

Inês Assis Pereira

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA

Monografia realizada no âmbito da unidade curricular de Acompanhamento Farmacêutico do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Olga Cardoso e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Monografia de Acompanhamento Farmacêutico

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA

A Tutora

(Professora Doutora Olga Cardoso)

A aluna

Declaração de Integridade

Eu, Inês Filipa Assis Pereira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº2007011190, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Acompanhamento Farmacêutico.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 13 de Setembro de 2013

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr.^a Olga Cardoso, pelo desafio que me propôs e pela disponibilidade e interesse demonstrados na orientação deste trabalho.

Á minha rede social de apoio, familiar e de amizade um muito obrigado muito especial.

A todos, o meu mais sincero OBRIGADO!

Índice de Abreviaturas

MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

SCCmec- cassette cromossômica estafilocócica

MRSA-HA- *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina adquirida nos hospitais

MRSA-CA- *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina adquirida na comunidade

PBP- *Protein Binding Penicilin*

CMI- Concentração Mínima Inibitória

PVL- *Panton-Valentine leucocidine*

MHC- complexo principal de histocompatibilidade

HMW-PBPS- PBPs de elevado peso molecular

IS- sequências de inserção

Ccr- recombinases de *S.aureus*

att- sítios de ligação específicos para a integração/excisão de SCCmec

CDC- *Centers for Disease Control and Prevention*

ST- tipagem de sequenciação

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina

ACME- *Arginine catabolic mobile element*

PSMs- *Phenol-soluble modulins*

orf- open reading frame

OMS- Organização Mundial de Saúde

EARSS- Sistema Europeu de Vigilância da Resistência aos Antibióticos

ECDC- Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Patologia

Índice de Figuras

Figura 1- Fatores de virulência de *S. aureus* (adaptada Gordon *et al*, 2008).

Figura 2- Antibióticos β -lactâmicos (adaptada Zervosen *et al*, 2012).

Figura 3- Estruturas de D-alanil-D-alanina e de um antibiótico β -lactâmico (adaptada Plata *et al*, 2009).

Figura 4- Indução da síntese de β -lactamases na presença de penicilina (adaptada Lowy, 2003).

Figura 5- Meticilina (adaptada Perez *et al*, 2008).

Figura 6- Mecanismo de resistência à metilina por *S. aureus* (adaptada Lowy, 2003).

Figura 7- Variantes do complexo *mec* (adaptada Plata *et al*, 2009).

Figura 8- Representação dos genes *ccr* em *S. aureus* (adaptada IWG-SCC, 2009).

Figura 9- Tipos e representação esquemática dos *SCCmec* identificados em *S. aureus* (adaptada IWG-SCC, 2009 ; Plata *et al*, 2009).

Figure 10- Representação esquemática da integração e excisão de *SCCmec* (adaptada Wang *et al*, 2011).

Figura 11- Distribuição global dos clones MRSA mais importantes (adaptada Otto, 2012).

Figura 12- Proporção de isolados invasivos de MRSA em países da UE-EEE entre 2008-2011 (adaptada EARSS, 2011).

Pasteur disse que “a sorte favorece as mentes preparadas...”.

Índice

RESUMO	2
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	4
I. STAPHYLOCOCCUS AUREUS	5
1.1 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO	5
1.2 DE COMENSAL A PATOGENICO	5
2. SUSCETIBILIDADE DE S. AUREUS AOS ANTIBIÓTICOS β-LACTÂMICOS	8
2.1 β-LACTÂMICOS	9
2.2 MECANISMO DE ACÇÃO DOS β-LACTÂMICOS	9
2.3 EPIDEMIOLOGIA DA RESITÊNCIA À PENICILINA	10
2.4 MECANISMO DE RESISTÊNCIA: β-LACTAMASES	11
2.5 β-LACTÂMICOS EM S. AUREUS	12
3. STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA)	13
3.1 EPIDEMIOLOGIA	13
3.2 CARACTERIZAÇÃO	13
3.3 GENÉTICA	14
3.3.1 Regulação do gene <i>mecA</i>	14
3.3.2 <i>Staphylococcal chromosome cassette (SCCmec)</i>	14
3.3.3 Integração/Excisão de <i>SCCmec</i>	17
4. MRSA ADQUIRIDO A NÍVEL HOSPITALAR (MRSA-HA) E NA COMUNIDADE (MRSA-CA)	18
4.1 TRATAMENTO	21
4.2 PREVENÇÃO E CONTROLO	22
CONCLUSÃO	25
BIBLIOGRAFIA	26

RESUMO

Staphylococcus aureus pode causar uma variedade muito ampla de infecções, desde infecções ligeiras da pele a infecções graves invasivas. A poderosa capacidade de adaptação de *S. aureus* aos antibióticos, levou à emergência de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), no início dos anos 60. A causa de resistência à meticilina e a todos os outros antibióticos β -lactâmicos é a presença do gene *mecA*, que se encontra num elemento genético móvel, designado por *cassete cromossômica estafilocócica*, *SCCmec*. Vários tipos e subtipos de *SCCmec*, I a VIII, foram distinguidos.

Os primeiros clones a surgir foi a nível hospital (MRSA-HA). No entanto, no final dos anos 90 emergiram clones adquiridos na comunidade (MRSA-CA) por todo o mundo. A distinção entre MRSA-HA e MRSA-CA tem tendência para desaparecer devido ao surgimento de estirpes MRSA-CA em hospitais. A virulência de MRSA-CA tem sido associada a vários fatores, como a sobreexpressão de genes que codificam toxinas, e engloba *SCCmec* do tipo IV, V ou VII, enquanto MRSA-HA tem inserido o *SCCmec* do tipo I, II e III.

A vancomicina continua a ser o antibiótico de eleição para o tratamento de infecções graves de MRSA, apesar de provocar nefrotoxicidade e terem já surgido estirpes resistentes a este antibiótico. É imperativo tomar medidas preventivas e investir na área de investigação de novos agentes contra MRSA para reduzir a sua prevalência.

ABSTRACT

A broad variety of infections, ranging from minor infections of the skin to severe invasive infections, can be caused by *Staphylococcus aureus*. The adaptative power of *S. aureus* to antibiotics led, in the early 1960s, to the emergence of methicilin-resistant *S. aureus* (MRSA). The cause of resistance to methicilin and all other β -lactam antibiotics is the *mecA* gene, which is situated on a mobile genetic element, the *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec). Eight major variants of SCCmec, type I to VIII, are distinguished.

The early MRSA clones were hospital-associated (HA-MRSA). However, from the late 1990s, community-associated MRSA (CA-MRSA) clones emerged worldwide. The distinction between HA-MRSA and CA-MRSA has become blurred, because CA-MRSA was found in many hospitals. The virulence of CA-MRSA is often associated with many factors, such as overexpression of core-genome-encoded toxins and harbors SCCmec type IV, V ou VII while HA-MRSA harbors SCCmec type I, II and III.

The vancomycin is still the preferred drug for treatment of serious MRSA infections. However, nephrotoxicity and increasing prevalence of non-susceptible strains limit its effectiveness. It's time to take prevention strategies and invest more in development of new agents against MRSA to reduce the prevalence of MRSA.

INTRODUÇÃO

O Homem é um dos reservatórios naturais de *S. aureus* cujo principal nicho ecológico são as narinas. Apesar de ser uma bactéria comensal pode tornar-se no principal agente etiológico nosocomial e em ambulatório, capaz de provocar uma variedade de infecções desde pneumonias a intoxicações alimentares (Gordon, 1998).

O sucesso de *S. aureus* como agente patogénico está na produção de diversos fatores de virulência, na organização do seu genoma e na regulação da expressão de genes envolvidos na virulência, contribuindo para a múltipla resistência a antibióticos. O aumento do número de estirpes de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) tornou-se num sério problema clínico e epidemiológico, uma vez que a resistência de *S. aureus* à meticilina implica a resistência a todos os antibióticos β -lactâmicos (Plata *et al*, 2009).

O estudo da genética bacteriana revela-se importante para compreender mecanismos de resistência, e por isso, MRSA é caracterizado pela presença de um elemento genético móvel, designado por cassette cromossómica estafilocócica (*SCCmec*), que transporta o gene *mecA*. Este gene codifica uma *penicillin binding protein* alternativa (*PBP2a*) que possui baixa afinidade para os antibióticos β -lactâmicos (Plata *et al*, 2009).

