

Diana do Carmo Alves Martins Mendes

**Evolução da resistência aos antibióticos  
 $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus***

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Evolução da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus*

Evolução da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus*

Diana do Carmo Alves Martins Mendes

# **Evolução da resistência aos antibióticos $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus***

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Evolução da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus*

Diana do Carmo Alves Martins Mendes

# **Evolução da resistência aos antibióticos $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus***

Monografia apresentada à Universidade Fernando

Pessoa como parte dos requisitos para obtenção

do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

---

(Diana do Carmo Alves Martins Mendes)

Porto, 2013

## RESUMO

*S. aureus* é responsável por infecções graves adquiridas na comunidade e no hospital no Homem, devido à sua virulência. O tratamento destas infecções com penicilinas foi eficaz até surgir resistência a através da hiperprodução de  $\beta$ -lactamases, o que levou ao uso de oxazolilpenicilinas. Contudo, estirpes tornam-se resistentes a esta nova classe (MRSA), pela aquisição do gene *mecA*, que codifica a formação de um quinto PBP (PBP<sub>2a</sub>), com afinidade reduzida para os referidos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. A perda de eficácia destes antibióticos conduziu à utilização terapêutica da vancomicina. O número crescente de quadros infecciosos provocados por MRSA e o surgimento de estirpes VRSA suscitou o recurso a novos antibióticos com mecanismos de acção distintos e eficácia clínica e microbiológica comprovadas: linezolide, tigeciclina, daptomicina, novos glicopéptidos, cefalosporinas de 5<sup>a</sup> geração e iclaprim.

## ABSTRACT

*S. aureus* is responsible for severe infections acquired in the community and in hospital in humans due to its virulence. Treatment of these infections with penicillin was effective resistance to arise through overproduction of  $\beta$ -lactamases, which led to the use of oxazolilpenicilinas. However, strains become resistant to this new class (MRSA), the acquisition of the *mecA* gene, which encodes the formation of a fifth PBP (PBP<sub>2a</sub>) with reduced affinity for said  $\beta$ -lactam antibiotics. The loss of efficacy of these antibiotics has led to therapeutic use of vancomycin. The growing number of infections caused by MRSA and the emerging VRSA strains raised the use of new antibiotics with distinct mechanisms of action and proven clinical and microbiological efficacy: linezolid, tigecycline, daptomycin, new glycopeptides, 5th generation cephalosporins and iclaprim.

Evolução da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus*

Ao meu Pai,

## **AGRADECIMENTOS**

A realização deste trabalho não teria sido possível sem a contribuição fundamental da família, namorado, amigos e colegas de trabalho.

Agradeço ao Fernando, à minha mãe, ao Renato e amigos, toda a paciência e atenção demonstradas durante os últimos meses.

Os meus agradecimentos ao meu orientador, Professor João Carlos de Sousa, pelo acompanhamento e incentivo prestados no decorrer de todo o processo.

Aos meus colegas de trabalho, pela disponibilidade e fornecimento de bibliografia essencial.

