3.11 Fatores de risco para infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL..... | 30        |
| 3.12 Tratamento das infecções por bactérias produtoras de ESBL.....                 | 30        |
| 3.13 Estratégias para a prevenção de micro-organismos produtores de ESBL.....       | 31        |
| <b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>34</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o ano de 1940 o desenvolvimento de fármacos seguros e eficazes no tratamento de infecções bacterianas vem revolucionando o tratamento médico, ocasionando uma redução drástica da mortalidade causada por doenças bacterianas. Porém, o desenvolvimento de fármacos antimicrobianos e a disseminação exacerbada desses medicamentos causaram a emergência de bactérias capazes de desenvolver defesas contra esses agentes, ocasionando dessa forma o surgimento da resistência bacteriana (RANG et al.,2007).

Os antibióticos betalactâmicos, segundo Guimarães et al. (2010), “constituem a primeira classe de derivados de produtos naturais utilizados no tratamento terapêutico de infecções bacterianas”. Ainda hoje, muitas décadas após a descoberta da penicilina como agente anti-infeccioso, esta classe ainda contém os agentes mais frequentemente utilizados por possuírem eficácia clínica, amplo espectro de atividade antibacteriana e excelente perfil de segurança, uma vez que atuam na enzima transpeptidase, única em bactérias (GUIMARÃES, MOMESSO e PUPO, 2010). A maior limitação deste grupo de antibióticos está no fato de ele não possuir atividade frente a micro-organismos desprovidos de parede celular como *Mycoplasma pneumoniae* e *Pneumocystis carinii*, por exemplo, justamente por atuarem interferindo na síntese dessa estrutura (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA., 2004).

O fenômeno da resistência bacteriana é evidenciado pelo crescimento da bactéria *in vitro* na presença do fármaco em questão na concentração que ele atinge no sangue (TAVARES, 2001). A ocorrência deste fenômeno vem aumentando rapidamente, o que se deve basicamente a quatro fatores: prescrição arbitrária de antimicrobianos; uso abusivo e inadequado destes fármacos; globalização, facilitadora da transmissão de patógenos resistentes de um país a outro; falta de um sistema global de vigilância epidemiológica que gere informações para a tomada de decisões e elaboração de políticas terapêuticas reguladoras (OPAS, 1999; OPAS, 2001).

O principal mecanismo de resistência aos betalactâmicos utilizado pelas bactérias é a produção de enzimas, denominadas betalactamases. (NAGANO et al., 1999). Tais enzimas atuam por hidrólise do anel betalactâmico, promovendo dessa maneira a formação de um composto ácido com conseqüente perda da atividade antibacteriana do fármaco. O uso de uma quantidade significativa de novos agentes antibacterianos betalactâmicos pode acarretar, ao longo dos anos, em uma seleção de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas resistentes a esse tratamento pela produção de betalactamases (ZEMELMAN et al., 2002).

Dentre as diferentes possibilidades de resistência aos betalactâmicos por enzimas inativadoras destaca-se a produção de betalactamases de espectro estendido (ESBL). Cepas produtoras deste tipo de betalactamases podem apresentar resistência a antibióticos de grande importância clínica como as penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos e quinolonas (BRADFORD, 2001; SPANU et al., 2002). Além da produção de ESBL, há também outras formas emergentes de resistência, também de grande importância, tais como produção de AmpC e de carbapenemases como as metalo-betalactamases (MBL) e as do tipo *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, amplamente conhecida como KPC (PEIRANO et al., 2009).

A produção de betalactamases não é detectada facilmente pelos testes convencionais de sensibilidade a antimicrobianos, sendo necessários testes confirmatórios para a detecção deste fenótipo de resistência (MENEZES et al., 2008). A maioria das ESBLs é codificada por genes plasmidiais, o que lhe confere rápida transferência de um micro-organismo a outro. Por essas enzimas serem de origem plasmidial, as linhagens produtoras de ESBLs são frequentemente multirresistentes, fazendo das infecções por produtores de ESBL um problema mundial (DUPIN, 2007).

Nesse contexto, objetivou-se nesse trabalho a realização de uma revisão literária a cerca da resistência bacteriana por betalactamases com a finalidade de se produzir um suporte teórico para pesquisas futuras relacionadas ao tema, bem como para evidenciar a relevância do problema da resistência bacteriana aos betalactâmicos, que constituem uma importante opção terapêutica nas doenças infecciosas atualmente.

## **2. ASPECTOS METODOLÓGICOS**

Trata-se de um estudo de revisão literária a cerca dos aspectos gerais relacionados à resistência bacteriana por ação de betalactamases, sendo mais enfaticamente voltado ao estudo das betalactamases de espectro estendido. Considerando a constante relevância do tema no decorrer dos anos, foram utilizados como referências trabalhos aleatórios compreendidos entre 1940 e 2013, com ênfase nos artigos publicados nos últimos dez anos. Para a consulta dos artigos, utilizou-se bases de dados como LILACS, SCIELO e GOOGLE além de consultas à sites, artigos publicados em periódicos, trabalhos acadêmicos e consulta a literatura pertinente disponível na biblioteca central da Universidade Estadual da Paraíba.

### 3. DADOS E ANÁLISES DA PESQUISA

#### 3.1 Histórico e farmacologia dos betalactâmicos

Em 1928, em meio a estudos relativos à variantes de *Staphylococcus*, o bacteriologista Alexander Fleming observou uma contaminação fúngica em uma de suas culturas em que o bolor havia causado a lise das bactérias de sua vizinhança. O bolor contaminante pertencia ao gênero *Penicillium* e, por esse motivo, Fleming deu o nome de penicilina à substância antibacteriana descoberta (PETRI, 2007).

A descoberta de Fleming inicialmente não despertou maior interesse e não houve a preocupação em utilizá-la com finalidade terapêutica, o que veio a acontecer anos mais tarde com a eclosão da segunda guerra mundial. Uma década depois da descoberta da penicilina Chain, Florey e Abraham, da universidade de Oxford, retomaram as pesquisas de Fleming conseguindo isolar maiores quantidades de um extrato mais purificado dessa substância antibacteriana e em maio de 1940 o extrato bruto foi testado em camundongos portadores de infecções estreptocócicas induzidas experimentalmente, observando-se que esse extrato produzira efeitos terapêuticos notáveis quando administrado por via parenteral nesses animais (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004; PETRI, 2007).

Apesar dos obstáculos à sua produção em laboratório, em 1941 foi obtida uma quantidade suficiente de penicilina para realizar estudos clínicos terapêuticos em pacientes com graves infecções estafilocócicas e estreptocócicas não responsivas a todas as outras terapias existentes. O primeiro caso relatado de tratamento em nível sistêmico por penicilina foi de um policial acometido de uma septicemia mista estafilocócica e estreptocócica, com múltiplos abscessos e osteomielite com extravasamento purulento dos seios da face. Ele foi tratado com administração de penicilina por via intravenosa a cada três horas, parte desta recuperada da urina do próprio paciente. Após cinco dias, o seu quadro clínico apresentou uma grande melhora, sua temperatura normalizou, se alimentava melhor e observou-se uma nítida melhora dos abscessos. Além de tudo isso, não parecia haver efeitos tóxicos do fármaco. Porém, quando o suprimento de penicilina finalmente acabou, sua situação piorou gradualmente e ele veio a óbito um mês depois (PETRI, 2007; RANG et al., 2007).

Os primeiros representantes penicilínicos foram desenvolvidos por laboratórios privados norte-americanos e ingleses com renúncia ao direito de marca por questões humanitárias como parte de um esforço de guerra. Os primeiros representantes penicilínicos utilizados clinicamente foram a penicilina G (benzilpenicilina) e penicilina V (fenoximetilpenicilina), ambas penicilinas naturais, que mantêm-se em uso até hoje. Diversas manipulações semi-

sintéticas deram origem ao extenso grupo de penicilinas conhecido atualmente (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004).

A penicilina foi obtida originalmente do fungo *Penicillium notatum*, porém a fonte atualmente utilizada é uma espécie mutante, de alta produção da substância bactericida, denominada *Penicillium chrysogenum*. Atualmente as penicilinas ainda ocupam uma importante posição na antibioticoterapia. Depois dos trabalhos pioneiros de Fleming, Chain e Florey, a penicilina é alvo até hoje do interesse de inúmeros pesquisadores que se dedicam a estudos a cerca desta molécula (SILVA, 2006).

Alguns anos depois, no ano de 1948, foi isolado por Giuseppe Brotzu o fungo *Cephalosporium acremonium* o qual também apresentou atividade antibacteriana. Constatou-se que filtrados não purificados de culturas desse fungo inibiram o crescimento *in vitro* de *S. aureus* e curavam infecções estafilocócicas e febre tifóide em seres humanos. A nova substância descoberta foi denominada cefalosporina em referência ao fungo que a originou. A partir do isolamento do núcleo da cefalosporina, o ácido 7-aminocefalosporânico, tornou-se possível produzir compostos semi-sintéticos com a adição de cadeias laterais a essa estrutura. Tais compostos possuíam atividade antibacteriana muito maior que a da substância original. O desenvolvimento desses fármacos se restringiu a um único laboratório ao longo de duas décadas antes de serem introduzidos comercialmente (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004; PETRI, 2007).

Novos fármacos com estrutura betalactâmica também foram isolados posteriormente. O composto tienamicina, produzido por *Streptomyces cattleya*, deu origem aos chamados carbapenemes e a partir da bactéria *Chromobacterium violaceum* foram originados os monobactâmicos (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004).

Os betalactâmicos são amplamente prescritos atualmente devido a sua eficácia terapêutica e baixa toxicidade. Este grupo de antibióticos inclui as penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, monobactâmicos e ainda alguns inibidores de betalactamases, que agem como coadjuvantes dos betalactâmicos, com mínima atividade antimicrobiana intrínseca, os quais atuam impedindo a ação de enzimas que clivam o anel betalactâmico presente em todos os fármacos desta classe e que possui importância fundamental para a eficácia terapêutica desses antibióticos (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004; PETRI, 2007).

Todos os fármacos desta classe possuem um anel betalactâmico (Figura 1). Estruturas ligadas diretamente a esse núcleo comum diferenciam penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes e monobactâmicos (Figura 2). Os demais radicais presentes nas cadeias laterais caracterizam cada representante desses grupos (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004).