As infeções por MRSA são muitas vezes subcategorizadas em infeções de MRSA adquiridas na comunidade (MRSA-CA) e em infeções de MRSA adquiridas nos hospitais (MRSA-HA). A distinção entre estes dois tipos de MRSA é complexa: inicialmente alguns investigadores definiam o MRSA-CA pelas características dos pacientes infetados, mas, mais recentemente, a distinção entre os dois é feita pelas características genéticas das próprias bactérias (Deurenberg *et al*, 2008).

A informação sobre genética bacteriana favorece a criação de novos antibióticos e/ou outros agentes mas até lá têm de ser implementadas e cumpridas estratégias que permitirão a diminuição da incidência de infeções provocadas por *S. aureus* (Rivera *et al*, 2011).

I. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

I.1 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

O género *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae*. O nome *Staphylococcus* é derivado da palavra grega *staphylé*, que significa «cacho de uvas». Este nome refere-se ao facto de as células destes cocos gram-positivos crescerem de forma semelhante a um cacho de uvas, embora em produtos patológicos se possam observar células isoladas, aos pares ou em cadeias curtas. A maioria dos estafilococos apresentam diâmetro de 0,5 µm a 1 µm, são imóveis, capsulados e não esporulados. São aeróbios ou anaeróbios facultativos e catalase-positivos, e crescem em meios com elevado teor de cloreto de sódio (10%) e a temperaturas compreendidas entre 18° e 40°C (Ferreira *et al*, 1998).

Staphylococcus aureus é a espécie mais comumente associada a doença humana e o membro mais virulento e mais bem conhecido do género, sendo por isso uma das espécies melhor estudadas. As colónias de *S. aureus* são douradas em consequência dos pigmentos carotenoides que os microrganismos formam durante o crescimento, daí o nome da espécie “*aureus*”. É também a única espécie encontrada no ser humano que produz a enzima coagulase, e, por isso mesmo, as restantes espécies são designadas por estafilococos coagulase-negativas (Murray *et al*, 2002).

I.2 DE COMENSAL A PATOGÉNICO

A distribuição de *S. aureus* é muito ampla, uma vez que pode sobreviver em superfícies secas por longos períodos. *S. aureus* é um agente comensal associado à pele, às glândulas da pele e às membranas mucosas, sendo que os locais de maior incidência são as narinas. Cerca de 30% dos adultos saudáveis são portadores desta bactéria, o que significa que nestes indivíduos o risco de infeção é maior, uma vez que proporciona um reservatório do patogénico. Em geral, doentes infetados por *S. aureus* são infetados pela mesma estirpe que transportam como comensais (Plata *et al*, 2009).

A versatilidade e gravidade das infeções potencialmente causadas por *S. aureus* dependem dos seus fatores de virulência. Estes permitem ao *S. aureus* sobreviver, colonizar, proliferar e provocar infeções em células hospedeiras e são responsáveis pela adesão da bactéria, evasão do sistema imunológico e invasão tecidual (Archer *et al*, 1998). Entre eles fazem parte componentes estruturais, toxinas e enzimas segregadas pela bactéria (Figura 1).

S. aureus possui uma classe de proteínas de superfície, designadas por adesinas, que promovem a adesão da bactéria aos tecidos do hospedeiro. Estas proteínas superficiais têm a capacidade de se ligarem ao colagénio, elastina e fibronectina (Gordon *et al*, 2008). Após a adesão aos tecidos do hospedeiro ou ao material prostético, a bactéria consegue proliferar e persistir em diversas formas.

S. aureus pode passar despercebido pelo sistema imunitário mediante a formação de biofilmes ou pela produção de cápsulas protetoras, como a cápsula de polissacarídeos (DeLeo *et al*, 2009). Os biofilmes são populações bacterianas complexas incluídas numa matriz polissacarídea, composta por poli-N-acetilglucosamina (PNAG). A formação de biofilmes por *S. aureus* começa pela aderência da bactéria a superfícies artificiais ou a fatores do hospedeiro, como fibrinogénio ou fibronectina. A bactéria consegue aderir aos componentes da matriz extracelular dos tecidos do hospedeiro, levando a colonização. O passo seguinte envolve a proliferação da bactéria e a sua integração no biofilme, por adesão intracelular. Os biofilmes são clinicamente importantes, uma vez que as bactérias tornam-se resistentes às defesas do hospedeiro e aos antibióticos. A cápsula é uma estrutura mais ou menos bem individualizada, que inibe a opsonização e fagocitose. Além disso, também facilita a adesão das bactérias a cateteres e a outros materiais sintéticos (Watkins *et al*, 2012).

O fator de evasão mais significativo de *S. aureus* talvez seja a proteína A (proteína associada à parede celular), uma vez que tem a capacidade de se ligar à região Fc das IgG. Deste modo, *S. aureus* é capaz de recrutar anticorpos inespecíficos para a sua superfície protegendo-o da resposta imunológica.

As principais toxinas incluem quatro toxinas citolíticas (α, β, γ e PVL), duas enzimas exfoliatinas (A-B) e sete enterotoxinas (A-E e G-H) (Murray *et al*, 2002). As toxinas citolíticas formam poros na membrana celular, causando a libertação do seu conteúdo e por consequência lise celular. A α -hemolisina é citolítica em plaquetas e monócitos. A PVL (*Panton-Valentine leucocidine*) merece particular relevo, por possuir elevada afinidade para leucócitos e estar associada a *S. aureus* resistente à meticilina adquirida na comunidade (MRSA-CA), o que causa pneumonia necrosante severa e infeções da pele contagiosas. A γ -hemolisina e a β -leucocidina são citotóxicas em eritrócitos e leucócitos, respetivamente. (Plata *et al*, 2009) As exfoliatinas A e B são responsáveis pela síndrome da pele escaldada e as enterotoxinas (A-E e G-H) são responsáveis por intoxicação alimentar. A enterotoxina F, atualmente é designada por TSST-I (*Toxic Shock Syndrome Toxin-1*), é responsável pela síndrome do choque tóxico. As enterotoxinas e TSST-I pertencem a uma classe designada por superantígenos. Estas toxinas têm a capacidade de promover a ligação das moléculas de

classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) aos recetores das células T, formando um complexo trimolecular. Este complexo, por sua vez, induz a proliferação inespecífica das células T e a produção de citocinas (Murray *et al*, 2002).

Durante o processo infeccioso, *S. aureus* produz numerosas enzimas que possuem a capacidade de invadir e destruir os tecidos do hospedeiro. Uma das enzimas mais importantes é a enzima extracelular coagulase, que converte diretamente o fibrinogénio em fibrina insolúvel, envolvendo os estafilococos (*clumping factor*), sendo assim protegidos da fagocitose. A catalase é uma enzima que catalisa a conversão de peróxido de hidrogénio em água e oxigénio e protege o microrganismo dos efeitos tóxicos do peróxido de hidrogénio formado pelo seu metabolismo ou produzido pelas células fagocitárias. Existem outras enzimas produzidas por *S. aureus*, como a hialuronidase, com ação sobre os ácidos hialurónicos, facilitando a disseminação de *S. aureus* nos tecidos, a fibrolisina que tem uma potente atividade fibrinolítica, as lipases que hidrolisam lípidos, garantindo a invasão aos tecidos cutâneos e subcutâneos bem como desenvolvimento de infeções cutâneas superficiais, e a desoxirribonuclease que destrói o ADN, mas cuja intervenção na patogénese da infeção é ainda desconhecida (Murray *et al*, 2002).

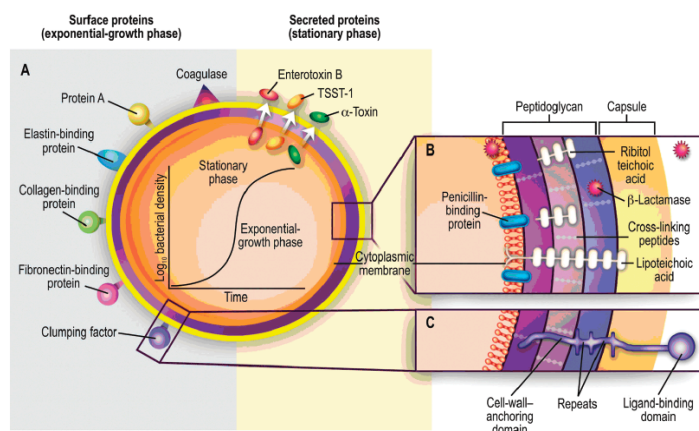


Figura 1- Fatores de virulência de *S. aureus* (adaptada Gordon *et al*, 2008).