## ÍNDICE DE CONTEÚDO

I-	INTRODUÇÃO .....	1
II-	ANTIBIÓTICOS $\beta$ -LACTÂMICOS .....	5
A.	Química dos antibióticos $\beta$ -lactâmicos .....	7
B.	Mecanismo de acção .....	8
III-	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTE À METICILINA (MRSA).....	12
IV-	ANTIBIÓTICOS GLICOPÉPTIDOS CONTRA MRSA .....	20
V-	<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTENTE À VANCOMICINA (VRSA)...	25
VI-	NOVAS ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS AOS GLICOPÉPTIDOS CONVENCIONAIS .....	27
A.	Linezolid .....	28
B.	Tigeciclina .....	31
C.	Daptomicina.....	33
D.	Novos glicopéptidos .....	37
E.	Cefalosporinas de largo espectro .....	42
F.	Iclaprim.....	46
VII-	CONCLUSÕES .....	49
VIII-	BIBLIOGRAFIA .....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Fatores de virulência em <i>Staphylococcus aureus</i> (Gordon e Lowy 2008). ....	2
Figura 2 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> na presença de <i>Penicillium notatum</i> (cedida por Professor Doutor João Carlos de Sousa). ....	5
Figura 3 - Estrutura química da penicilina G (Sousa 2006). ....	5
Figura 4 - Estrutura química da meticilina (Sousa 2006). ....	6
Figura 5 - Estrutura química dos principais grupos de $\beta$ -lactâmicos (cedida pelo Professor Doutor João Carlos de Sousa). ....	7
Figura 6 - Biossíntese do peptidoglicano (cedida por Professor Doutor João Carlos de Sousa). ....	9
Figura 7 - Estrutura química do peptidoglicano e locais onde atuam os PBPs em <i>Staphylococcus aureus</i> (cedida pelo Professor João Carlos de Sousa). ....	9
Figura 8 - Interação $\beta$ -lactâmico/transpeptidase (ENZ), formando-se um composto inativo peniciloilenzima (Sousa 2006). ....	10
Figura 9 - Disseminação global de CA-MRSA (Skov, Christiansen et al. 2012). ....	14
Figura 10 - Ação do gene <i>mecA</i> (Sousa 2006). ....	18
Figura 11 - Estruturas dos quatro tipos de SCC <i>mec</i> , de acordo as sequências nucleotídicas (Ito, Okuma et al. 2003). ....	19
Figura 12 - Estrutura química da vancomicina e teicoplanina (Van Bambeke 2004). ....	20
Figura 13 - Ação da vancomicina e teicoplanina. O antibiótico liga-se aos resíduos de D-alanil-D-alanina do monómero de murina. O monómero ligado ao antibiótico não é substrato da enzima TG (Hiramatsu 2001). ....	21
Figura 14 - Estruturas químicas de oxazolidinonas (Takhi, Singh et al. 2008). ....	28
Figura 15 - Estrutura química da tigeciclina. A seta indica a adição de uma cadeia lateral de 9-t-butilglicilamido à posição 9, no anel D (Pankey 2005). ....	31
Figura 16 - Estrutura química da daptomicina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). ....	33
Figura 17 - Mecanismo de acção da daptomicina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). ....	34

Figura 18 - Relação estrutura-atividade dos glicopéptidos e o impacto na actividade e farmacocinética das modificações introduzidas na teicoplanina (TEC), oritavancina (ORI), telavancina (TEL) e dalbavancina (DAL) (Van Bambeke 2004). .....	37
Figura 19 - Mecanismo de ação múltiplo da telavancina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). .....	38
Figura 20 - Mecanismo de ação múltiplo da oritavancina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). .....	39
Figura 21 - Estruturas químicas dos antibióticos $\beta$ -lactâmicos ativos contra MRSA. Os grupos químicos que sofrem clivagem durante a activação dos profármacos ceftobiprole medocaril e ceftarolina fosamil encontram-se destacados a cinzento (Llarrull, Fisher et al. 2009). .....	43
Figura 22 - Estrutura química do iclaprim (Kohlhoff e Sharma 2007). .....	46

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores de virulência em <i>Staphylococcus aureus</i> segundo a sua natureza (Ferreira e Sousa 2000).....	3
Tabela 2 - Características de CA-MRSA e CA-MRSA (Adaptado de Davis, Perri et al. 2007; Chavez e Decker 2008). .....	15
Tabela 3 - Tipos de SCCmec (Sousa 2006) adaptado de tabela cedida pelo Professor Doutor João Carlos de Sousa). .....	18
Tabela 4 - Parâmetros farmacocinéticos dos novos glicopéptidos (Van Bambeke 2004) .....	40

## I- INTRODUÇÃO

Os estafilococos fazem parte da flora indígena da pele e mucosa nasal do Homem, vivendo numa relação íntima de comensalismo ou mutualismo com o hospedeiro (Ferreira e Sousa 2000). Evidências fósseis revelam que este género bacteriano existe há mais de mil milhões de anos na Terra, mas foi apenas no século XIX que foram identificados agentes patogénicos (Moellering 2011).

*Staphylococcus aureus* (SA) são cocos Gram positivo, com cerca de 1  $\mu$ m, imóveis, capsulados e não esporulados e dispõem-se em cachos, sugerindo capacidade de crescimento em vários planos. São microrganismos anaeróbios facultativos, nutricionalmente pouco exigentes (tolerantes a um elevado teor de cloreto de sódio), e em meio de gelose de sangue formam colónias, cuja coloração varia de branco a amarelo dourado ou alaranjado (daí o termo latino *aureus*) (Ferreira e Sousa 2000; Brown, Edward et al. 2005).

Dentro das espécies estafilocócicas patogénicas para o Homem, SA é a única capaz de produzir uma enzima denominada coagulase. Com efeito, a prova da produção de coagulase constitui um dos testes mais simples e específicos utilizados por laboratórios de bacteriologia médica para identificar esta espécie (Ferreira e Sousa 2000).