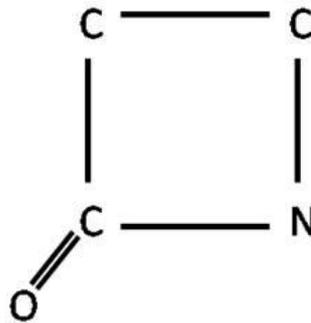


Figura 1.- Anel Betalactâmico

O núcleo básico de toda penicilina é formado por um anel de tiazolidina ligado diretamente ao anel betalactâmico ao qual se fixa uma cadeia lateral. Ao se adicionar diferentes grupos químicos a esse núcleo se obtém várias famílias de penicilinas, cada uma com novas propriedades físico-químicas e farmacológicas. (SILVA, 2006; PETRI, 2007)

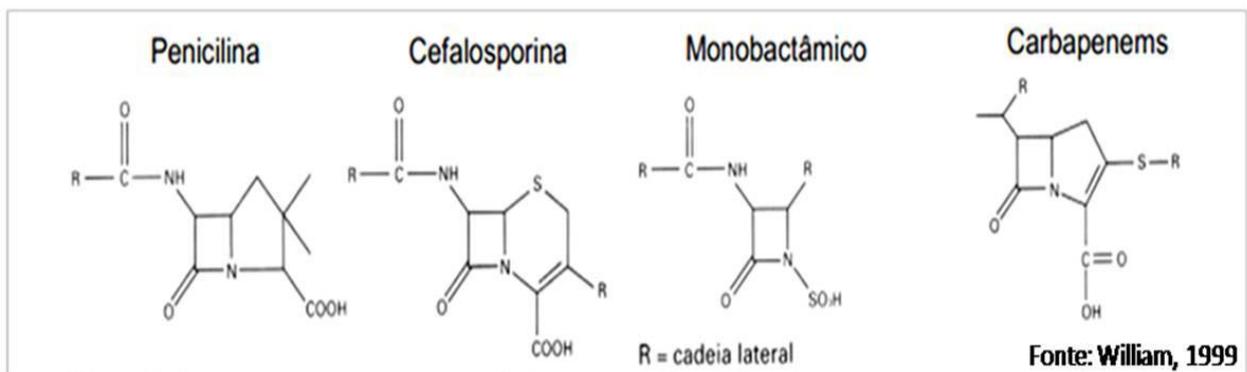


Figura 2.- Representação da estrutura dos betalactâmicos

O principal requisito estrutural para a eficácia da atividade biológica das penicilinas consiste na presença de seu núcleo conservado. Qualquer alteração nesse sítio pode levar à perda da atividade antibacteriana da molécula (SILVA, 2006; PETRI, 2007).

Em relação aos espectros de atividade dos betalactâmicos (Figura 3), dentre a família das penicilinas, a penicilina G e V possuem atividade contra cocos Gram-positivos em infecções como a listeriose e a erisipelóide. As aminopenicilinas, tais como amoxicilina e ampicilina, são betalactâmicos de espectro aumentado e possuem eficácia também na presença de bactérias Gram-negativas susceptíveis, como exemplo *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*, além de ter atividade contra Gram-positivos. As penicilinas de largo espectro, tais como a ticarcilina, piperacilina e as carboxipenicilinas ainda estendem sua atividade à *Pseudomonas aeruginosa* (SILVA, 2006; KATZUNG, 2007; PETRI, 2007; INFARMED, 2011).

Outro grupo dentro da classe dos betalactâmicos são as cefalosporinas. Elas possuem um núcleo básico, denominado ácido 7-amino-cefalosporânico, constituído por um anel betalactâmico unido a um anel diidrotiazínico. A adição de cadeias laterais nos carbonos 7 e 3 resultou na origem de diversos produtos com características especiais e muito maior potência do que as cefalosporinas naturais (ROCHA, 2006).

A classificação mais utilizada das cefalosporinas é feita de acordo com seu surgimento, organizando-se assim os antibióticos por gerações. Embora essa classificação seja análoga aos computadores, em que os produtos de última geração são superiores aos demais, há alguns casos em que essa teoria é arbitrária, pois cefalosporinas mais antigas, em algumas situações são melhor aplicáveis que as mais recentes (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004).

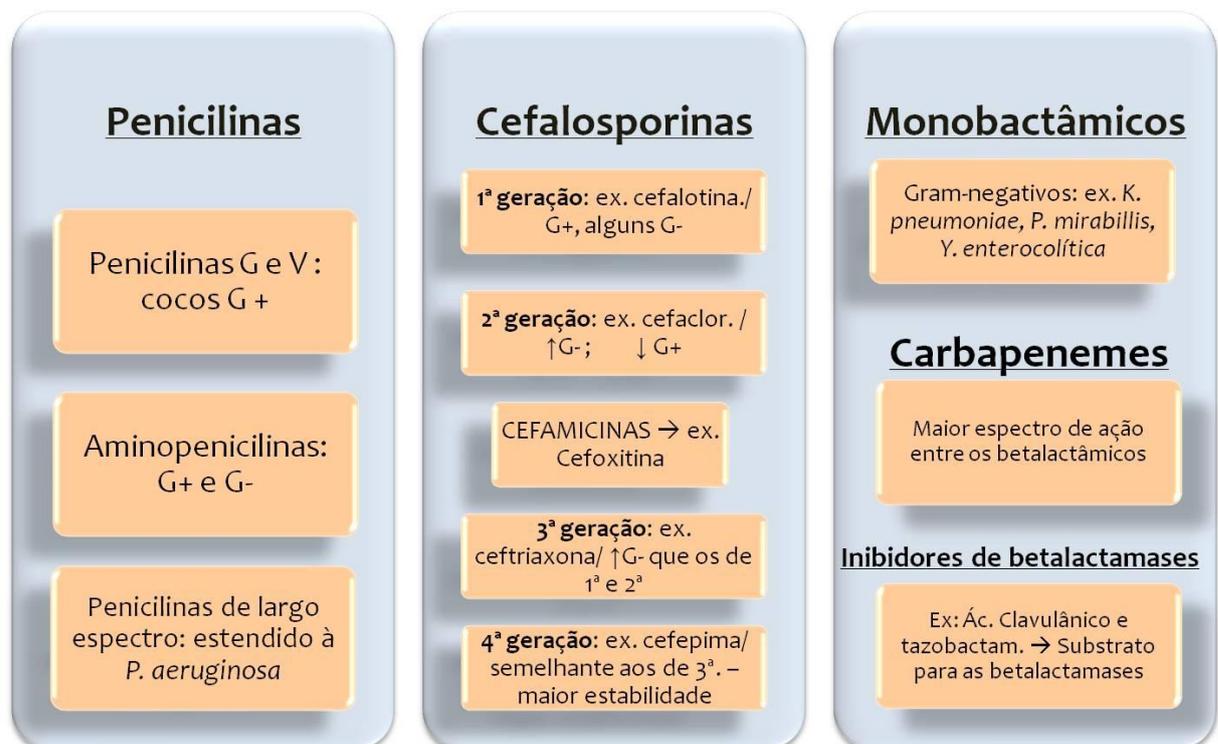


Figura 3.- Espectro de atividade dos betalactâmicos

Cefalosporinas de 1ª geração, frequentemente representadas por cefalotina e cefazolina, apresentam atividade frente à maioria dos cocos aeróbios Gram positivos. Usualmente possuem atividade moderada contra alguns Gram-negativos como *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004).

As cefalosporinas de 2ª geração, como exemplo cefaclor e cefuroxima, possuem atividade melhorada na presença de Gram negativos, incluindo fármacos com atividade anti-anaeróbica, por outro lado apresentam uma atividade diminuída frente aos Gram positivos em relação às de primeira geração. A cefoxitina incluída neste grupo, na realidade é uma

cefamicina, grupo congênere das reais cefalosporinas, e por esse motivo mostra-se mais resistente a algumas betalactamases produzidas por bastonetes Gram negativos em relação as outras cefalosporinas. Esta cefamicina exibe maior atividade contra anaeróbios, particularmente sobre *Bacteroides fragilis* (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004).

As cefamicinas constituem um grupo semelhante às cefalosporinas, e por esse motivo estão a elas relacionadas, diferenciando-se apenas pelo fato de serem obtidas do *Streptomyces* e por apresentarem um grupo metoxi na posição 7 do núcleo cefalosporânico (AUTO, 2008).

Cefalosporinas de 3ª geração, como ceftriaxona e cefotaxima, têm maior eficácia sobre bacilos Gram negativos aeróbios, como enterobacteriáceas, quando comparados as de 1ª e 2ª geração. Apresentam excelente eficácia sobre estreptococos, *Neisseria* sp. e *Haemophilus influenzae*. Os dois representantes anteriormente citados constituem primeira escolha para tratamento empírico de meningites, graves infecções por *Haemophilus influenzae* e também no tratamento de gonorréia. A 3ª geração abrange ainda a ceftazidima e a cefoperazona, ambos com atividade frente à *Pseudomonas aeruginosa*, propriedade que os inclui como opções pseudomonicidas (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004; PETRI, 2007).

As cefalosporinas de 4ª geração, como a cefepima, possuem um espectro semelhante às de 3ª geração, entretanto possuem maior estabilidade frente à ação de betalactamases. A cefepima apresenta atividade *in vitro* comparável ou superior às cefalosporinas de terceira geração contra bactérias Gram-negativas de difícil tratamento como *H. influenzae* e *Neisseria meningitidis*. Embora esse grupo apresente maior estabilidade frente à ação de muitas das betalactamases, ele permanece vulnerável a muitas bactérias que expressam ESBLs mediadas por plasmídeos (PETRI, 2007).

Os carbapenemes, como o imipenem e o meropenem, possuem o espectro de ação mais amplo dentre todos os antibióticos betalactâmicos, englobando cocos Gram-positivos, cocos Gram-negativos, bacilos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos, incluindo algumas cepas multirresistentes e anaeróbios. Os monobactâmicos, como o aztreonam, possuem atividade restrita a bactérias Gram-negativas, como *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia enterocolitica*, entre outras. Esse grupo de betalactâmicos apresenta considerável estabilidade à degradação pela maioria das betalactamases, incluindo ESBL e AmpC (FUCHS, WANNMADER e FERREIRA, 2004; PETRI, 2007; KATZUNG, 2007; ZHANEL et al., 2007).

Inclui-se ainda, dentre os betalactâmicos, os inibidores de betalactamases, como ácido clavulânico, tazobactam ou sulbactam, que funcionam como coadjuvantes dos antibióticos, ampliando o espectro das penicilinas na ação contra micro-organismos produtores de

betalactamases. Estes fármacos possuem estrutura similar à penicilina, com modificação apenas na cadeia lateral, funcionando como substrato para as betalactamases e dessa forma deixando disponível o antibiótico empregado para que este exerça sua atividade farmacológica. Frequentes associações são amoxicilina com ácido clavulânico em infecções do trato respiratório e piperacilina com tazobactam utilizado no combate a infecções do trato respiratório inferior e vias urinárias (INFARMED, 2011).