As doenças causadas por *S. aureus* podem resultar da ação das suas toxinas, ou podem ser devidas à invasão e lesão dos tecidos pelo microrganismo. As infeções mais frequentes são ligeiras e localizadas na pele e tecido celular subcutâneo, como por exemplo, impetigo, furúnculo, abscessos, ou infeções de queimaduras e de feridas traumáticas ou cirúrgicas. Pode também ocorrer bacteriémias, surgindo por vezes infeções graves, como endocardites, osteomielites, artrites, pneumonias, pielonefrites, meningites ou septicémias. O *S. aureus* ainda é responsável ainda por infeções relacionadas com cateteres e com próteses. (Ferreira *et al*, 1998).

2. SUSCETIBILIDADE DE S. AUREUS AOS ANTIBIÓTICOS β -LACTÂMICOS

A descoberta de antibióticos foi um dos avanços mais significativos no tratamento de infecções bacterianas. Contudo a sua introdução na prática clínica tem proporcionado o desenvolvimento de estirpes bacterianas resistentes, cujos principais mecanismos de resistência ainda são objeto de estudo (Sousa, 2006).

O surgimento e a propagação de microrganismos resistentes representam a convergência de diversos fatores que incluem mutações nos genes de resistência, o intercâmbio de informações genéticas entre os microrganismos e a pressão seletiva exercida sobre os microrganismos nos meios ambulatorio e hospitalar (Chambers *et al*, 2011).

Os antibióticos utilizados no tratamento de infecções bacterianas estão classificados de acordo com os seus principais mecanismos de ação. Cada grupo tem um alvo na célula bacteriana, a fim de exercerem as suas propriedades de antibiose, isto é, terem ação bactericida (morte das bactérias) ou bacteriostática (inibição do crescimento bacteriano). (Sousa, 2006). As diferentes classes de antibióticos atuam sobre as bactérias em alvos principais do metabolismo bacteriano: biossíntese da parede celular, síntese proteica e replicação e reparação do ADN.

A atividade antimicrobiana de um composto pode ser quantificada com base na determinação da concentração mínima do composto capaz de inibir o crescimento de um dado microrganismo, um valor designado CIM (Concentração Mínima Inibitória, $\mu\text{g/ml}$). O valor CMI de um dado antibiótico não é constante, sendo influenciado pela natureza do microrganismo testado, pela quantidade de inóculo, pelo tempo de incubação, pela composição do meio de cultura e pelas condições ambientais, tais como temperatura e pH. Quando todas estas condições são padronizadas, é possível comparar a atividade de diferentes antibióticos contra esse microrganismo, ou avaliar a atividade de um mesmo antibiótico relativamente a diferentes microrganismos. Através do CMI, uma estirpe pode ser categorizada de acordo com a suscetibilidade ao antibiótico. Assim, a estirpe pode ser “suscetível”, “resistente-intermédia” ou “resistente” aos antibióticos. O valor CMI não é estático, pois as bactérias adquirem resistência aos antibióticos ao longo do tempo e as espécies que anteriormente eram suscetíveis a um antibiótico, poderão já não o ser (*bioMérieux Clinical Diagnostics Website*).

S. aureus é um dos agentes patogénicos que mais resistência antibacteriana provoca. A sua prevalência global tem aumentado e, portanto, infecções causadas por esta espécie representam um grave problema epidemiológico (Lowy, 2003).

2.1 β -LACTÂMICOS

Os antibióticos β -lactâmicos constituem o grupo de antibióticos mais importante, dada a sua eficácia terapêutica e a sua baixa toxicidade para animais, incluindo o Homem. Os antibióticos β -lactâmicos impedem a biossíntese do peptidoglicano, molécula tipicamente procariótica, e dada a ausência desta macromolécula nas células eucarióticas, possuem uma toxicidade seletiva antibacteriana. Apresentam, no entanto alguns inconvenientes, como o facto de poderem ser inativados por hidrolases bacterianas (β -lactamases).

Os antibióticos β -lactâmicos são um grupo de antibióticos, constituído por penicilinas, incluindo a meticilina, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenemos (Figura 2). Este grupo não é uma coleção de substâncias perfeitamente homogénea na sua química, nem nos seus efeitos. No entanto, é um grupo que possui a característica comum de exibir um anel β -lactâmico constituído por três átomos de carbono e um de azoto com radicais substituintes. O anel β -lactâmico encontra-se fundido com um anel tiazolidina nas penicilinas ou com um anel dihidrotiazina nas cefalosporinas. Os antibióticos monobactâmicos têm a particularidade de possuírem na sua molécula um grupo 2-oxoazetidina-1-sulfónico. Os carbapenemos diferem dos outros β -lactâmicos dado que não possuem um átomo de S no anel anexo ao anel β -lactâmico, mas sim C e uma dupla ligação.

A composição dos radicais substituintes modifica o espectro antibacteriano e pode tornar resistente ou não ao suco gástrico ou pode conferir uma farmacocinética diferente (Sousa, 2006; Ferreira *et al*, 1998).

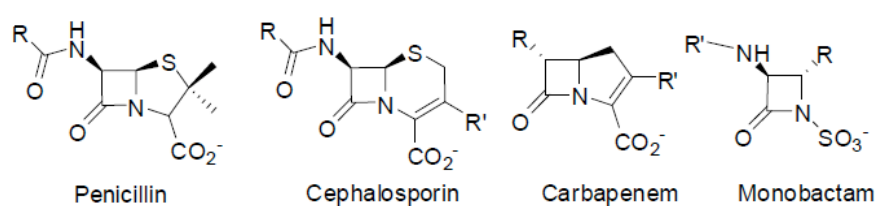


Figura 2- Antibióticos β -lactâmicos (adaptada Zervosen *et al*, 2012).

2.2 MECANISMO DE ACÇÃO DOS β -LACTÂMICOS

Os β -lactâmicos são bactericidas (ou bacteriolíticos) e partilham o mesmo modo de acção: inibem a biossíntese do peptidoglicano na sua fase terminal (fase parietal), e por isso são englobados nos antibióticos antiparietais. Impedem a transpeptidação e a transglicosilação, isto é, inibem o estabelecimento de pontes interpeptídicas (*cross-linking*) e

pentaglicídicas entre cadeias peptídicas vizinhas do peptidoglicano em crescimento (Sousa, 2006).

As responsáveis pela transpeptidação e transglicosilação são as enzimas carboxi-transpeptidases e transglicosilases, conhecidas como PBP (*Protein Binding Penicilin*), que se encontram no folheto exterior da membrana celular bacteriana. *S. aureus* tem 4 PBPs diferentes (PBP₁, PBP₂, PBP₃ e PBP₄). Os β-lactâmicos são estruturas análogas do substrato natural das PBPs, a porção terminal D-alanil-D-alanina (da cadeia peptídica do peptidoglicano), e por isso, tem elevada afinidade para estas enzimas (Figura 3). A reação entre a PBP e o antibiótico β-lactâmico começa por ligação não-covalente entre estas duas moléculas. O intermediário formado pode ser dissociado ou sofrer uma reação de acilação irreversível, quando a PBP se liga covalentemente ao antibiótico no seu local ativo, quebrando a ligação amídica cíclica do anel β-lactâmico (CO-N).

O substrato natural da PBP, D-alanil-D-alanina, sofre desacilação por hidrólise, libertando a PBP para a próxima transpeptidação e transglicosilação. No entanto, quando o substrato da PBP é o β-lactâmico, o processo de desacilação é muito lento e a PBP é inativada eficazmente, não ocorrendo as atividades enzimáticas transpeptídicas e carboxipeptídicas. Deste modo, a síntese do peptidoglicano é inibida. Além disso, as PBPs participam na ativação de autolisinas endógenas, com a subsequente lise celular (Plata *et al*, 2009; Sousa, 2006).