A prova da coagulase em tubo de ensaio pressupõe a aglutinação de plasma de coelho na presença desta enzima livre passadas 4 a 24 horas de incubação; no teste da coagulase em lâmina (mais rápido, embora com margem de erro maior) a aglutinação exige apenas fibrinogénio, uma vez que a coagulase neste caso encontra-se na parede celular bacteriana (fator de coagulação) (Brown, Edwards et al. 2005).

Por isso, como testes de rotina, recorrem-se a testes de aglutinação do látex, que são mais rápidos e amplamente usados (formulações mais recentes detetam fator de coagulação, antígenos de superfície). Testes com base na desoxirribonuclease (Dnase) e/ou nuclease termolábil também podem ser utilizados (Brown, Edwards et al. 2005).

O recurso a métodos bioquímicos semiautomáticos (API STAPH-IDENT, ID 32 STAPH, da BioMerieux) também se verifica, embora sejam mais dispendiosos que os referidos anteriormente (Ferreira e Sousa 2000; Brown, Edward et al. 2005).

Atualmente, estão disponíveis métodos de biologia molecular, baseados em PCR (*Polymerase chain reaction*), em que sondas de ácido desoxirribonucleico (DNA) são desenhadas para ampliar alvos específicos de SA. Porém, estes métodos moleculares são usados com o intuito de confirmação de resultados inconclusivos obtidos nos testes de rotina. (Brown, Edwards et al. 2005).

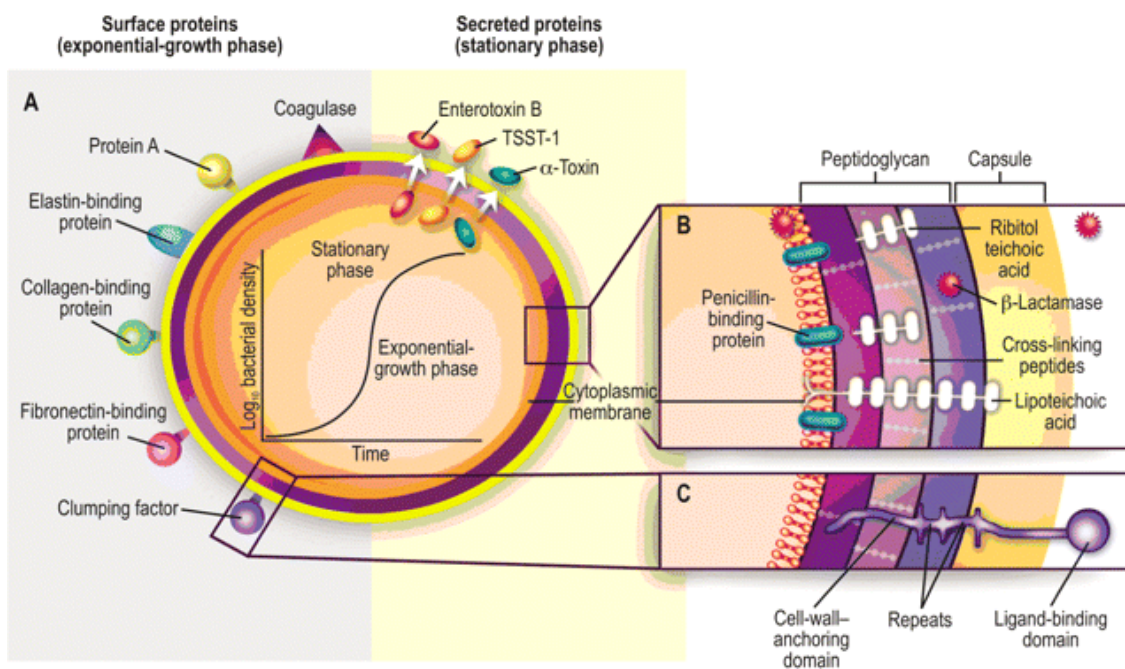


Figura 1 - Fatores de virulência em *Staphylococcus aureus* (Gordon e Lowy 2008).

Clinicamente, *S. aureus* corresponde a uma das poucas espécies estafilocócicas com patogenicidade indiscutível para o Homem, sendo responsável por infeções graves, graças à sua virulência e mecanismos de comunicação intracelular bacteriana (Ferreira e Sousa 2000; Moellering 2011). Na figura 1 e na tabela 1, são indicados os principais fatores de virulência de SA.

Tabela 1 - Fatores de virulência em *Staphylococcus aureus* segundo a sua natureza (Ferreira e Sousa 2000).