### 3.2 Mecanismo de ação dos betalactâmicos

Manter a integridade da parede celular é essencial para a sobrevivência das bactérias, pois essa estrutura confere proteção ao micro-organismo contra fatores de risco como as variações osmóticas do meio. A rigidez da parede celular bacteriana é proporcionada por uma estrutura constituída de peptideoglicano com alto índice de ligações cruzadas. A parede celular constituída de peptideoglicano é peculiar às bactérias e por esse motivo os betalactâmicos em geral são praticamente atóxicos para o homem, pois atuam em nível de inibição da síntese dessa estrutura (SILVA, 2006).

Nesse contexto é importante ressaltar que há diferenças significativas entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Figura 4). A camada de peptideoglicano das bactérias Gram-positivas é espessa e externa a uma membrana celular única ao passo que nas bactérias Gram-negativas a camada de peptideoglicano é muito mais delgada e encontra-se entre a membrana plasmática e uma membrana celular externa. Desse modo os betalactâmicos conseguem atuar com maior facilidade nas bactérias Gram-positivas (KONEMAN et al., 2001).

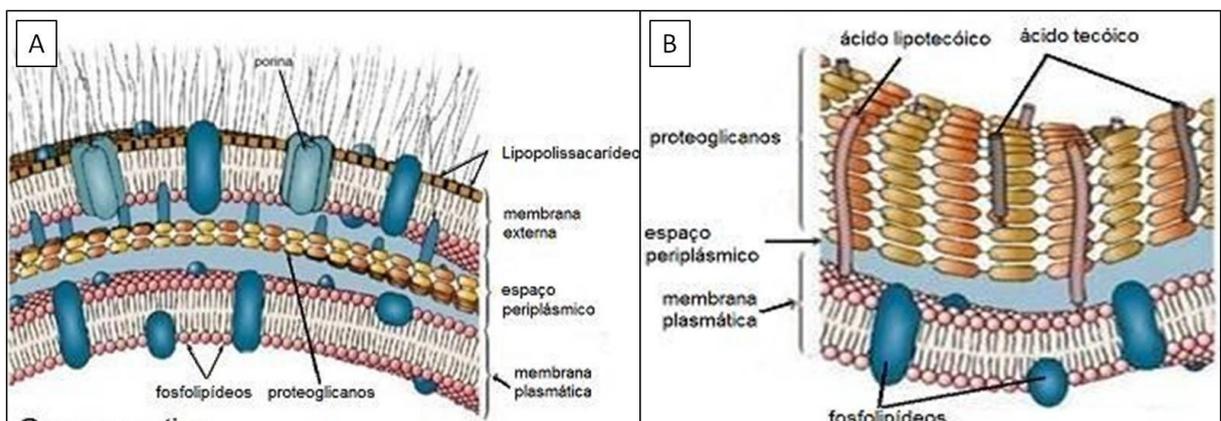


Figura 4.- Representação das diferenças estruturais da parede celular de peptideoglicano entre bactérias Gram-negativas (A) e Gram-positivas (B)

Os antibióticos betalactâmicos atuam inibindo a síntese da parede celular em sua etapa de finalização. Estes fármacos inibem a traspeptidação por se ligarem às proteínas ligadoras

de penicilina (PBPs), assim denominadas por serem o sítio-alvo dos betalactâmicos (KONEMAN, 2001).

As PBPs apresentam atividades de carboxipeptidases e transpeptidases, e possuem função essencial nas fases finais da síntese de peptidoglicano. No passo final da síntese, as transpeptidases clivam a D-alanina terminal das cadeias peptídicas liberando a energia que é utilizada para estabelecer as ligações cruzadas entre as cadeias das fitas vizinhas. Como os antibióticos betalactâmicos utilizam como substrato essas transpeptidases, inibindo-as, essas ligações cruzadas não se realizam (Figura 5). Como o interior da bactéria é hiperosmótico, os organismos com parede celular deficitária ficam intumescidos levando à lise bacteriana. O efeito bactericida dos antibióticos betalactâmicos também se deve a inativação de um inibidor de enzimas autolíticas na parede celular (KONEMAN, 2001; SILVA, 2006; RANG et al., 2007).

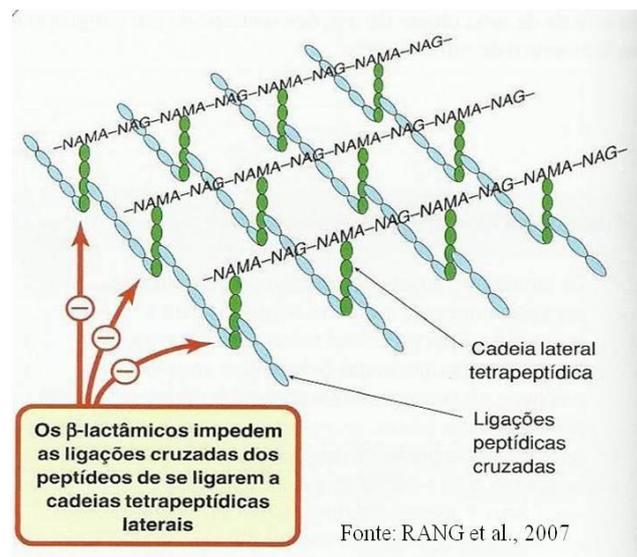


Figura 5.- Representação de uma camada única de peptidoglicano mostrando o local de ação dos betalactâmicos.

Alguns outros tipos de PBPs incluem enzimas importantes para conservar o formato da célula e para a formação do septo na divisão bacteriana. A inibição dessas enzimas pelos betalactâmicos leva à má formação da célula, originando esferoplastos, formas bizarras ou filamentosas que são incapazes de multiplicar-se (NEU e GOOTZ, 1996; SILVA, 2006).

### 3.3 Histórico das betalactamases

Segundo Choque (1993), embora exista uma grande variedade de mecanismos de resistência bacteriana aos betalactâmicos, o de maior importância consiste na produção de betalactamases, enzimas catalisadoras da hidrólise do anel betalactâmico, provocando dessa forma a perda da atividade antimicrobiana do fármaco.

De acordo com Abraam e Chaim (1940), a resistência bacteriana não é um fenômeno recente, pois a detecção de betalactamases remonta-se à década de 40. A primeira betalactamase cromossômica foi identificada em cepas de *Escherichia coli* antes de a penicilina começar a ser usada na prática médica de forma generalizada em todo mundo. Logo que a penicilina foi introduzida na terapêutica de infecções surgiram cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes devido à produção de penicilinas codificadas por plasmídeos tendo elas uma rápida disseminação entre isolados clínicos de *S. aureus* e outras espécies de *Staphylococcus* (BRADFORD, 2001).

A emergência dessas betalactamases cromossomiais provavelmente se deu devido à pressão seletiva exercida por micro-organismos produtores de betalactâmicos como fungos e bactérias presentes no solo (SHAH et al., 2004).

A primeira descrição de betalactamase plasmidial aconteceu na Grécia no ano de 1965 em cepas de *Escherichia coli* isoladas de hemocultura. Essa enzima pioneira foi identificada como TEM-1, que faz referência ao nome da paciente acometida pela infecção que se chamava Temoniera. Essa betalactamase conferia resistência a poucos grupos primários de antibióticos. O fato de TEM-1 ser mediada por plasmídeo facilitou sua disseminação para outras espécies bacterianas. Poucos anos após o isolamento da primeira TEM-1, as betalactamases se espalharam pelo mundo e foram encontradas em diferentes espécies como *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoeae*. A partir daí mais de 150 enzimas derivadas de TEM-1 já foram descritas, algumas delas resistentes aos inibidores de betalactamases, mas a maioria são betalactamases de espectro estendido (MATTHEW, 1979; BRADFORD, 2001).

Outra betalactamase mediada por plasmídeos foi descrita em cepas de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* e ficou conhecida como SHV-1 (Sulphydril reagent variable). O primeiro relato de betalactamase plasmidial capaz de hidrolisar cefalosporinas de amplo espectro se deu em 1983. Os plasmídeos que codificavam essa enzima foram isolados de *Klebsiella pneumoniae* na Alemanha e tal betalactamase ficou conhecida como SHV-2. Em 1985 houve um grande surto na França e subseqüentes surtos em toda Europa e nas Américas (TURNER, 2005).

Nas últimas décadas foram desenvolvidos novos antibióticos betalactâmicos especificados como resistentes a ação de betalactamases. As oximino-cefalosporinas, uma dessas novas classes desenvolvidas, classificadas como cefalosporinas de terceira geração, começaram a ser largamente utilizadas para tratamento de infecções por bacilos Gram-negativos na década de 1980 e, como era de se esperar, novas betalactamases com maior espectro de ação emergiram, sendo essas enzimas denominadas betalactamases de espectro

estendido (ESBL) que atuam especialmente contra as oximino-cefalosporinas. Desde então, diversas novas famílias de ESBLs foram isoladas e nomeadas segundo a preferência de substratos ou espectro de ação (ROSSI, 1997; MEDEIROS, 1997; BRADFORD, 2001).

### 3.4 Mecanismo de ação das betalactamases

De acordo com NAGANO et al.(1999), a produção de betalactamases constitui o principal mecanismo de resistência aos betalactâmicos desenvolvido pelas bactérias. A estrutura dos antibióticos betalactâmicos contém grupos ésteres e amidas o que os torna suscetíveis à ação de hidrolases. A quebra de tais grupos se faz na presença dessas enzimas que podem ser excretadas pelas bactérias, levando à inativação do antibiótico antes que ele atinja o seu alvo (DZIDIC, SUSKOVIC & KOS, 2008).

As betalactamases quebram o anel betalactâmico por ação de grupo presente em sua estrutura (Figura 6), a maioria age por éster de serina e outras por meio de grupo dependente de zinco (GHUYSEN, 1993).

Inicialmente a enzima associa-se, de forma não covalente, ao anel betalactâmico da molécula do antimicrobiano e então o radical livre do resíduo de serina ataca o anel betalactâmico com a formação de uma ligação covalente acil-éster. No caso das betalactamases que agem por grupo dependente de zinco, as metalo-betalactamases, o ataque ao anel é feito pelo zinco presente no sítio ativo da enzima (LIVERMORE, 1995).