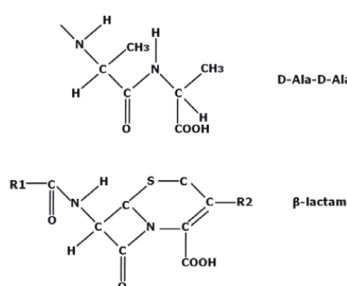


Figura 3- Estruturas de D-alanil-D-alanina (substrato de PBPs) e de um antibiótico β-lactâmico (adaptada Plata *et al*, 2009).

2.3 EPIDEMIOLOGIA DA RESISTÊNCIA À PENICILINA

Desde a descoberta da penicilina por Fleming em 1928 e da sua introdução clínica como agente antibacteriano na década de 40, os antibióticos β-lactâmicos tornaram-se os medicamentos com mais notoriedade no tratamento de infeções bacterianas, aliviando assim o efeito devastador que as infeções estafilocócicas provocaram até à data. (Sousa, 2006). No entanto, até ao final da década de 1950, surgiram estirpes resistentes à penicilina

expressando β -lactamases (penicilinasas), que se tornaram pandêmicas a nível hospitalar e da comunidade. Hoje em dia, a grande maioria de isolados de *S. aureus* é resistente à penicilina (Otto, 2012).

2.4 MECANISMO DE RESISTÊNCIA: β -LACTAMASES

β -lactamases são enzimas plasmídicas ou cromossômicas que contribuem para a resistência dos antibióticos β -lactâmicos.

Em 1980 Ambler, de acordo com a sequência dos aminoácidos nas moléculas das β -lactamases, agrupou-as em classes A, B, C e D. As β -lactamases da classe A englobam as serino- β -lactamases; as da classe B englobam as metalo- β -lactamases, dependentes do Zn; as da classe C incluem as β -lactamases cromossômicas e as da classe D incluem as oxacilinasas.

As penicilinasas são serino- β -lactamases (têm serina no centro ativo). Estas acilam os antibióticos β -lactâmicos e quebram a ligação amídica do anel β -lactâmico, dado que há um ataque nucleofílico do grupo $-OH$ da serina ao C do anel β -lactâmico, dando origem a um intermediário acilado, inativando o antibiótico e libertando a serino- β -lactamase. Dependendo da sua especificidade, as β -lactamases são muitas vezes chamadas penicilinasas, cefalosporinasas e carbapenemases (Sousa, 2006).

O gene que codifica as penicilinasas (*blaZ*) é normalmente transportado num plasmídeo ou encontrado num transposão.

A expressão da penicilinasas é induzida pela presença de penicilina através de um sistema regulador composto por uma proteína com atividade repressora, *BlaI*, e uma proteína transdutora de sinal, *BlaRI*. Os genes *blaI* e *blaRI* estão localizados num operão e são transcritos em sentido oposto do gene *blaZ*. A *BlaI* forma dímero que se liga ao operador, impedindo que haja transcrição dos genes do operão (*blaZ* e *blaRI-blaI*)

BlaRI é uma proteína da membrana celular composta por um domínio sensor extracelular que é acilado pelos β -lactâmicos, um domínio membranar que traduz o sinal através da membrana, e um domínio enzimático intracelular que é ativado mediante acilação do domínio sensor.

Na presença de um antibiótico β -lactâmico, este liga-se ao domínio sensor do *BlaRI*. Consequentemente, *BlaRI* auto-cliva e o domínio enzimático torna-se ativo. Este domínio enzimático cliva *BlaI*, evitando a dimerização e a ligação ao operador. A ausência da proteína repressora *BlaI* na região operadora deixa caminho livre para a transcrição dos genes do

operação. Assim o gene *blaZ* codifica penicilinasas que vão inativar a penicilina (Plata et al 2009) (Figura 4).

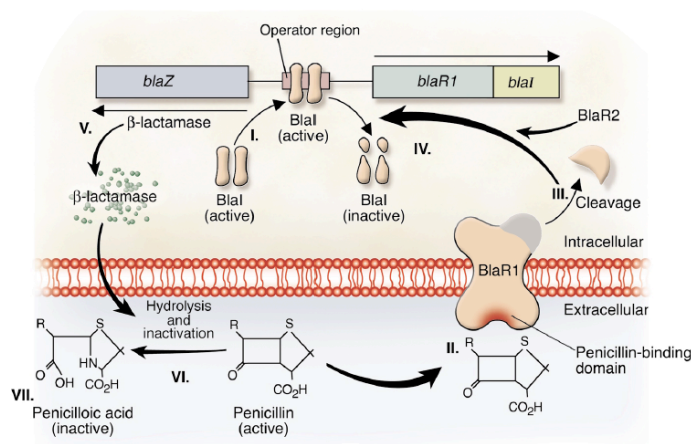


Figura 4- Indução da produção de penicilinases na presença de penicilina (adaptada Lowy et al, 2003).

2.5 β-LACTÂMICOS EM *S. AUREUS*

O aparecimento crescente de estirpes de *S. aureus* produtoras de penicilinasas levou os cientistas à procura de moléculas resistentes a esta β-lactamases estafilocócicas. Assim, nasceram a meticilina e as isoxazolilpenicilinas. As isoxazolilpenicilinas são penicilinas semissintéticas e englobam a oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina e flucloxacilina. Estas penicilinas têm grande afinidade para as PBP_{1,2,3} de *S. aureus*. Devido à sua estrutura química e à presença do grupo isoxazolidina ligado ao núcleo benzênico, dificultam o ataque das penicilinasas ao anel β-lactâmico. Assim, esta classe de antibióticos é estável à ação das penicilinasas, sendo por isso usada nas infeções da pele e tecidos moles, provocadas por estirpes *S.aureus* produtoras de penicilinasas. As isoxazolilpenicilinas são estáveis em meio ácido, pelo que podem ser administradas *per os*. A meticilina é uma penicilina semi-sintética e tem uma grande afinidade para as PBP₁ e PBP₃. A presença dos grupos metoxi (-OCH₃) confere-lhe estabilidade contra as β-lactamases, por impedimento estérico. Ao contrário das isoxazolilpenicilinas, a meticilina só pode ser administrada por via parenteral e o seu uso é limitado ao tratamento de infeções resistentes à penicilina (Sousa, 2006).

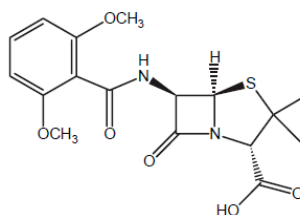


Figura 5- Meticilina (adaptada Perez et al, 2008).

3. STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA)

Designam-se MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) o *Staphylococcus aureus* que adquiriu um elemento genético móvel designado *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (*SCCmec*) (Otto, 2012). Este elemento transporta o gene *mecA*, que codifica uma PBP alternativa de baixa afinidade (PBP2a) a todos os β -lactâmicos.

3.1 EPIDEMIOLOGIA

A metilina foi introduzida na prática clínica em 1959 por Beecham, e em 1961, no Reino Unido, foram descobertos os primeiros isolados de *S. aureus* resistentes à metilina. (Sousa, 2006) Esta epidemia foi largamente restrita à Europa, mas no começo dos anos 80, novas estirpes de MRSA surgiram, levando a uma pandemia mundial que continua nos dias de hoje (Otto, 2012).

3.2 CARACTERIZAÇÃO

S. aureus desenvolveu resistência à metilina por aquisição do gene *mecA* transportado pelo elemento *SCCmec*. Estirpes contendo *mecA* são conhecidos por *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA), apesar de, na verdade serem resistentes a todos os β -lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos (Plata *et al*, 2009). *mecA* codifica uma PBP alternativa, PBP2a, que tem baixa afinidade para os β -lactâmicos. PBP2a pertence ao grupo das PBPs de elevado peso molecular (HMW-PBPS) e é constituída por um domínio transpeptídico e um domínio não ligante à penicilina (Zervosen *et al*, 2012).

O grupo serina no local ativo do domínio da transpeptidase do PBP2a é responsável pelo ataque nucleofílico ao anel β -lactâmico e no substrato D-alanil-Dalanina. O encaixe medeia interações não covalentes que faz com que β -lactâmico fique numa posição desfavorável para interagir com a serina no local ativo. Consequentemente, a acilação entre o β -lactâmico e o local ativo não ocorre.