Natureza tóxica	Natureza enzimática	Outros
Hemolisina $\alpha$		
Hemolisina $\beta$		
Hemolisina $\gamma$	Coagulase	
Hemolisina $\delta$	Hialuronidase	Cápsula
Leucocidina	Fibrinolisina	Parede celular
Exfoliatina A	Lipases	Antigénio p13
Exfoliatina B	Catálase	Antigénio p17
Enterotoxinas (A-E, G e H)	Dnase	
TSST-1 ( <i>Toxic Shock Syndrome Toxin-1</i> )		

A origem da infecção é habitualmente endógena, ou seja SA pode invadir e lesar tecidos a partir de uma ferida superficial na mucosa nasal ou na pele. Por outro lado, transmite-se homem a homem direta ou indiretamente (através de objectos contaminados) ou ainda por via aérea (Ferreira e Sousa 2000).

Furúnculo, impetigo, celulite, abscessos ou queimaduras e feridas (cirúrgicas ou traumáticas) infetadas são as patologias mais observadas a nível da pele e tecidos moles, provocadas por este agente etiológico.

A partir destas infeções pode ocorrer disseminação, levando a bacteriemias com elevado risco de mortalidade e complicações graves localizadas como endocardite, osteomielite, artrite, pneumonia, pielonefrite ou meningite (Ferreira e Sousa 2000; Bamberger 2008; Nguyen e Graber 2010). No que respeita a doenças provocadas por toxinas esfilocócicas, as mais frequentes são a intoxicação alimentar, síndrome da pele escaldada e, por último síndrome do choque tóxico (Ferreira e Sousa 2000).

Em termos epidemiológicos, distinguem-se as infeções por SA adquiridas na comunidade ou no hospital (Ferreira e Sousa 2000).

Apesar dos esforços médicos verificados no sentido de combater SA, a sua capacidade notável de adquirir resistências a múltiplos antibacterianos explica a disseminação desta bactéria nos 50 anos após a sua primeira identificação (Moellering 2011).

Tal facto corresponde à minha motivação principal para elaborar este trabalho, sob o tema da evolução da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus*. Dado o facto de exercer funções como Técnica de Farmácia a nível hospitalar, deparei-me com quadros clínicos causados por estirpes resistentes à meticilina (MRSA), sendo limitadas as opções terapêuticas. O tratamento destas infeções e outras causadas por VRSA (*Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus*) que não respondem à antibioterapia convencional com glicopéptidos, constitui um desafio.

Assim, o objetivo do trabalho consiste na abordagem detalhada dos mecanismos de resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, assim como dos novos agentes antimicrobianos (linezolid, tigeciclina, daptomicina, novos glicopéptidos, cefalosporinas de 5ª geração e iclaprim) desenvolvidos para debelar a infeção por MRSA ou VRSA. O primeiro caso de VRSA na Europa foi detetado este ano, no Centro Hospitalar Lisboa Norte.

Este trabalho é um artigo de revisão, sendo a pesquisa bibliográfica compreendida entre o ano 1995 e 2013.

Constatou-se que a resistência crescente aos  $\beta$ -lactâmicos (antiparietais) exibida por estirpes MRSA tem por base a produção de um PBP2a refratário aos  $\beta$ -lactâmicos,, codificado pelo gene *mecA*. Os novos antibióticos desenvolvidos, com diferentes mecanismos de ação, apresentam eficácia contra infeções por MRSA e VRSA, constituindo alternativas na terapêutica destas doenças infecciosas.

## II- ANTIBIÓTICOS $\beta$ -LACTÂMICOS

Em 1928, Alexandre Fleming descobriu a penicilina quando constatou que as colônias de SA se encontravam lisadas na presença do fungo *Penicillium notatum* (Fig. 2) (Sousa 2006; Moellering 2011). Assim se descobriu que um fungo contaminante produzia uma substância natural capaz de impedir o crescimento bacteriano ou causar morte celular: o primeiro antibiótico denominado penicilina G (Fig. 3) (Sousa 2006)

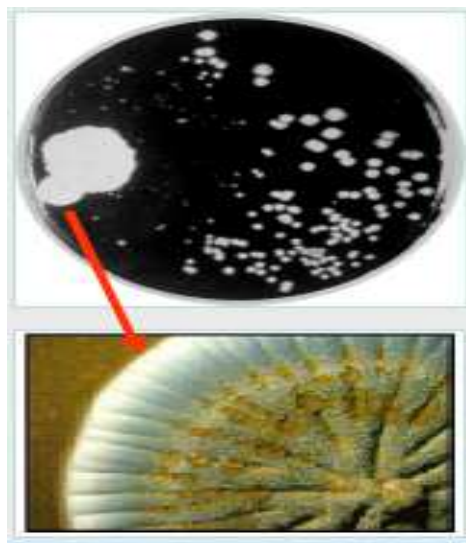


Figura 2 - Inibição de *Staphylococcus aureus* na presença de *Penicillium notatum* (cedida por Professor Doutor João Carlos de Sousa).