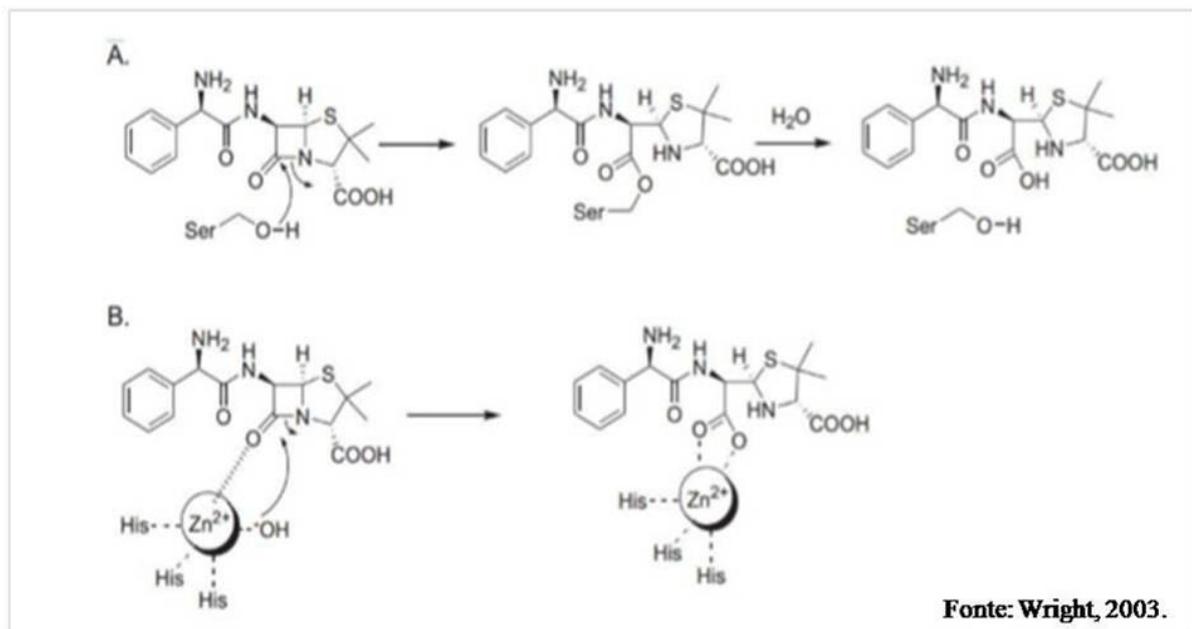


Figura 6.- Alteração enzimática de um betalactâmico (amoxicilina) por Ser-β- lactamase (A) e metalo-β- lactamase (B)

A clivagem do anel betalactâmico do núcleo estrutural das penicilinas, o ácido 6-aminopenicilâmico, leva à formação do ácido penicilóico, desprovido de atividade antimicrobiana. Conseqüentemente a quebra deste anel nas diversas penicilinas origina derivados do ácido penicilóico, igualmente inativos. De forma análoga, ocorre com as cefalosporinas e carbapenemes (TAVARES, 2001).

Os inibidores de betalactamases, a exemplo de sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico, são compostos estruturalmente semelhantes aos betalactâmicos, retendo a ligação amida do grupo betalactâmico, mas possuem uma cadeia lateral modificada. A estrutura desses compostos os permite ligar-se às betalactamases atuando como substratos suicidas e deixando o betalactâmico associado livre para promover seu efeito farmacológico (WILLIAMS, 1999).

### 3.5 Classificação das betalactamases

Embora todas as betalactamases catalisem a mesma reação, essas enzimas foram classificadas segundo a estrutura e as características funcionais e bioquímicas (Figura 7). A classificação baseada na estrutura molecular foi inicialmente proposta por AMBLER (1980), na qual divide as betalactamases em quatro grupos (A, B, C e D) baseando-se na similaridade entre as seqüências de aminoácidos e desta forma as serina-betalactamases foram inseridas no grupo A e as metalo-betalactamases incluídas no grupo B. A classe C foi descrita posteriormente e a classe D, que inclui betalactamases que hidrolisam a oxacilina foi separada das demais serina-betalactamases. A segunda importante classificação foi proposta por BUSH, JACOBY e MEDEIROS (1995) e divide as betalactamases em quatro grupos (1, 2, 3 e 4) levando em conta, além de sua estrutura, o seu aspecto funcional, seus substratos e sensibilidade aos inibidores de betalactamases (AMBLER, 1980; BUSH et al., 1995).

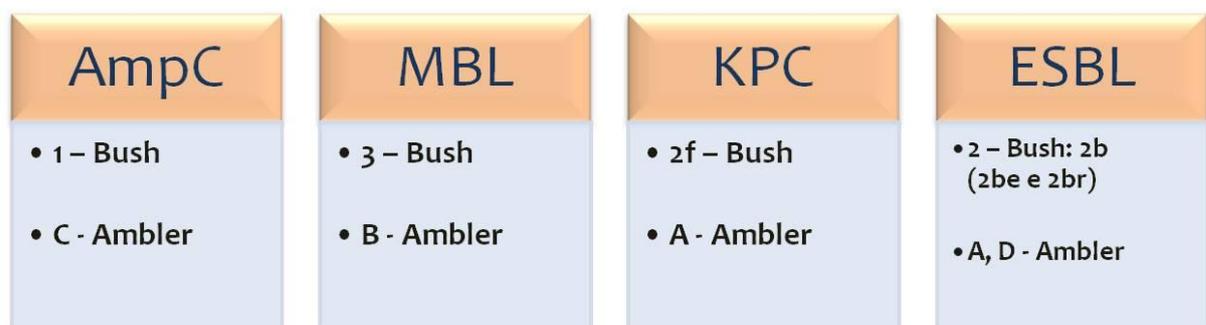


Figura 7.- Classificação das betalactamases de maior importância clínica segundo a classificação de Ambler e de Bush, Jacoby e Medeiros

As AmpC betalactamases são inseridas no grupo 1 da classificação de Bush e no grupo C de Ambler. As AmpC são betalactamases cromossomiais, porém podem ser encontradas tanto no cromossomo bacteriano quanto inseridas em plasmídeos móveis, o que vem sendo observado a partir da década de 90. Possuem atividade contra penicilinas, cefalosporinas e cefamicinas como cefoxitina e o cefotetan. Ainda podem hidrolisar o aztreonam, porém em um nível muito inferior quando comparado a enzimas das classes A e D. Muitos bacilos Gram-negativos como *Serratia* spp. e *Citrobacter* spp. possuem um gene de AmpC cromossomal, expressando a enzima de forma constitutiva (JACOBY, 2009; THOMSON, 2010).

As metalo-betalactamases pertencem ao grupo 3 da classificação de Bush que corresponde ao grupo B de Ambler. Essas betalactamases hidrolisam penicilinas, cefalosporinas e carbapenemes, o que lhe possibilita também ser chamada de carbapenemase. Essas enzimas são inibidas apenas pelo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou compostos derivados do ácido tiolático, não sofrendo impedimento por inibidores de serino-betalactamases como ácido clavulânico, sulbactam ou tazobactam (BUSH et al., 1995; BUSH, 1998).

A KPC, funcionalmente é pertencente ao grupo das betalactamases de espectro estendido – ESBL. Essa carbapenemase pertence à classe A de Ambler e ao grupo 2 subgrupo f da classificação de Bush. Esta enzima é descrita de forma rara e ainda em casos isolados de Enterobacteriaceae (THOMSON e MOLAND, 2000). Tais enzimas apresentam um resíduo de serina no centro ativo e apresentam atividade frente a penicilinas, cefalosporinas, aztreonam e carbapenemes (LIVERMORE e WOODFORD, 2006).

O fato mais preocupante em relação à família KPC é sua capacidade de hidrolisar as cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração e o aztreonam, além de ação contra outras classes de antibióticos como macrolídeos e aminoglicosídeos. Considerando que os carbapenemes são opção única em diversas infecções por Gram-negativos como *Pseudomonas aeruginosa* o surgimento dessas enzimas é um fenômeno preocupante, pois, apesar de as carbapenemases apresentarem um perfil de hidrólise variável entre as suas diferentes isoformas, pode-se afirmar que, no geral, teoricamente, elas apresentam capacidade de hidrolisar todos os antibióticos betalactâmicos disponíveis na prática clínica (PATERSON, 2005; BERTRAND, 2006; LIVERMORE, 2005).

As ESBL possuem representantes enquadrados, segundo a classificação de Ambler, nos grupos A (família TEM e SHV) e D (família OXA) e na classificação de Bush pertencem ao grupo 2, porém, por causa do aparecimento de diversas ESBLs o grupo 2 foi subdividido em 2a, englobando apenas penicilinas e 2b, onde estão inseridas as betalactamases de amplo

espectro com capacidade de inativar tanto penicilinas quanto cefalosporinas na mesma proporção (SHAH, 2004).

Com o surgimento de novos tipos de ESBLs houve a necessidade de se criar novos subgrupos originados do subgrupo 2b, que se tratam atualmente dos subgrupos 2be e 2br. O subgrupo 2be engloba betalactamases capazes de inativar cefalosporinas de 3ª geração, como ceftazidima e cefotaxima e também os monobactâmicos. O grupo 2br trata-se de betalactamases com reduzida ligação aos inibidores de betalactamases, sendo assim denominadas de ESBLs resistentes aos inibidores de betalactamases, sendo algumas dessas ainda sensíveis ao tazobactam (SHAH, 2004).

### 3.6 Betalactamases de espectro estendido (ESBL)

Na década de 1960 as cefalosporinas de amplo espectro tais como cefotaxima e ceftazidima e o monobactâmico aztreonam foram lançados visando ação contra os patógenos Gram negativos uma vez que essas drogas não seriam hidrolisadas pelas betalactamases plasmidiais já descritas. Porém, pouco tempo depois foram relatados isolados clínicos resistentes a um ou mais desses novos antibióticos, com possibilidade de propagar essa resistência por meio de plasmídeos. Tais enzimas emergentes foram denominadas de betalactamases de espectro estendido (ESBL), sendo originadas por mutações nos genes blaTEM-1 e blaSHV-1, que resulta na alteração do substrato específico das enzimas por meio da substituição de aminoácidos (MEDEIROS, 1997).

As ESBLs são capazes de hidrolisar as penicilinas, cefalosporinas (exceto as cefamicinas) e os monobactâmicos, não hidrolisando, porém, os carbapenemes. A ação hidrolítica dessas enzimas é inibida *in vitro* pela utilização de inibidores de betalactamases (JÚNIOR, 2004; BRASIL, 2007). Além disso, essas enzimas também podem apresentar resistência a outras classes de antibióticos visto que os plasmídeos que carregam os genes codificadores de ESBLs frequentemente contêm também genes de resistência a outros antimicrobianos como aminoglicósídeos, sulfonamidas e tetraciclinas (PEREIRA et al., 2003).