Mesmo que, na presença de metilina, a atividade transpeptídica seja inibida por todas as PBPs nativas, foi demonstrado que a PBP2a é essencial para que a transglicosilação ocorra, e por isso, a PBP2a permite às estirpes de MRSA crescerem na presença do antibiótico. Isto significa que, a PBP2a consegue aliar o facto de ter baixa afinidade para os β -lactâmicos e possuir atividade transglicosílica (Plata *et al*, 2009).

3.3 GENÉTICA

3.3.1 Regulação do gene *mecA*

O gene *mecA* é regulado pelo sistema de genes *mecI/mecRI* (presentes no genoma de MRSA), de uma maneira análoga ao gene *blaZ* (que codifica penicilinasas). De forma semelhante, o gene *mecA* é transcrito em sentido oposto aos seus dois genes reguladores, organizados no operão (Plata *et al*, 2009).

A proteína MecI reprime a transcrição do gene *mecA* e a do par de genes *mecRI-mecI*, através da ligação ao operador. Isto significa que na ausência da meticilina no meio ambiente a que a bactéria está exposta, não ocorrerá transcrição do gene *mecA* nem transcrição dos genes reguladores. Isto acontece com o objetivo da célula bacteriana economizar energia e não ter de produzir proteínas que não necessita.

Porém, quando a meticilina está presente, este antibiótico liga-se ao domínio extracelular de MecRI. MecRI auto-cliva cataliticamente e o domínio enzimático, que está localizado na parte citoplasmática desta proteína, torna-se ativo. Este domínio enzimático cliva a proteína MecI, que por sua vez, deixa de estar ligada ao operador, permitindo assim a transcrição do gene *mecA* e subsequente produção da PBP-2a (Figura 6) (Deuremberg *et al*, 2008; Plata *et al* 2009).

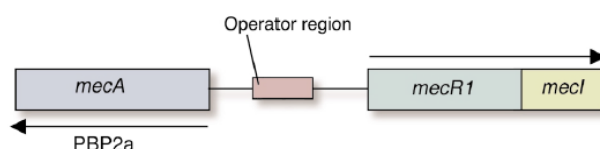


Figura 6- Mecanismo de resistência à meticilina por *S. aureus* (adaptada Lowy, 2003).

3.3.2 Staphylococcal chromosome cassette (*SCCmec*)

O gene *mecA* está localizado no elemento genético móvel, designado por *Staphylococcal chromosome cassette (SCCmec)*, de tamanho variável (de 21 a 67kb, dependendo do tipo) (Otto *et al*, 2012) e que apresenta certas características: sequências de repetição terminais diretas e invertidas, dois complexos genéticos essenciais (complexo *mec* e complexo *ccr*) e as regiões-J. As sequências de repetição terminais invertidas possuem a capacidade de “encaixe” do *SCCmec* no genoma bacteriano, especificado pela complementaridade de bases. O complexo *mec* é composto por *mecI*, *mecR1*, *mecA* e regiões intactas ou truncadas dos genes reguladores *mecRI* e *mecI*. O complexo *ccr* codifica recombinases *ccr*, que medeiam a

integração e excisão do SCCmec a partir do cromossoma e, por isso, são responsáveis pela mobilidade do SCCmec. As regiões variáveis de SCCmec são as regiões-J, que estão localizadas entre e ao redor dos complexos *mec* e *ccr* e podem conter vários genes de resistência mediados por transposões ou plasmídeos (IVG-SCC, 2009).

O complexo genético *mec* é constituído pelo gene *mecA* e os seus genes reguladores, *mecI* e *mecRI*, sendo encontrado em diferentes variantes. As variantes do complexo *mec* são divididas em duas grandes categorias: a que contém ambos os genes *mecI* e *mecRI* intactos e a outra que contém porções de um ou ambos genes truncados. O primeiro grupo do complexo *mec* é conhecido como complexo *mec* classe A, enquanto que os outros são categorizados por classes B, C, D e E (Figura 7). Todas as classes do complexo incluem uma cópia da sequência de inserção IS431 associada ao gene *mecA*, e por isso, são designadas *mecIS431*. As classes B-E contêm deleções de *mecI* e podem ser prolongadas até parte do gene *mecRI*. Em geral, estas deleções coincidem com a integração de partes de IS431 (Plata et al 2009).

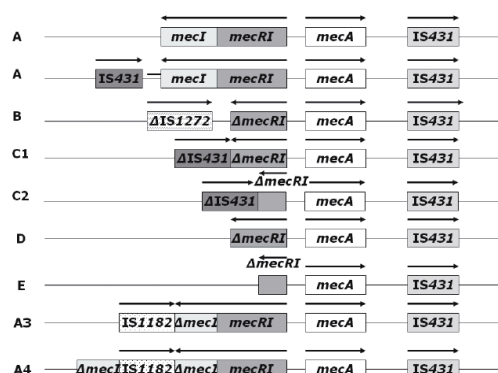


Figura 7- Variantes do complexo mec (adaptada Plata et al, 2009).

O complexo genético *ccr* é composto por genes recombinase, genes *ccr*, que estão envolvidos na integração/excisão precisa de SCCmec no cromossoma, e *orfs* (*open reading frames* ou fases de leitura aberta) nas proximidades. Atualmente, existem três genes *ccr* distintos, *ccrA*, *ccrB* e *ccrC*. Os genes *ccrA* e *ccrB* são classificados em quatro alótipos. Geralmente, genes *ccr* que apresentem mais de 85% de identidade nucleotídica são do mesmo alótipo, ao contrário de genes que apresentam diferentes alótipos tem identidade nucleotídica entre 60% e 82%. Todas as variantes de *ccrC* apresentam identidade nucleotídica acima de 87% e por isso, existe apenas um alótipo de *ccrC*. A combinação de alótipos *ccrA* e *ccrB* são divididas em oito complexos genéticos *ccr* (Figura 8) (IVG-SCC, 2009).

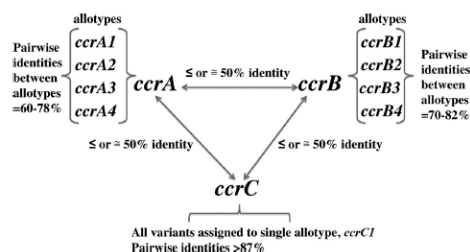


Figura 8- Representação dos genes *ccr* em *S. aureus* (adaptada IWG-SCC, 2009).

Os complexos genéticos *ccr* identificados em *S. aureus* são: tipo 1 (transportando *ccrA3B3*), tipo 2 (transportando *ccrA2B2*), tipo 3 (transportando o *ccrA3B3*), o tipo 4 (transportando o *ccrA4B4*) e o tipo 5 (transportando o *ccrC*) (Figura 9).

O complexo *ccr* e o complexo *mec* são os elementos-chave de *SCCmec* e responsáveis pela integração e excisão de *SCCmec* e pela resistência fenotípica dos β -lactâmicos, respectivamente.

Além dos complexos genéticos *mec* e *ccr*, o *SCCmec* contém três regiões, designadas regiões-J, que constituem os componentes não essenciais de *SCCmec*. A região J1 situa-se entre a junção direita do *SCCmec* e o complexo *ccr*, enquanto a região a partir do complexo *ccr* até complexo *mec* é denominada região J2. A região J3 expande-se a partir do complexo *mec* até junção esquerda do *SCCmec*. Assim a composição de um elemento *SCCmec* é: J3-mec-J2-ccr-J1 (IWG-SCC, 2009).

As regiões J podem conter elementos genéticos, como plasmídeos (pT181, pUB110 e pI258), transposões (Tn554) e/ou sequências de inserção (IS432, IS1271 e IS256) (Plata *et al*, 2009). Os plasmídeos e transposões integram genes adicionais de resistência, causando resistência a maioria das classes de antibióticos. A recombinação homóloga entre IS idênticas existentes no genoma e plasmídeos, resultam na integração de IS no genoma bacteriano, contribuindo também para a aquisição de fatores de resistência (Ferreira *et al*, 1998). Neste contexto, *SCCmec* é considerado um veículo para genes de resistência.

Os elementos de *SCCmec* são classificados em tipos e subtipos (Figura 9). Os tipos são baseados nas diferentes combinações das classes do complexo *mec* (A,B,C,D,E) e alótipos (1,2,3,4,5,6,7,8) do complexo *ccr*. Mais especificamente, variações nas regiões J no mesmo complexo *mec-ccr* definem os subtipos de *SCCmec* (IWG-SCC, 2009).