A partir daí, foi possível o tratamento de infecções causadas por SA (adquiridas no hospital e na comunidade) (Ferreira e Sousa 2000; Moellering 2011)

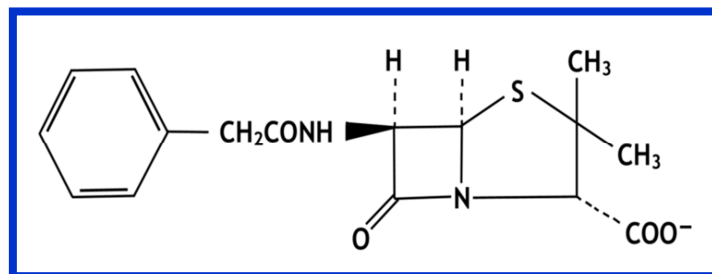


Figura 3 - Estrutura química da penicilina G (Sousa 2006).

Contudo, a aquisição de genes que codificam  $\beta$ -lactamases (hidrolisam as penicilinas, designadas por penicilinas) contribuiu para o desenvolvimento de resistência de SA à penicilina (Ferreira e Sousa 2000; Moellering 2011). A  $\beta$ -lactamase predominante é do tipo A e engloba as serino- $\beta$ -lactamases (apresentam serina no centro ativo), sendo a sua produção codificada por genes presentes em plasmídeos ou transposões. Estes genes são facilmente transferidos entre estafilococos (Fluit A.D.C. 2001; Sousa 2006).

Em Portugal e em outros países, verifica-se que SA é resistente à penicilina G em cerca de 95% das infeções adquiridas no hospital e na comunidade (Ferreira e Sousa 2000). Tal facto conduziu à pesquisa de novos antibacterianos resistentes à acção das referidas enzimas, surgindo a classe das isoxazolilpenicilinas (Sousa 2006). Esta classe de penicilinas semissintéticas apresenta grande interesse terapêutico atual, pois mostra-se eficaz no tratamento de infeções provocadas por MSSA e pouco tóxica para o Homem (Ferreira e Sousa 2000; Sousa 2006).

A primeira molécula a ser utilizada em 1959 e, por isso representativa deste grupo, foi a meticilina (**Fig.4**), seguida de outras como oxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina e nafcilina (Moellering 2011). Embora não esteja no armamentário terapêutico, dada a sua nefrotoxicidade, a meticilina é usada laboratorialmente para assinalar as penicilinas resistentes às  $\beta$ -lactamases de SA (Ferreira e Sousa 2000).

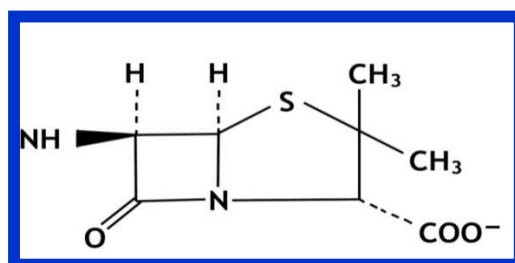


Figura 4 - Estrutura química da meticilina (Sousa 2006).

## A. Química dos antibióticos $\beta$ -lactâmicos

Os  $\beta$ -lactâmicos são um grupo de substâncias quimicamente heterogêneas, com efeitos e manuseio terapêuticos distintos e nele inserem-se: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos e monobactamos (Fig. 5) (Mutschler e Derendorf 1995; Sousa 2006). Contudo, todos exibem um anel  $\beta$ -lactâmico constituído por três átomos de carbono e um de azoto com radicais substituintes (Sousa 2006).