As ESBLs foram inicialmente observadas em bacilos Gram-negativos em pacientes na Europa e logo em seguida puderam ser encontradas nos Estados Unidos. Atualmente essas enzimas são descritas em todo o mundo em seus diferentes tipos como as derivadas de TEM e SHV de forma predominante e outros tipos como CTX-M e OXA (PHILIPPON et al., 1994; QUINN et al., 1989; BRADFORD 2001). Esse tipo de resistência acontece principalmente em *K. pneumoniae* e em menor proporção em *E. coli*. Por ser de origem plasmidial tem maior

facilidade de disseminação rápida para outras enterobactérias como *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp. e *Salmonella* spp. (MOLAND et al., 2002).

### 3.7 Betalactamases mediadas por plasmídeos

Além do DNA cromossômico, muitas bactérias também apresentam moléculas de DNA circular extracromossomial, denominado plasmídeo, que se apresentam independentes do DNA cromossômico carregando genes que não são essenciais para a vida do micro-organismo sendo esses genes facilmente transferidos de uma bactéria para outra levando características genéticas até então inexistentes na célula receptora. Frequentemente os plasmídeos carregam genes que conferem a bactéria resistência a antibióticos, permitindo sua sobrevivência na presença de uma substância nociva (BENTO, 1997).

A problemática da resistência se agrava devido à possibilidade de haver transferência de genes plasmidiais não só entre células de uma mesma população como também entre bactérias de diferentes gêneros. Em muitos casos esses plasmídeos contêm genes que conferem resistência à betalactâmicos por codificarem betalactamases de espectro estendido (BENTO, 1997; TORTORA et al., 2000).

Alguns exemplos de betalactamases mediadas por plasmídeos são as betalactamases clássicas TEM-1, TEM-2, SHV-1 e OXA-1 e algumas mutantes oriundas de TEM-1, TEM-2 e SHV-1 que originaram as ESBLs (NOGUEIRA, 2005).

### 3.8 Indução de betalactamases

A resistência bacteriana aos antibióticos acontece por meio de dois grandes mecanismos: mutação ou transferência horizontal de genes (DZIDIC, SUSKOVIC e KOS, 2008). As mutações são alterações na estrutura dos genes que podem acontecer durante a replicação e podem ser induzidas por ação de agentes indutores como radiação ultravioleta ou ionizante, agentes alquilantes e espécies reativas de oxigênio (VEIGA, 1984; NEIHARDT, 2004; MAYER, 2010).

A indução de enzimas betalactamases pode ocorrer quando a bactéria é exposta a betalactâmicos (ROSSI, 1997). A indução de betalactamases por exposição à antibióticos betalactâmicos é baseada em evidências que demonstram que esse é o principal fator para o desenvolvimento da resistência bacteriana, levando em consideração diversas observações. Por exemplo, as taxas mais elevadas de resistência são observadas em situações de consumo mais intenso desses fármacos, durante a terapia há surgimento freqüente de resistência com conseqüente falência terapêutica e pode-se constatar relação temporal entre a inserção de

novos agentes antimicrobianos e posteriormente o desenvolvimento de resistência bacteriana aos mesmos (LIVERMORE, 2005; DELLIT, 2007).

Em 2010 foi publicada uma revisão sistemática que confirma a relação causa-efeito entre o uso de antimicrobianos e o desenvolvimento de resistência tanto no âmbito comunitário quanto no individual. A meta-análise (COSTELLOE et al., 2010) de 24 estudos originais avaliou a ocorrência de resistência bacteriana adquirida após o tratamento com antimicrobiano em pacientes com infecções respiratórias e urinárias. Os resultados deste estudo apontaram um risco de nova infecção por bactérias resistentes ao antibiótico utilizado ou a múltiplos antimicrobianos de duas a quatro vezes maior nos pacientes submetidos ao tratamento quando comparado ao risco observado nos não expostos (ZIMERMAN, 2010).

### 3.9 Vias de transmissão de resistência

A chamada transferência horizontal se caracteriza pela aquisição de material genético entre bactérias de uma mesma espécie ou de espécies distintas. Esse processo pode acontecer por meio de mecanismos diferentes (Figura 8); conjugação, transdução e transformação (DZIDIC, SUSKOVIC e KOS, 2008; TODAR, 2011).

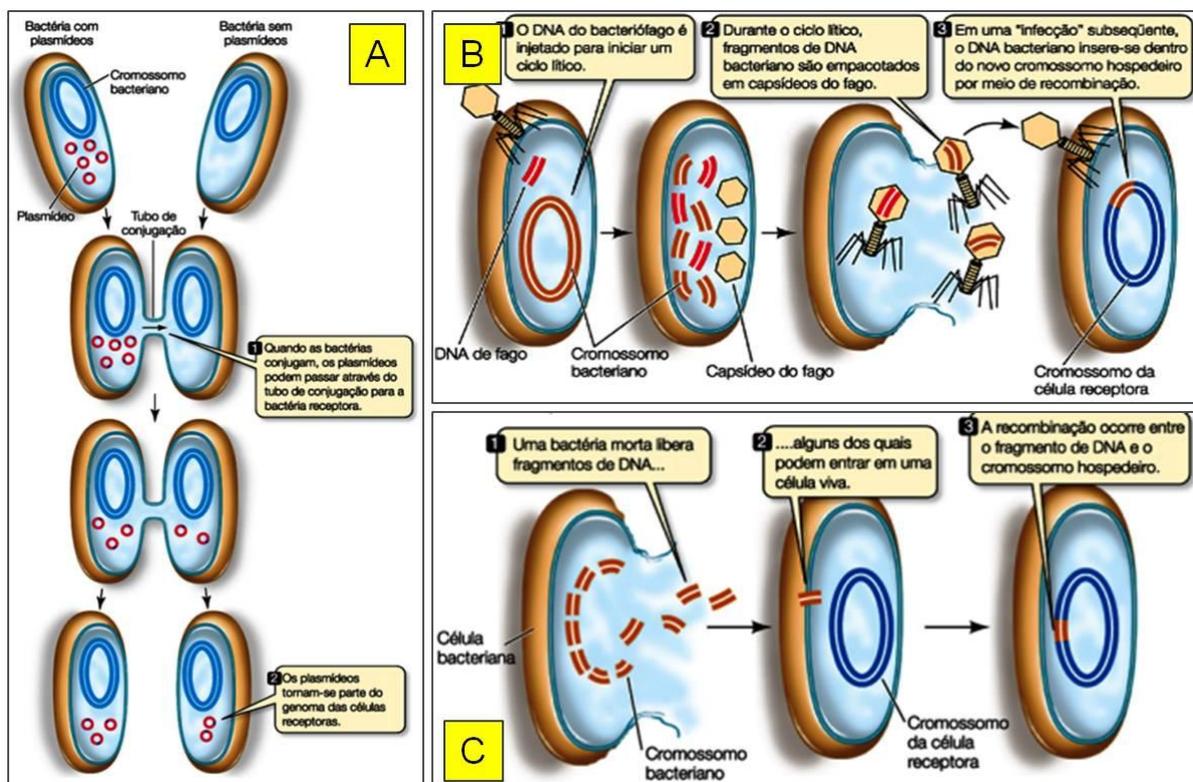


Figura 8.- vias de transmissão de resistência; Conjugação (A), Transdução (B) e Transformação (C)

A conjugação é um processo que envolve duas células bacterianas que ao entrarem em contato direto promovem a transferência de material genético de uma célula para outra

(RANG et al., 2007). O DNA extracromossômico ou plasmídio, contém genes que permitem sua replicação autônoma e transferência para outras células (MAYER, 2010). O grupo de gene transfer está presente em alguns plasmídeos e lhe confere a capacidade de ser transferido da bactéria doadora para a receptora por meio de uma estrutura tubular proteinácea denominada *pili* codificada pelo fator de fertilidade (fator F). No que diz respeito à resistência a antibióticos, o plasmídio denomina-se plasmídeo R, pois possui genes que conferem resistência a antimicrobianos (NEIHARDT, 2004).

A transmissão de resistência por meio de conjugação é especialmente importante em populações de bactérias normalmente encontradas em grandes densidades, como as intestinais (RANG et al., 2007). As ESBLs são geralmente transmitidas horizontalmente por meio da conjugação (CARTER, 2000).

O processo de transdução envolve a presença de vírus bacteriófagos que funcionam como vetores, transportando DNA plasmidial para uma célula receptora. Cada fago transporta uma porção do DNA da bactéria destruída anteriormente para uma nova célula infectada, protegendo-a das nucleases existentes no meio. Quando esse fago infecta uma nova célula, o DNA transportado irá interagir com o DNA da bactéria infectada, conferindo-lhe as mesmas características de resistência da célula de origem (RANG et al., 2007; MAYER, 2010).

Na transformação, a bactéria receptora engloba partes de DNA dispersos no meio envolvente provenientes de bactérias já lisadas e incorpora ao seu próprio DNA estas frações adquiridas. Esta capacidade de englobar o material genético extracelular em muitas bactérias é codificada por genes cromossômicos que são ativados em certas condições extremas (HOLMES e JOBLING, 1996; NEIHARDT, 2004; DZIDIC, SUSKOVIC, KOS, 2008; TODAR, 2011; RYAN e RAY).

### **3.10 Métodos laboratoriais de detecção de resistência por ESBL**

A detecção laboratorial de bactérias produtoras de ESBL constitui um desafio aos laboratórios de microbiologia pela necessidade de múltiplos substratos específicos devido à variável expressão fenotípica dessas enzimas. Por exemplo, enquanto um determinado tipo de ESBL pode ter maior capacidade de hidrolisar a ceftriaxona outro tipo pode ter maior capacidade para hidrolisar a ceftazidima (PEREIRA et al. 2003).

As linhagens produtoras de ESBL podem não expressar a resistência *in vitro* diante dos limites de sensibilidade convencionais, portanto testes especiais vem sendo propostos para a detecção de ESBL tais como: dupla difusão em disco, teste tridimensional, adição de

inibidores de betalactamases, E-TEST<sup>®</sup> e testes automatizados como o VITEK<sup>®</sup> (SHAH et al., 2004).