A classificação de *SCCmec* é considerada uma das ferramentas moleculares mais importantes para entender a epidemiologia e relação clonal de isolados de MRSA (Deurenberg *et al*, 2008).



Figure 10- Representação esquemática da integração e excisão de SCCmec (adaptada Wang *et al*, 2011).

4. MRSA ADQUIRIDO A NÍVEL HOSPITALAR (MRSA-HA) E NA COMUNIDADE (MRSA-CA)

Durante muito tempo, as infeções provocadas por MRSA eram limitadas a doentes hospitalizados (MRSA-HA), mas o mais recente surto epidémico de MRSA, começou no final dos anos 90 e é caracterizado pela emergência de MRSA associada à comunidade (MRSA-CA), com a capacidade de infetar adultos saudáveis (Otto *et al*, 2012).

Estirpes MRSA-CA e estirpes MRSA-HA causam diferentes síndromes clínicas e afetam diferentes populações. O MRSA-HA está associado a pneumonia, bacteriémia e outras infeções invasivas em doentes hospitalizados. Já o MRSA-CA manifesta-se em doenças da pele e tecidos moles, podendo ainda manifestar-se em infeções mais severas como pneumonia necrosante, piomiosites, osteomielite e fascite necrosante. Surto de MRSA-CA foram identificados em grupos populacionais diversos, como jogadores de futebol, militares e pessoas desfavorecidas, pelo que o contacto próximo e a fraca higiene serão catalisadores de infeções nestes grupos. Infeções MRSA-CA tornaram-se também comuns em crianças (Watkins *et al*, 2012).

Embora MRSA-HA e MRSA-CA possuam diferenças clínicas, ambas são transmitidas da mesma maneira: contacto direto ou contacto através de superfícies e materiais partilhados que foram usados por portadores assintomáticos ou por doentes infetados.

Atualmente, as estirpes MRSA-CA estão a surgir em hospitais sendo que a sua incidência que tem vindo a aumentar. Aponta-se como principal fonte de transmissão os membros do pessoal médico e paramédico e até doentes (Espadinha *et al*, 2013), sendo eles portadores assintomáticos.

Devido a este fato, a distinção entre MRSA-CA e MRSA-HA tornou-se pouco clara sob o ponto de vista epidemiológico e clínico (Watkins *et al*, 2012).

Esta problemática conduziu o CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) a definir infeção MRSA-CA como infeção MRSA diagnosticada em pacientes de ambulatório ou em

pacientes com máximo de 48h de hospitalização, sem fatores de risco MRSA-HA, como por exemplo: hemodiálise, cirurgia, presença de cateteres ou longa permanência ou internação em alguma unidade de saúde (*CDC-MRSA Infections*). Outros critérios utilizados para distinguir estirpes MRSA-HA e estirpes MRSA-CA abrangem diferenças em padrões de suscetibilidade antibiótica e o tipo de *SCCmec* que é transportado (Watkins *et al*, 2012).

MRSA-CA transporta um *SCCmec* menor que confere resistência apenas a antibióticos β -lactâmicos (*SCCmec* tipo IV). Em contraste, MRSA-HA frequentemente transporta o *SCCmec* tipo I, II e III e são geralmente multirresistentes (macrólidos, aminoglicosídeos, tetraciclina, mupirocina e cotrimoxazol e fluoroquinolonas) (Plata *et al*, 2009).

Tem sido proposto que *SCCmec* tipo IV possa se adaptar mais facilmente do que os tipos II e III de MRSA-HA e se replicar mais rápido, devido ao aumento de adaptação ecológica quando comparado ao MRSA com outros *SCCmec*. Além disso, o seu tamanho menor comparado com II e III pode servir como uma vantagem evolutiva, sendo mais fácil a transferência horizontal entre populações de bactérias (Watkins *et al*, 2012). Outra hipótese de aumento da emergência de estirpes MRSA-CA é a aquisição de *SCCmec* tipo IV em estirpes MSSA. Outros tipos de *SCCmec*, como V e VII, estão associados a MRSA-CA, o que reforça a necessidade de avaliar a prevalência local de MRSA conforme os tipos de *SCCmec* (Plata *et al*, 2009).

As estirpes de MRSA-CA não estão a ser substituídas por estirpes de MRSA-HA, mas a aumentar o problema de MRSA. Tem sido descrito que a virulência de MRSA-CA está relacionada com a aquisição de genes que codificam toxinas, como os genes *pvl*, por transferência horizontal, a sobreexpressão de genes que codificam toxinas como α -toxina e PSMs (*Phenol-Soluble Modulins*), ou ainda a aquisição de genes através de elementos genéticos móveis, como ACME (*Arginine Catabolic Mobile Element*) (Rasigade *et al*, 2013).

PVL (*Panton-Valentine Leucocidine*) é uma exotoxina transmitida por bacteriófagos e é codificada por 2 genes, *lukF-PV* e *lukS-PV*. PVL forma poros na membrana dos leucócitos, causando lise celular. Esta toxina parece ter um papel importante na adaptação, transmissão e virulência de MRSA-CA, mas o seu papel na patogênese de infecções causadas por MRSA-CA é controversa (Otto, 2012; Watkins *et al*, 2012). A α -toxina é uma toxina produzida por *S. aureus*, já descrita anteriormente, que lisa macrófagos, eritrócitos e linfócitos, promove o influxo de neutrófilos em pulmões infetados e a adesão de neutrófilos a células endoteliais, bem como outros efeitos pro-inflamatórios. A contribuição da α -toxina na virulência de MRSA-CA foi investigada num modelo experimental em ratinhos. Nesse modelo, a α -toxina teve um impacto significativo nos efeitos das infecções causadas por estirpes MRSA-CA, e por

isso, pensa-se que a α -toxina poderá ser um fator de virulência crítico para infecções MRSA-CA. PSMs é um grupo de peptídeos α -hélice com atividade citolítica, produzidos por muitas espécies de estafilococos. Em *S. aureus*, a maioria de PSMs, são codificados num operão *psmA* (PSM α 1, PSM α 2, PSM α 3). Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que estes PSMs têm uma forte capacidade para recrutar e provocar a lise em neutrófilos, eritrócitos e monócitos e interferem nos efeitos das infecções da pele e bacteriemia, enfatizando o papel importante deste grupo no desenvolvimento de doenças MRSA-CA (Otto, 2010). ACME (*Arginine catabolic mobile element*) é um elemento genético de 30,9 kb que é integrado num *orfX*. Tem sido descrito que ACME tem um papel no crescimento, patogénese e transmissão de MRSA-CA por conferir maior capacidade de colonizar a pele de pessoas saudáveis e por ser mais facilmente disseminado na comunidade. ACME contém os genes *arc* (*arcA*, *arcB*, *arcC* e *arcD*) e os genes *opp* (*opp-3A*, *opp-3B*, *opp-3C*, *opp-d* e *opp-3E*) (Watkins et al, 2012). Os genes *arc* estão envolvidos na ativação da enzima arginina deiminase ou dihidrolase, que esgota L-arginina, substrato da produção de óxido nítrico por macrófagos e outros leucócitos, e os genes *opp* são responsáveis pela captação de oligopeptídeos necessários para a nutrição, sinalização e virulência da bactéria.

Compreender melhor as funções destas toxinas em MRSA-CA, identificar os determinantes que têm mais impacto na virulência de MRSA-CA, a razão do aumento da transmissão de MRSA-CA e a contribuição das defesas do hospedeiro para o desenvolvimento de infecções graves de MRSA-CA, representam o principal objetivo da investigação de MRSA-CA (Otto, 2010).

A caracterização epidemiológica sobre as estirpes MRSA permite um conhecimento mais profundo sobre as rotas de disseminação e a evolução molecular de MRSA. Desde a deteção da primeira estirpe em 1959, têm emergido diferentes clones de MRSA. Isolados de *S. aureus* que tenham uma tipagem baseada em sequências nucleotídicas idêntica em 5 ou mais dos 7 genes conservados, definem um complexo clonal (CC). A maioria dos clones pertence aos CCs 5 (“New York/Japan” e o “paediatric”) ou 8 (“archaic”, “Iberian”, “Brazilian/Hungarian”). Outros clones predominantes pertencem aos CCs 22,30 e 45. Embora as infecções MRSA-CA estejam disseminadas em todo o mundo, os números mais alarmantes apenas são observados nos EUA, onde a maioria das infecções é causada pelo clone USA300 (ST8), pertencente ao CC8 (Figura 11) (Otto, 2012).