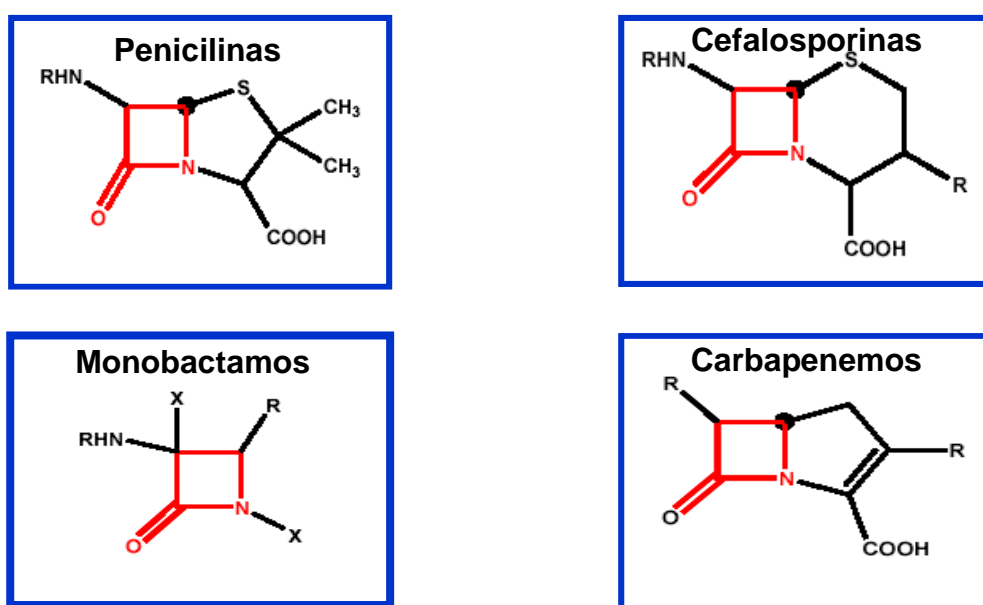


Figura 5 - Estrutura química dos principais grupos de  $\beta$ -lactâmicos (cedida pelo Professor Doutor João Carlos de Sousa).

No caso das penicilinas, este anel funde-se com um anel tiazolidina ou com um anel dihidrotiazina nas cefalosporinas. Relativamente à diversidade de radicais (R nas penicilinas e R1 e R2 nas cefalosporinas), esta define o espectro antibacteriano, resistência ou não ao suco gástrico e ainda a farmacocinética. Assim se conclui que as cefalosporinas apresentam maior facilidade na alteração de características farmacocinéticas do antibiótico graças à possibilidade de modificação de dois radicais e não apenas um (penicilinas) (Sousa 2006). Verifica-se ainda que alterações no grupo carboxílico inserindo radicais orgânicos ou metais possibilita a formação de sais, aumentando a solubilidade destes antibióticos na água (Mutschler e Derendorf 1995; Sousa 2006)..

Quimicamente, os monobactams possuem um grupo 2-oxoazetidina-1-sulfónico e, com a introdução de radicais químicos semelhantes aos presentes nos  $\beta$ -lactâmicos clássicos, apresentam grande atividade antibacteriana (Sousa 2006).

Por outro lado, os carbapenems exibem um carbono e uma ligação dupla em vez de um átomo de enxofre no anel acoplado ao anel  $\beta$ -lactâmico (Sousa 2006).

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos de maior interesse terapêutico para infeções por estirpes MSSA, produtoras de  $\beta$ -lactamases, são as isoxazolilpenicilinas (flucloxacilina) e os  $\beta$ -lactâmicos associados a inibidores das  $\beta$ -lactamases (exemplo: amoxicilina + ácido clavulânico) também mostrou ser eficaz (Ferreira e Sousa 2000; Sousa 2006).

## **B. Mecanismo de acção**

Os  $\beta$ -lactâmicos são antibióticos bactericidas, inibindo a síntese de mucopeptídeo ou peptidoglicano, na fase parietal (Fig.6). Só exercem efeito contra bactérias em crescimento ativo (Mutschler and Derendorf 1995; Sousa 2006).

A parede celular (PC) de SA é 50-70% constituída por mucopeptídeo (Fig.7) e dada a sua estrutura química, suporta a elevada pressão osmótica interna, tornando possível o crescimento bacteriano em ambientes hipotónicos (Ferreira and Sousa 2000).

Esta macromolécula é constituída por cadeias lineares de NAG (N-acetilglucosamina) e NAMA (ácido N-acetilmurâmico), dispostas alternadamente e unidas por ligações glicosídicas  $\beta$  1-4 (Fig.7). Em SA, ao NAMA estão ligados quatro aminoácidos L-alanina, D-glutâmico, L-lisina e D-alanina. Uma cadeia penta-glicínica faz a ligação peptídica entre a L-lisina e a D-alanina da cadeia vizinha (Fig.7) (Mutschler e Derendorf 1995; Llarrull, Fisher et al. 2009).