O teste de dupla difusão em disco (Figura 4) consiste na disposição de discos de cefalosporina de amplo espectro tais como ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima, e aztreonam na concentração de 30 $\mu$ g a uma distância de 20mm de um disco contendo inibidor de betalactamase (amoxicilina/clavulanato 20/10 20 $\mu$ g). O aumento ou distorção da zona de inibição ao redor dos discos de cefalosporinas, a chamada zona fantasma (*ghost zone*) (Figura 9), indica a produção de ESBL, por resultarem do sinergismo com o ácido clavulânico. Fatores como, baixo custo, fácil acesso e o reduzido tempo de obtenção de resultados faz desse método o mais utilizado na rotina laboratorial. Porém, a falta de padronização da distância entre os discos constitui a maior dificuldade do método (JUNIOR et al., 2004).

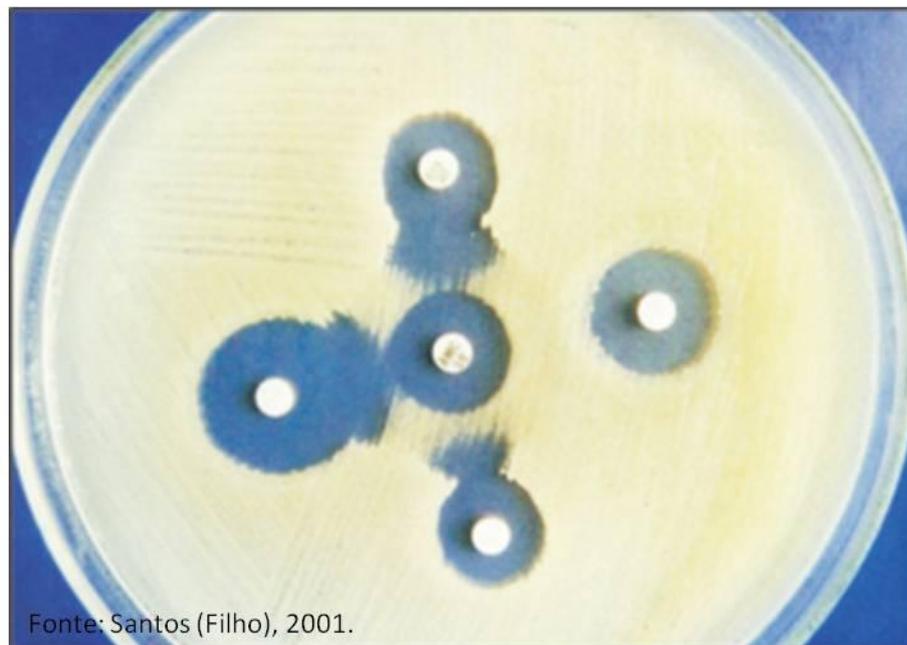


Figura 9.- Teste da dupla difusão em disco- Presença de zona fantasma.

No teste tridimensional, após a inoculação do micro-organismo em placa de ágar Mueller-Hinton, remove-se um cilindro de ágar de 4 mm e preenche-se esse orifício com 30 $\mu$ L do inoculo da bactéria. Posteriormente, discos de cefalosporinas de terceira geração são dispostos sobre a placa a uma distância de 3mm do orifício. O indício de produção de ESBL se dá pela distorção ou descontinuidade da zona circular de inibição (SHAH et al., 2004).

O teste da adição de inibidor de betalactamases a discos de betalactâmicos se dá pela comparação dos tamanhos dos halos de inibição ao redor dos discos de betalactâmicos com o tamanho do halo dos discos do mesmo betalactâmico com a adição do inibidor de betalactamases a fim de observar um aumento do halo na presença do inibidor de

betalactamases em relação ao halo do disco do betalactâmico não combinado. O resultado positivo é obtido quando a zona de inibição do disco com inibidor é maior ou igual a 5mm em relação ao disco do antibiótico correspondente não combinado (ROSSI, 1997).

O método E-TEST<sup>®</sup> (Figura 10) utiliza uma fita plástica que contém um gradiente de ceftazidima em uma extremidade e ceftazidima/ácido clavulânico (2µg/ml) na outra extremidade. Essa fita é disposta sobre a placa de Mueller-Hinton semeada com o inóculo bacteriano. A bactéria será considerada produtora de ESBL quando na leitura for apresentada uma redução de pelo menos duas diluições logarítmicas de ceftazidima/ácido clavulânico em relação ao MIC da ceftazidima, ou pode-se dizer, quando a razão entre os dois *breakpoints* for igual ou maior que 8. Esse método baseia-se no aumento da sensibilidade na presença do inibidor de betalactamases e é recomendado para testes confirmatórios de ESBL (JUNIOR et al., 2004).

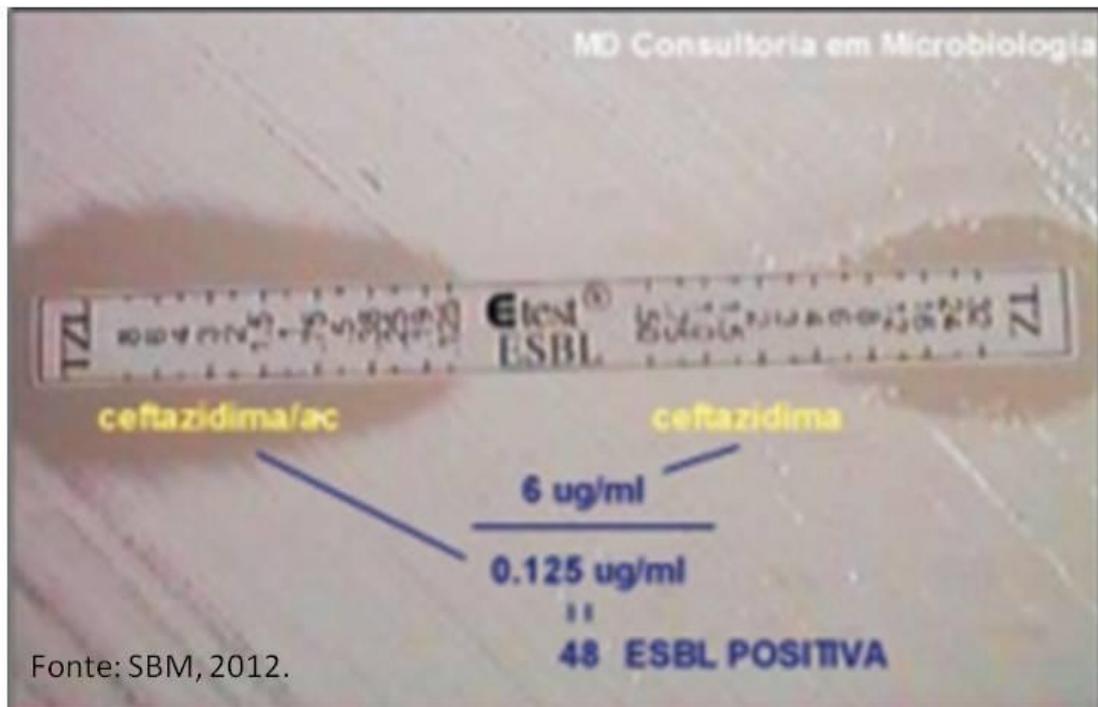


Figura 10. – Método E-test<sup>®</sup>

Os métodos automatizados como o Vitek<sup>®</sup> e MicroScan<sup>®</sup> também se baseiam em testes com betalactâmicos associados aos inibidores de betalactamases. Os métodos automatizados para a análise fenotípica da bactéria proporcionam uma maior padronização e rapidez o que lhes garante boa consistência nos resultados em relação aos testes em disco. Entretanto, os métodos automatizados apresentam algumas desvantagens frente à difusão em ágar, pois certas bactérias não crescem ou crescem fracamente após 4-5 horas de incubação, outro ponto

de desvantagem é a dificuldade em detectar o baixo nível de expressão de ESBL (BLATT, 2000).

### **3.11 Fatores de risco para infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL**

Importantes fatores de risco para infecção por bactérias produtoras de ESBL incluem tempo prolongado de internação em hospital, estada em UTI, utilização de procedimentos invasivos como cateter venoso central, arterial e urinário, assistência ventilatória, utilização de tubo gastrônômico, hemodiálise e cirurgia abdominal de emergência (DU BIN et al., 2002; SHAH et al., 2004; PATERSON et al., 2005; CALBO et al., 2006; TUMBARELLO et al., 2006).

Além do estado imunológico precário do paciente favorecer a contração de infecção, muitas vezes há promoção da disseminação do agente infeccioso por parte do corpo clínico, (SANTOS, 2009). Outro fator de importância que devem ser observados são casos de hospitalização anterior, onde possa ter havido uso de grande número de antimicrobianos para o tratamento da infecção, principalmente cefalosporinas de amplo-espectro de ação (PENA et al., 1997; LAUTENBACH et al., 2001; MENASHE et al., 2001; KIM et al., 2002). A dosagem desses antibióticos empregados pode causar pressão seletiva favorecendo a emergência das bactérias produtoras de ESBLs (SHAH et al., 2004).

Diversos trabalhos a cerca da prevalência de ESBL relatam micro-organismos produtores de ESBL em toda a família Enterobacteriaceae em diferentes partes do mundo, porém as bactérias que produzem ESBL isoladas com maior frequência são cepas de *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli* (JÚNIOR et al., 2004).

### **3.12 Tratamento das infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL**

O tratamento das infecções causadas por cepas produtoras de ESBLs é um problema de âmbito mundial e que ocorre com maior frequência em ambiente hospitalar onde acontece maior utilização de cefalosporinas de amplo espectro. O tratamento de infecções por produtoras de ESBLs fica limitado a poucas opções, já que essas enzimas possuem capacidade de inativar até as cefalosporinas de amplo espectro, entretanto tais opções também poderão apresentar-se falhas diante de micro-organismos produtores de múltiplas betalactamases ou portadores de outros mecanismos de resistência que associados produzem múltipla resistência (JÚNIOR et al., 2004).

Apenas alguns betalactâmicos são eficazes no tratamento de infecções por enterobactérias produtoras de ESBL. Apesar dessas enzimas não hidrolisarem cefamicinas como cefoxitina, isolados clínicos produtores de ESBL podem tornar-se resistentes a este

grupo por outros mecanismos como perda de porinas e produção concomitante de AmpC. Embora também, os inibidores de betalactamases apresentem atividade *in vitro* contra ESBL, sua utilização como opção terapêutica nesses casos não está bem estabelecida, pois há evidências de que estes inibidores possam não ser suficientemente ativos frente a amostras clínicas hiperprodutoras de alguns tipos de ESBLs. Sendo assim, dentre os betalactâmicos, os carbapenemes são os antibióticos mais indicados para o tratamento de tais infecções, pois possuem boa estabilidade frente à betalactamases de amplo espectro (JÚNIOR et al., 2004; BRASIL, 2007).