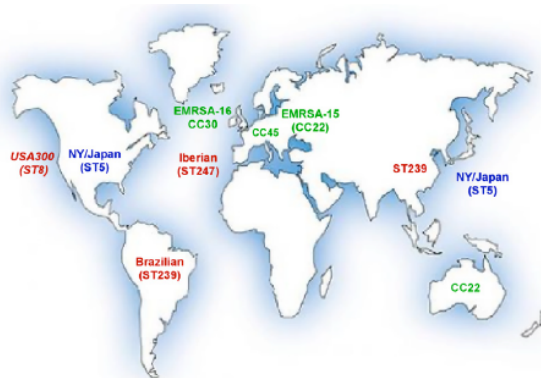


Figura 11 - Distribuição global de clones MRSA mais importantes (adaptada Otto, 2012).

4.1 TRATAMENTO

MRSA causa um espectro enorme de infecções a nível global e a maioria dos β -lactâmicos já não é eficaz contra estas infecções.

As infecções menos graves podem ser tratadas por antibióticos orais incluindo a clindamicina, tetraciclina de longa duração de ação (doxiciclina e minociclina), trimetoprim-sulfametoxazole e a rifampicina e ácido fusídico em associação (Chambers *et al*, 2011).

Para o tratamento de infecções mais graves de MRSA, incluindo pneumonia, bacteriemia e infecções da pele complicadas, a vancomicina é o antibiótico de 1ª escolha. No entanto, o fato de provocar nefrotoxicidade e a emergência de estirpes não suscetíveis limita a sua eficácia. Tais acontecimentos conduziram à introdução de novas moléculas no armamento terapêutico, nomeadamente linezolida (oxazolidinona), daptomicina, tigeciclina quinupristina+dalfopristina (estreptograminas), telavancina e ceftaroline. Apesar da variedade de opções terapêuticas, nunca foi tão difícil escolher uma terapia de eleição para infecções graves de *S. aureus*. Este aparente paradoxo conduz-nos ao fato que o valor de um antibiótico não se encontra na sua química, mas no conhecimento que suporta o seu uso. O uso destes antibióticos conduz a múltiplas considerações, como as respostas individuais dos doentes, a multiplicidade de efeitos secundários e o binómio custo/eficácia (Rivera *et al*, 2011; Perez *et al*, 2008). Não existem respostas simples a estas considerações e por isso espera-se que se continue a discutir estes novos antibióticos, aliando-os a estudos epidemiológicos e clínicos de *S. aureus*.

4.2 PREVENÇÃO E CONTROLO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconheceu a emergência e a propagação da resistência aos antibióticos como um problema grave a nível mundial, afetando tanto os países desenvolvidos como os países em desenvolvimento (*WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*). Nesse sentido, considera deverem ser empreendidos esforços para retardar o aparecimento e a propagação da resistência aos antibióticos, a incidir em diversos aspetos:

- Educação dos prescritores, dos profissionais de saúde e da população em geral;
- Prevenção da resistência pelo combate e prevenção da infeção;
- Regulamentação, designadamente na promoção dos antibióticos pela indústria farmacêutica;
- Vigilância da resistência;
- Investigação, nomeadamente o estudo dos mecanismos de resistência e da sua disseminação, e obtenção de novos agentes atuando sobre novos alvos (*Portal do INSA*).

Os fatores que conduzem ao uso excessivo de antibióticos são diversos, entre os quais se salienta a incerteza de diagnóstico, a prescrição desnecessária ou inadequada resultante da pressão exercida sobre os médicos, por parte dos doentes ou seus familiares; as consultas sobrecarregadas que dificultam a precisão do diagnóstico e da terapêutica, o que propicia a chamada “medicina defensiva” em que o médico tende a recorrerem mais facilmente aos antibióticos (*Portal do INFARMED*).

A formação dos profissionais de saúde, no atual contexto epidemiológico, demográfico e social, tem de os capacitar de conhecimentos técnico-científicos e de competências nomeadamente: saber ouvir, observar, compreender a realidade e aceder a informação que permita efetuar diagnósticos atempados para uma eficaz intervenção (Loureiro et al, 2010).

A automedicação, que é uma prática frequente nas comunidades e contribui significativamente para o uso excessivo de antibacterianos. As diferenças culturais, atitudes, crenças e conhecimentos sobre os antibióticos da população são determinantes na prática da automedicação. Por exemplo, uma boa parte da população desconhece que os antibióticos apenas atuam nas bactérias, sendo ineficazes em patologias virais. Por isso, tomam antibióticos que têm em casa ou que “vizinhos” e amigos tomam (*Portal do INFARMED*).

A necessidade de intervenções de promoção da saúde e prevenção da doença é particularmente importante. O processo de prevenção e controlo das infeções passa por

umentar o nível de literacia das pessoas, criar ambientes que tornem acessíveis as decisões mais favoráveis e criar mecanismos de participação de aumento de liberdade de escolha dos cidadãos. Assim, é possível que se estabeleça uma verdadeira co-responsabilidade no processo de promoção e proteção da saúde (Loureiro *et al*, 2010).

De acordo com Ramos, a informação e o conhecimento constituem o paradigma do séc. XXI, exigindo “novas competências para saber filtrar e transformar em conhecimento útil e este em sabedoria profissional que ajuda a trazer sentido e eficácia à experiência de luta contra a doença” (Loureiro *et al*, 2010).

Para a promoção do uso de antibióticos torna-se necessário perceber padrões de utilização destes medicamentos, através de estudos de consumo e estudos de prescrição, especialmente nos cuidados primários, com o objetivo de promover a adequação da sua prescrição e utilização (Portal do INFARMED).

Em relação à vigilância da resistência aos antibióticos, especialmente em *S. aureus*, existe uma diversidade de projetos e entidades a trabalhar com esta estirpe. O Sistema Europeu de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos (EARSS) é uma iniciativa internacional fundada pelo Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Patologia (ECDC) da União Europeia. Tem como objetivo o levantamento epidemiológico da resistência aos antibióticos, a nível nacional e europeu. A nível nacional o objetivo não é apenas recolher dados sobre a resistência aos antibióticos nos países participantes, mas também o acompanhamento das novas tendências da resistência aos antibióticos. Em Portugal, o projeto foi iniciado em 1999 e a sua coordenação está a cargo do Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge, em Lisboa, através do Laboratório Nacional de Referência das Resistências aos Antimicrobianos (LNR-RA), do Departamento de Doenças Infeciosas. No site dos projeto (www.earss.rivm.nl) estão disponíveis os relatórios anuais sobre o estado de resistência a antibióticos bem como toda a informação atualizada sobre a prevalência de MRSA.

A incidência de MRSA em Portugal tem vindo a aumentar desde 1999 de uma forma constante (EARSS, 2011), registando mais de 50% de isolados MRSA. Entre 2008 e 2011, a incidência de MRSA em hospitais nacionais variou entre 0% e 67,7% (EARSS, 2011).

Atualmente, muitos países industrializados reportam 25-50% de infeções de *S. aureus* em isolados hospitalares. A Holanda e os países escandinavos são exceção, evidenciando < 1% e 1% a < 5%, respetivamente, por serem países com políticas rígidas de segurança e de prescrição antibiótica. De facto, um estudo Japonês recente indica que o aumento do consumo de antibióticos leva a um aumento de MRSA (Otto, 2012).

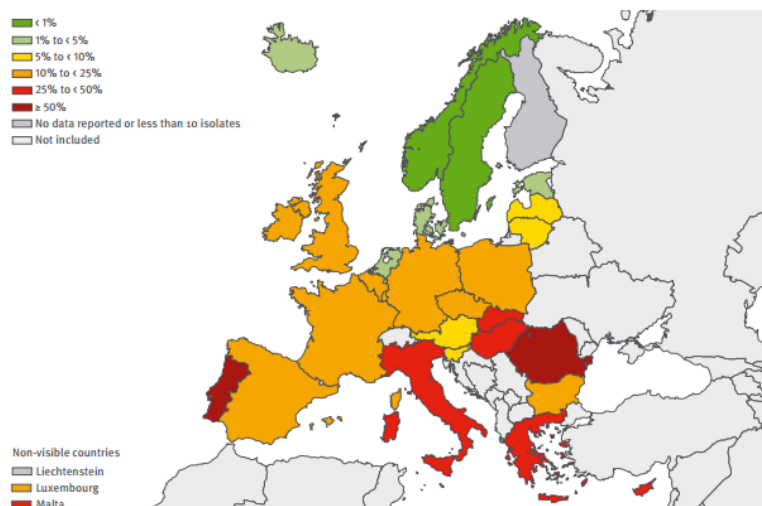


Figura 12- Proporção de isolados invasivos de MRSA em países da UE-EEE entre 2008-2011 (adaptada EARSS 2011).