Evolução da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *Staphylococcus aureus*

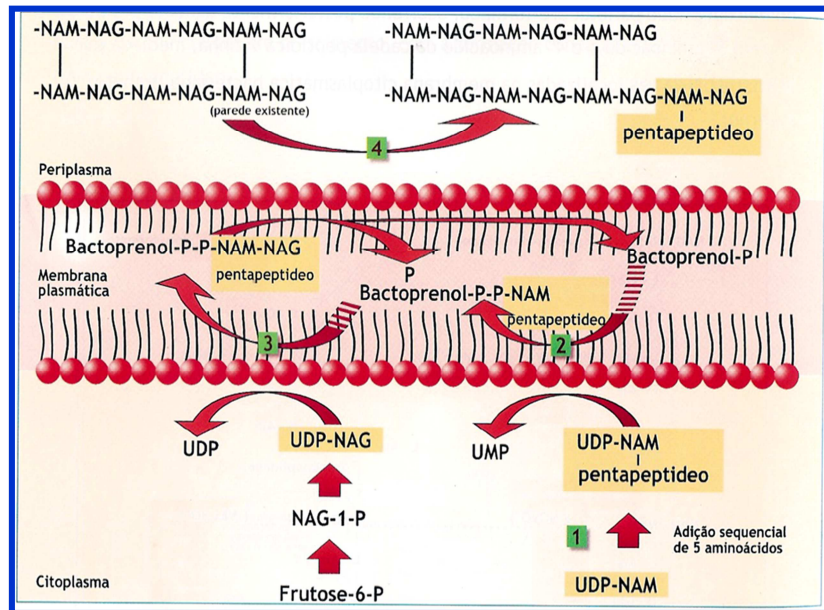


Figura 6 - Biossíntese do peptidoglicano (cedida por Professor Doutor João Carlos de Sousa).

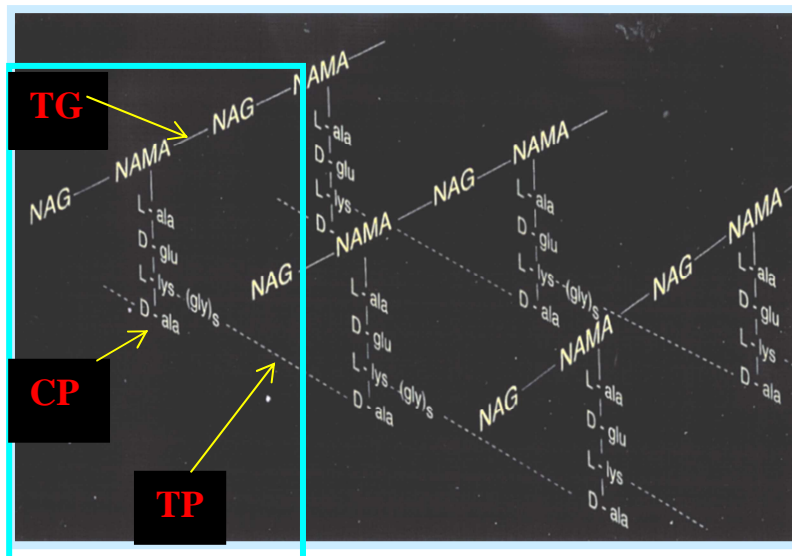


Figura 7 - Estrutura química do peptidoglicano e locais onde atuam os PBP's em *Staphylococcus aureus* (cedida pelo Professor João Carlos de Sousa).

As enzimas que promovem as ligações glicosídicas e peptídicas na biossíntese do peptidoglicano designam-se por transglicolases (TG) e transpeptidases (TP). As

carboxipeptidases (CP) também participam na biossíntese desta macromolécula (Fig. 6 e Fig.7). Estas enzimas encontram-se localizadas no folheto exterior da membrana citoplasmática (MC) e vão corresponder ao alvo dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos e são globalmente designadas por PBPs (*Penicillin-Binding Proteins*) (Zapun, Contreras-Martel et al. 2008; Llarrull, Fisher et al. 2009).

SA apresenta quatro PBPs distintos, nomeadamente PBP<sub>1</sub>, PBP<sub>2</sub>, PBP<sub>3</sub>, PBP<sub>4</sub>, com pesos moleculares (PM) variáveis (85, 81, 75 e 45 KDa, respetivamente), essenciais ao crescimento celular, bem como a sobrevivência de estirpes MSSA (Sousa 2006; Kosowska-Shick, McGhee et al. 2010). Particularmente, verifica-se a intervenção destes quatro PBPs na reacção de transpeptidação do peptidoglicano. Uma vez que os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos apresentam grande afinidade especificamente para PBP<sub>1</sub>, PBP<sub>2</sub> e PBP<sub>3</sub>, a ligação destes agentes é letal (Sousa 2006; Kosowska-Shick, McGhee et al. 2010).