Esta classe representada pelo imipenem, meropenem e ertapenem, apresenta o maior espectro de ação antibacteriana dentre os antibióticos disponíveis. Tal atividade é resultante do conjunto de vários fatores como boa penetração pela membrana externa de bactérias Gram-negativas, forte ligação as PBPs e elevada estabilidade frente à hidrólise pela maioria das betalactamases (YAO e MOELLE-RING, 2003; MASCARETTI, 2003).

Portanto, diante de uma infecção por produtores de ESBL deve-se descartar o uso de betalactâmicos, à exceção dos carbapenemes. Outras classes de antimicrobianos podem ser utilizadas com base nos resultados obtidos *in vitro* nos testes de sensibilidade. (BRASIL, 2007)

### **3.13 Estratégias para a prevenção de micro-organismos produtores de ESBL**

Ao determinar estratégias para a prevenção de resistência microbiana é fundamental ter em mente os principais fatores que desencadeiam este problema na sociedade. Dessa forma, de maneira geral, a prevenção deve perpassar por alguns pontos importantes tais como: adoção de medidas de desinfecção que reforcem as técnicas assépticas; promoção do controle e uso racional de antimicrobianos no uso veterinário, especialmente em animais destinados à alimentação; os antibióticos devem ser utilizados apenas em situações em que a doença requeira verdadeiramente esse tipo de terapêutica; na terapia com antibióticos, administrar a dose adequada bem como respeitar o tempo de tratamento; confirmar a suscetibilidade da bactéria ao antibiótico quando observada necessidade de prescrição desses fármacos; se possível utilizar antibióticos de espectro de ação estreito inicialmente; a antibioticoterapia só deve ser realizada de maneira profilática em situações de provável infecção (BAPTISTA, 2013).

Em caso de infecções com bactérias resistentes, isolar o paciente durante o tratamento de forma a evitar propagação (SOARES, 2001; BAPTISTA, 2013; RYAN e RAY).

Em âmbito nacional, posteriormente à resolução RDC nº 20 de 05 de maio de 2011 que dispõe sobre o controle de medicamentos antimicrobianos e determina critérios para a

prescrição, dispensação, controle, embalagem e rotulagem desses medicamentos, foi publicada no diário oficial da união em 16 de janeiro de 2013 a instrução normativa nº1 de 14/01/2013 que determina a obrigatoriedade da escrituração de medicamentos e substâncias contendo antimicrobianos no Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados (SNGPC) por farmácias e drogarias privadas, a partir de 16 de abril de 2013. Tais medidas visam um mais rigoroso controle sobre os estabelecimentos comerciais farmacêuticos, a cerca da dispensação adequada de antibióticos na tentativa de prevenir contra o surgimento de bactérias resistentes no âmbito comunitário (BRASIL, 2013).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de enzimas betalactamases constitui uma grande ameaça à saúde pública em nível mundial, pela possibilidade de ser induzida por má utilização de betalactâmicos e pela capacidade de ser rapidamente disseminada por via plasmidial. O tratamento de infecções por linhagens produtoras de betalactamases de espectro estendido fica restrito a opções limitadas de tratamento tendo em vista a sua capacidade de hidrolisar quase toda a classe dos betalactâmicos, com exceção das cefamicinas e carbapenemes, problemática que ainda pode ser agravada quando este mecanismo é combinado com outras formas de resistência, o que limita ainda mais a antibioticoterapia.

Embora medidas de grande valia já tenham sido adotadas em nível nacional, tais como a regulamentação da dispensação de antimicrobianos e o maior controle destes fármacos a partir da sua inserção no SNGPC, é importante salientar que tais estratégias não são suficientes para sanar o problema da resistência e que medidas complementares são fundamentais na prevenção de bactérias resistentes. O conhecimento e o bom senso dos prescritores são indispensáveis para que haja, de fato, a eficácia das medidas já adotadas. Não obstante, o papel do farmacêutico, como responsável pelo estabelecimento que comercializa antimicrobianos, como dispensador e, por que não dizer, como educador, é fundamental para que haja o entendimento e a formação de uma conscientização em relação à utilização adequada desses fármacos por parte dos usuários, promovendo assim o uso racional dos antimicrobianos. Além disso, é essencial a observação das medidas preventivas de assepsia, principalmente no ambiente hospitalar, para conter a disseminação dos patógenos.

Nesse contexto, é necessário que haja uma maior apresentação do tema à sociedade como um todo, de forma a conscientizar sobre os efeitos da má utilização de antibióticos e promover o uso racional desses medicamentos. Além disso, é importante que os profissionais de saúde tenham acesso a informações atualizadas sobre o tema a fim de que trabalhem em conjunto na prevenção e minimização da resistência bacteriana.

## REFERÊNCIAS

- ABRAAM, E. P. e CHAIN, E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. **Nature** **146**: 837, 1940.
- AUTO, H. F. Cefamicinas. In: AUTO, H.F.; CONSTANT, J. C.; CONSTANT, A. B. L. (Orgs) **Antibióticos e Quimioterápicos**. Ed. UFAL, 5ªed., p. 121, 2008.
- BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. 2012. 51 f. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2012.
- BERTRAND, S.; WEILL, F. X.; CLOECKAERT, A.; VRINTS, M.; MAIRIAUX, E.; PRAUD, K.; DIERICK, K.; WILDEMAUVE, C.; GODARD, C.; BUTAUE, P.; IMBERECHTS, H.; GRIMONT, P.A.; COLLARD, J.M. Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). **Journal of Clinical Microbiology**. v. 44, Aug n. 8, p. 2897-903. 2006.
- BENTO, F. S. **DNA -Segredos & Mistérios**. Ed. Sarvier, São Paulo, 1997.
- BLATT, J.M. Mecanismo de Resistência e Detecção das betalactamases de espectro ampliado. **NewsLab**, n. 40, p. 86-97, 2000.
- BRADFORD, P. A.; BRATU, S.; URBAN, C.; VISALLI, M.; MARIANO, N.; LANDMAN, D.; RAHAL, J. J.; BROOKS, S.; CEBULAR, S.; QUALE, J. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenemhydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 betalactamases in New York City. **Clinical Infectious Diseases**. v.39, n.1, p.55-60, 2004.
- BRADFORD, P. A. Extended spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21<sup>st</sup> century: characterization epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, p. 933-951, 2001.
- BRASIL. ANVISA. **Resistência microbiana – mecanismos e impacto clínico. Gram-negativos – resistência aos antimicrobianos**. 2007. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo3/gramn\\_lacta4.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramn_lacta4.htm)> Acesso em 06 fev. 2014.
- BRASIL. ANVISA. **Instrução normativa nº 1 de 14 de janeiro de 2013**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/sngpc/documentos%202013/INSTRUCAO\\_NORMATIVA\\_N1.pdf](http://www.anvisa.gov.br/sngpc/documentos%202013/INSTRUCAO_NORMATIVA_N1.pdf)> Acesso em 28 dez. 2013.
- BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 39, n. 6, p. 1211-33, 1995.
- BUSH, K. Metallo- $\beta$ -lactamases: a class apart. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, suppl. 1, p. S48-S53, 1998.

- CALBO, E., ROMANÍ, V. , XERCAVINS, M. , GÓMES, L., VIDAL,C.G., QUINTANA, S., VILA,J., GARAU,J. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.57, p. 780-783, 2006.
- CARTER, M. W.; OAKTON, K. J.; WARNER, M. LIVERMORE, D. M. Detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiellae* with the oxoid combination disk method. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 38(11), p 4228-4232, 2000
- CHOQUE, R. C. Antibióticos betalactâmicos. **Revista de la Sociedad Boliviana de Medicina Familiar** , La Paz, v. 3, n. 1, p. 91-97, 1993
- COSTELLOE, C.; METCALFE, C.; LOVERING, A; MANT, D.; HAY, A. D. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, London, v. 340, p. c2096, 2010.
- DALMARCO, E. M.; BLATT, S. L.; CÓRDOVA, C. M. M. Identificação Laboratorial de  $\beta$ -Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs) – Revisão.**Revista Brasileira de Análises Clínicas**, vol. 38(3), p.171-177, 2006.
- DELLIT, T. H.; OWENS, R. C.; McGOWAN, J. E.; GERDING, D. N.; WEINSTEIN, R. A.; BURKE, J. P.; HUSKINS, W. C.; PATERSON, D. L.; FISHMAN, N. O.; CARPENTER, C. F.; BRENNAN, P. J.; BILLETTER, M.; HOOTON, T. M. Infectious disease society of America and the society for healthcare epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 44, p. 159-177, 2007.
- DIENSTMANN, R.; PICOLI, S. U.; MEYER, G.; SCHENKEL, T.; STEYER, J. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) em *Enterobacteriaceae* de ambiente hospitalar. **J. Bras. Patol. Med.** v. 46, n. 1, p. 23-27., 2010.
- DU, B.; LONG,Y.; LIU, H.; CHEN, D.; LIU, D.; XU, Y.; XIE, X. Extended-spectrum betalactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. **Intensive Care Medicine**, v. 28, p. 1718-1723, 2002.
- DUPIN, M. L. D. S., **Ocorrência de Beta-lactamases de espectro ampliado em Enterobactérias isoladas de espécimes clínicos em Hospital Filantrópico, Sete Lagoas – MG.** 2007. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais,Belo Horizonte, 2007.
- DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology Biotechnology**. V. 46 (11), 11-21, 2008
- FUCHS, F. D.; WANNMADER, L.; FERREIRA, M. B. C. Antibióticos Betalactâmicos. In: **Farmacologia Clínica. Fundamentos da terapêutica racional.** 3ª edição. Guanabara Koogan, 2004.
- GHUYSEN, J. M. Serine  $\beta$ -lactamases and penicillin-binding proteins. **Annual Review Microbiology**, v. 45, p.37-67, 1993.
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, Vol. 33, nº 3, 667-679, 2010.

GURGEL, T.C; CARVALHO, W.S. A Assistência Farmacêutica e o Aumento da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos. **Latin American Journal of Pharmacy**. 27 (1): 118-23, 2008.

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

INFARMED. **Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos** (9ª ed.) Lisboa, 2011.

JACOBY, G.A. AmpC beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 22, p. 161-182, 2009.

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**, v. 63, p. 152-174, 2004.