Na verdade, o consumo inadequado de antibacterianos tem custos sociais e consequências graves para a saúde nomeadamente a menor resposta dos tratamentos, o prolongamento das doenças, o crescimento do número de hospitalizações e o maior risco de complicações e de mortalidade (*Portal do INFARMED*).

Com o intuito de desenvolver novos agentes com alvos terapêuticos diferentes dos antibióticos têm surgido esforços vocacionados para o desenvolvimento de:

- Nanomateriais para prevenir a formação de biofilmes; ao diminuir o tamanho das partículas até à escala nanométrica, a área de superfície aumenta, o que melhora a atividade antibacteriana do material;

- Agentes que atuem diretamente contra os mecanismos de virulência de MRSA (como ex: PBP2a). Estes agentes terão vantagens em relação aos antibióticos, porque, em primeiro, não haverá pressão seletiva exercida noutra bactéria comensal não patogénica; em segundo, a toxicidade associada aos antibióticos (reações alérgicas, nefrotoxicidade) será diminuta/evitada, e por último, o uso limitado de antibióticos poderá diminuir o desenvolvimento de resistências bacterianas;

- Vacinas antiestafilocócicas (tendo como principais alvos os antígenos capsulares, a toxina PVL e o peptidoglicano) (Watkins *et al*, 2012).

Embora estes estudos sejam promissores, ainda há muito para investigar. Durante as últimas duas décadas, o rápido desenvolvimento de resistências desencorajou as indústrias farmacêuticas a manterem programas de investigação nesta área e por isso, apenas algumas têm medido esforços neste sentido (Zervosen *et al*, 2012).

CONCLUSÃO

Embora seja estimado que 20-30% da população em geral seja portadora de *S. aureus*, esta bactéria pode ser responsável por doenças relativamente frequentes e severas. Particularmente estirpes MRSA podem ser perigosas pelo fato de provocarem resistência a antibióticos usados comumente na prática clínica e pela sua forte e rápida disseminação a nível mundial. Por esta razão, MRSA é uma prioridade ao nível da saúde pública.

Apesar da sofisticação no desenvolvimento de tecnologias de vanguarda, a complexidade do tratamento e da prevenção de infecções causadas por *S. aureus* relaciona-se, muitas vezes, com a facilidade com que disseminam e com a dificuldade em habilitar profissionais e cidadãos a lidar com os novos desafios. Um melhor conhecimento/compreensão sobre mecanismos genéticos e bioquímicos da patogenicidade de *S. aureus* poderá contribuir para melhorar estratégias de prevenção e tratamento.

Como *Richard J. Roberts* (Prêmio Nobel de Fisiologia/Medicina em 1993) afirmou, “a saúde não pode ser um mercado, nem pode ser vista apenas como um meio para ganhar dinheiro”. Referia-se ao fato de as indústrias farmacêuticas não estarem disponíveis para investigar novos antibióticos, por ser pouco rentável. Não há tempo a perder e a sociedade científica bem com os governos deveriam pressionar as indústrias farmacêuticas a investir mais em investigação genética microbiana e no desenvolvimento de novos antibióticos ou outros agentes.

O uso excessivo de antibacterianos, o crescimento da resistência antimicrobiana e a redução do investimento no desenvolvimento de novos antibacterianos evidenciam a imposição de melhorar a consciencialização e repensar respostas existentes para que não entremos numa nova era “pré-antibiótica”.

BIBLIOGRAFIA

- ARCHER, Gordon L. “*Staphylococcus aureus: A Well-Armed Pathogen*”, *Clinical Infections Diseases* vol.26 (1998) 1179-81;
- bioMérieux Clinical Diagnostics Website – Questions&Answers On: Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria and Fungi. [Acedido a 13 de Agosto de 2013]. Disponível em www.biomerieux-diagnostics.com;
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) – MRSA Infections. [Acedido a 20 de Agosto de 2013]. Disponível em www.cdc.gov/MRSA;
- CHAMBERS, Henry F.; DELEO, Frank R. “Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era” *Nat Rev Microbiol.* vol. 7(9) (2009) 629-641;
- DEURENBERG, Ruud H.; STOBBERINGH, Ellen E. “The evolution of *Staphylococcus aureus*” *Infection, Genetics and Evolution*, vol.8 (2008) 747-763;
- EARSS – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net 2011). [Acedido a 5 de Agosto de 2013]. Disponível em www.ecdc.europa.eu;
- ESPADINHA, D. et al “Extensive Dissemination of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) between the Hospital and Community in a Country with a High Prevalence of Nosocomial MRSA” *PLo ONE* 8 vol.4 (2013);
- GORDON, Rachel J.; LOWY, Franklin D. “Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection” *CID* vol.46 suppl 5 (2008);
- International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) “Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec): Guidelines for Reporting Novel SCCmec Elements_†” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Vol. 53, No. 12 (2009), 4961–4967;
- LOUREIRO, I.; MIRANDA, N., “Promover a saúde- Dos fundamentos à ação” Edições Almedina, SA, Novembro de 2010;
- LOWY, Franklin D. “Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*”, *The Journal of Clinical Investigation* vol.111 No.9 (2003) 1265-1273;
- MURRAY, Patrick R.; ROSENTHL, Ken S.; KOBAYASHI, George S.; PFALLER, Michael A., “*Medical Microbiology*”, Mosby Fourth Edition chapt 22, 2002;
- OTTO, Michael. “MRSA virulence and spread”, *Cellular Microbiology*, vol.14 (2012) 1513-1521;

- OTTO, Michael. “Basis of Virulence in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*”, *Annu.Rev.Microbiol.*, vol.64 (2010) 143-162;
- Portal do INFARMED – Estudos realizados no âmbito de Protocolos de Colaboração com outras Entidades: “Evolução do consumo de antibióticos em Portugal Continental (2000-2007)” Fevereiro 2010. [Acedido a 7 de Agosto de 2013]. Disponível em www.infarmed.pt;
- Portal do INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge – Resistência aos antimicrobianos. [Acedido a 24 de Julho de 2013]. Disponível em www.insa.pt;
- PLATA, Konrad et al. “*Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity”, *Acta Biochimica Polonica*, vol. 56 No.4/2009 597-612;
- PEREZ, F. et al “Current and novel antibiotics against resistant Gram-positive bacteria”, *Infection and Drug Resistance* vol.1 (2008) 27-44;
- RASIGADE, J.P.; VANDENESCH, F. “*Staphylococcus aureus*: A pathogen with still unresolved issues”, *Infection, Genetics and Evolution* (2013);
- RIVERA, Ana.M; BOUCHER, Helen W. “Current Concepts in Antimicrobial Therapy Against Select Gram-Positive Organisms: Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Penicillin-Resistant *Pneumococci*, and Vancomycin-Resistant *Enterococci*”, *Mayo Clinic Proceedings*, vol.86 No.12 (2011);
- SOUSA, João C., “Manual de Antibióticos Antibacterianos”, edições Universidade Fernando Pessoa, 2ªEd 2006;
- WANDA, Fernanda C. F.; SOUSA, João C. F.; “Microbiologia”, Lidel edições técnicas (vol. 1 e 2) Setembro, 1998;
- WANG, Lei et al “Characterization of DNA Sequences Required for the CcrAB-Mediated Integration of *Staphylococcal* Cassette Chromosome *mec*, a *Staphylococcus aureus* Genomic Island” *Journal of Bacteriology*, vol. 194 No. 2 (2012), 486–498;
- WATKINS, Richard R. et al. “Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”, *Journal of Medical Microbiology*, vol.61 (2012) 1179 – 1193.
- ZERVOSEN, A. et al “Development of New Drugs for an Old Target- The Penicillin Bindind Proteins”, *Molecules* vol.17 (2012) 12478 – 12505.