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

KIM, Y.K.; PAI, H.; LEE, H.J.; PARK, S.E.; CHOI, E.H.; KIM, J.; KIM, J.H.; KIM, E.C. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v.46(5), p.1481-1491, 2002.

KONEMAN, E. W.; WINN, W. Jr.; ALLEN, S.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. Medsi, 5ª ed. Rio de Janeiro, 2001.

LAUTENBACH, E.; PATEL, J.B.; BILKER, W.B.; EDELSTEIN, P.H.; FISHMAN, N.O. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. **Clinical Infectious Diseases**. v.32(8), p.1162-1171, 2001.

LIVERMORE, D. M.  $\beta$ -Lactamases in laboratory and clinical resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, p. 557-584, 1995.

LIVERMORE, D. M. Minimising antibiotic resistance. **Lancet Infectious Diseases**, [S. l.], v. 5, p. 450-459, 2005.

LIVERMORE, D. M e WOODFORD, N. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. **Trends in Microbiology**. v. 14, p.412-420, 2006.

MACEDO, M. DE L. DE A. P.; CARTAXO, R. DE S.; ALMEIDA, T. C. DA C.; DE SOUZA, L. B. S.; SANTANA, J. W.; COUTINHO, H. D. M. Mecanismos de resistência e detecção das beta-lactamases. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.7, n.1, p. 59-63, out. 2005.

MASCARETTI, O. A. Bacteria versus antibacterial agents. An integrated approach. **American Society For Microbiology**, Washington D. C, 1st edn. 2003.

MATTHEW, M. Plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases of Gram-negative bacteria: properties and distribution. **Journal Antimicrobial Chemother**, v. 5, p. 349-358, 1979.

MAYER, G. **Genetic Exchange**. In Microbiology and Immunology On-line.2010. Disponível em: <<http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/genetic%20ex.htm>>Acesso em: 17 dez. 2013.

MEDEIROS, A. Evolution and dissemination accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p.S19-S45, 1997.

MENASHE, G.; BORER, A.; YAGUPSKY, P.; PELED, N.; GILAD, J.; FRASER, D.; RIESENBERG, K.; SCHLAEFFER, F. Clinical significance and impact on mortality of extended-spectrum beta lactamase-producing Enterobacteriaceae isolates in nosocomial bacteremia. **Scandinavia Journal of Infectious Diseases**. v.33(3), p.188-193, 2001.

MENDES, R. E.; CASTANHEIRA, M.; PIGNATARI, A.C.C.; GALES, A.C. Metallo- $\beta$ -lactamases. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 42 n. 2 p. 103-113, 2006

MENEZES, E. A.; ALENCAR, A. M.; CUNHA, F. A.; ÂNGELO, M. R. F.; SALVIANO, M. N. C.; OLIVEIRA, I. R. N. Frequência de cepas produtoras de enzima betalactamase de espectro expandido (ESBL) e perfil de susceptibilidade de *Klebsiella pneumoniae* em hemoculturas no berçário de um hospital de Fortaleza. **Rev. Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n.1, p.7-11, 2008

MOLAND, E. S.; BLACK, J. A.; OURADA, J.; REISBIG, M. D.; HANSON, N. D.; THOMSON, K. S. Occurrence of Newer Beta-Lactamases in *Klebsiella pneumoniae* Isolates from 24 U.S. Hospitals. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 46, n. 12, p. 3837-3842, 2002.

NAGANO, R.; ADACHI, Y.; IMAMURA, H.; YAMADA, K.; HASHIZUME, T.; MORISHIMA, H. Carbapenem derivatives as potential inhibitors of various beta-lactamases, including class B metallo-beta-lactamases. **Antimicrob. Agents Chemother.** Washington, v. 43, n. 10, p. 2497-2503, 1999.

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

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

NOGUEIRA, K. S. **Ocorrência de beta-lactamases de espectro ampliado em enterobactérias isoladas em dois hospitais universitários**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

OPAS (1999) **Rev. Panam. Salud Publica**. v. 6, p. 437-439.

OPAS (2001) **Rev. Panam. Salud Publica**.v. 9, p. 123-127.

PATERSON, D.L.; BONOMO R.A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. **Clin Microbiol Rev**. v.18, n.4, p. 657-86. 2005.

PEIRANO, G.; SEKI, L. M.; VAL PASSOS, V. L.; PINTO, M. C.; GUERRA, L. R.; ASENSI, M. D. Carbapenem-hydrolysing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Antimicrob. Chemother**. v.63, n.2, p.265-268, 2009.

PENA, C.; PUJOL, M.; RICART, A.; ARDANUY, C.; AYATS, J.; LINARES, J.; GARRIGOSA, F.; ARIZA, J.; GUDIOL, F. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. **Journal of Hospital Infection**. V.35(1), p.9-16, 1997.

PEREIRA, A. S.; CARMO, J. R. F.; TOGNIM, M. C. B.; SADER, H. S. Avaliação da acurácia de testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtora de betalactamase de espectro estendido. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 14, 2003.

PETRI, W. A. Jr. Penicilinas, cefalosporinas e outros antibióticos betalactâmicos. In: GOODMAN & GILMAN (Org.). **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11ª Ed, p. 1013-1036, 2007.

PHILIPPON, A.; ARLET, G.; LAGRANGE, P.H. Origin and impact of plasmid-mediated extend-spectrum  $\beta$ -lactamases. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v.13, p.517-529, 1994.

QUINN, J. P.; MIYASHIRO, D.; SAHM, D.; FLAMM, R.; BUSH, K. Novel plasmid-mediate  $\beta$ -lactamase (TEM-10) conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 33, p. 1451-1456, 1989.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R.J. Fármacos usados no tratamento das infecções e do câncer. em: **Rang & Dale Farmacologia**, 6ª ed., Rio de Janeiro , Ed. Elsevier, p.655-659, 2007.

RYAN, K.e 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.

ROCHA, H. Cefalosporinas. In: Penildo Silva (Org.). **Farmacologia**.7ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.972-976, 2006.

ROSSI, F. O papel do Laboratório de Microbiologia na Infecção Hospitalar. In:**Infecções Hospitalares – Prevenção e Controle**. Ed. Sarvier, 1997.

SANTOS, S. B. Incidência de Enterobactérias produtoras de betalactamase de espectro estendido (ESBL) em um hospital do município de Duque de Caxias – RJ. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, vol. 4, n.4, p. 251-255, 2009.

SHAH, A. A.;HASAN, F.; AHMED, S.; HAMEED, A. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. **Research in Microbiology**, v. 155, p. 409-421, 2004

SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **J. Bras. Patol. Med. Lab**. V. 48, n. 2, p. 91-99, 2012.

SILVA, P. Antibióticos Beta-lactâmicos. Penicilinas. In: Penildo Silva (Org.) **Farmacologia**, 7ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006

SILVEIRA, G.P; NOME, F.; GESSER, J.C.; SÁ, M. M. Estratégias Utilizadas no Combate a Resistência Bacteriana. **Quim. Nova**, v. 29, n.4, p.844-855, 2006.

SOARES, M. A. Resistência Antibiótica. **Revista Pharmacia Brasileira**, v.3, n.24, p. 59-62, Brasília, Jan/Fev 2001.

SBM- Sociedade Brasileira de Microbiologia. MD **Consultoria em Microbiologia**. Disponível em: <[www.saudetotal.com.br](http://www.saudetotal.com.br)> Acesso em: 11 dez. 2013.

SPANU, T.; LUZZARO, F.; PERILLI, M.; AMICOSANTE, G.; TONIOLO, A.; FADDA, G.; Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended-spectrum beta -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. **Antimicrob Agents Chemother**. v.46, n.1, p.196-202, 2002.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. ed. Atheneu .São Paulo, 1999.

TAVARES, W. Resistência bacteriana. In: **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos** 3ª ed. Atheneu, São Paulo. p. 79, 2001.

THOMSON, K. S. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. **J. Clin Microbiol**. v.48, p.1019-1025, 2010.

THOMSON, K. S.; MOLAND, E. S. The new beta-lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. **Microbes Infect.**, v. 2, n. 10, p.1225-1235., Aug. 2000.

TODAR, K. **Bacterial Resistance to Antibiotics**. in Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2011. Disponível em: <[http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial\\_3.html](http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial_3.html)> Acesso em 11 dez. 2013

TORTORA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. Ed. Artes Médicas Sul, 6ªed, Porto Alegre, 2000.

TRAGANTE C. R.; CECCON, M. E. J. R.; FALCÃO, M. C.; SEIT, M.; SAKITA, N.; VIEIRA, R. A. Prevalência de sepsis por bactérias Gram negativas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido em Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal. **Rev. Paul. Pediatr.**, v. 26, n. 1, p. 59-63, 2008.

TURNER, P. J. Extended- Spectrum Beta-Lactamases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, p. 273-275, 2005. Disponível em:<<http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/genetic%20ex.htm>> Acesso em 28 dez. 2013

TUMBARELLO, M.; SPANU, T.; SANGUINETTI, M.; CITTON, R.; MONTUORI, E.; LEONE, F.; FADDA, G.; CAUDA, R. Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta- Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors, Molecular Epidemiology, and Clinical Outcome. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 2, p. 498-504, 2006.

VEIGA, C. L. **Os antibióticos na prática clínica**. Ed. Infecon, Lisboa, 1984.

WILLIAMS, J.  **$\beta$ -lactamases and  $\beta$ -lactamase inhibitors**. Journal Antimicrobials Agentes. 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857999000850>> Acesso em 12 nov. 2013

WRIGHT, G. Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. **Advanced Drug Delivery Review**. v.57, p.1451-1464, 2003.

YAO, J. D. C. e MOELLERING, R. C., Antibacterial agents. In **Manual of clinical microbiology** (Eds. P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller & R. H. Tenover), pp. 1039-1073, Washington D. C. American Society For Microbiology, 2003

ZEMELMAN, Z. R.; VALENZUELA, L. G.; DOMÍNGUEZ, Y. M.; BELLO, T. H.; GONZÁLEZ, R. G.; ZEMELMAN, M. C. Detección de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en el laboratorio de microbiología. **Revista Chilena de Infectología**. , Santiago, v. 19, supl. 2, p. S92-95. 2002.

ZHANEL, G. G.; WIEBE, R.; DILAY, L.; THOMSON, K.; RUBINSTEIN, E.; HOBAN, D.J.; NOREDDIN, A.M.; KARLOWSKY, J.A. **Comparative review of the carbapenems**. *Drugs*; 67: 1027-1052. 2007.

ZIMERMAN, R. A. Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana. Ministério da saúde, Brasil, 2010.