Com efeito, ocorre a formação de um complexo peniciloilenzima somente se houver preservação da ligação CO-N do anel  $\beta$ -lactâmico, em que o grupo carbonilo é atacado pela serina do centro ativo dos PBPs (Sousa 2006; Zapun, Contreras-Martel et al. 2008; Llarrull, Fisher et al. 2009). Este complexo acil-enzima forma-se através de ligações covalentes, hidrolisando-se muito lentamente de forma a regenerar a serina livre. Desta forma, ocorre inibição irreversível das PBPs (transpeptidases e carboxipeptidases), impedindo as atividades enzimáticas (Fig.10) (Sousa 2006; Zapun, Contreras-Martel et al. 2008; Llarrull, Fisher et al. 2009).

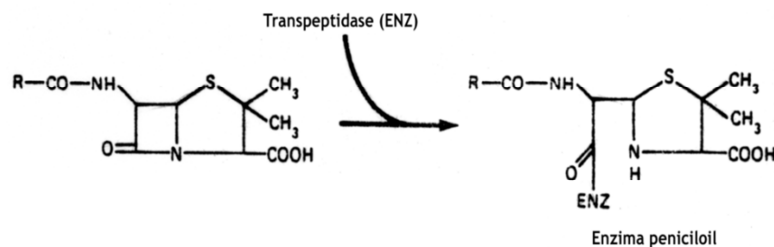


Figura 8 - Interação  $\beta$ -lactâmico/transpeptidase (ENZ), formando-se um composto inativo peniciloilenzima (Sousa 2006).

Todavia, é necessário que estes agentes antibacterianos sejam capazes de permear a PC bacteriana e proceder à acilação dos PBPs, inibindo a síntese do peptidoglicano e ativando a autólise (em bactérias Gram positivo, os ácidos lipoteicóicos assumem o controlo deste processo). Tal ocorre pois há uma alteração do balanço fisiológico entre as autolisinas e a síntese da PC. A bactéria expulsa os ácidos lipoteicóicos para o meio externo, havendo perda do controlo da atividade autolítica endógena (Sousa 2006). A perda deste controlo resulta no efeito bactericida (Llarrull, Fisher et al. 2009). Quando se trata de uma bactéria mutante que não produz autolisinas ou a sua produção é deficiente, esta não é afetada pela acção lítica dos  $\beta$ -lactâmicos (Sousa 2006).

Os inibidores das  $\beta$ -lactamases de classe A apresentam quimicamente uma estrutura bicíclica, particularmente um anel  $\beta$ -lactâmico e outro oxazolidínico no caso do ácido clavulânico. Estes agentes são estruturalmente semelhantes ao substrato das  $\beta$ -lactamases (antibióticos  $\beta$ -lactâmicos) e são considerados inibidores suicidas por se ligarem covalentemente, de forma irreversível, a estas enzimas (Sousa 2006).

### **III- STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA)**

Em 1961, Patricia Jevons descreveu e isolou a primeira estirpe MRSA e desde então tem-se assistido à disseminação mundial destas bactérias e à gravidade das infecções causadas pelas mesmas a partir da década de 80 (Sousa 2006; Moellering 2011). O tratamento destas revelou-se um desafio devido às alterações constantes nas características destes agentes patogénicos (Chavez e Decker 2008).

Na deteção laboratorial de estirpes MRSA, utiliza-se o meio seletivo de agar sólido contendo substâncias inibidoras (NaCl, ciprofloxacina, polymixina B, aztreonam, telurito e desferrioxamina) no sentido de selecionar SA sobre outros microrganismos e meticilina, oxacilina ou, mais recentemente, cefoxitina. Uma estirpe é sensível se a MIC de oxacilina for inferior ou igual a 2 mg/L. Para detetar colónias de MRSA recorre-se a um meio de cultura com manitol (*Mannitol Salt Agar*) e usa-se um indicador de pH (vermelho fenol) para destacar estas colónias. Também se utilizam meios de enriquecimento antes de cultivar em meio de agar sólido (em placa de Petri) com o intuito de aumentar a taxa de isolamento de estirpes MRSA por incubação durante o período da noite. Outro recurso possível são os meios cromogénicos contendo cefoxitina (MRSA Select, Bio-Rad; CHROMagar MRSA, BioConnections; MRSA ID, BioMerieux) (Brown, Edwards et al. 2005).

Até agora, as infeções hospitalares ou associadas a cuidados de saúde causadas por MRSA (*Hospital- ou Healthcare-Associated MRSA*, HA-MRSA) correspondiam à maioria dos casos associados a morbilidade e mortalidade elevadas (Klein, Smith et al. 2007; Moellering 2011). Porém, desde o início da década passada, tem-se constatado um aumento de quadros infecciosos associados a MRSA na comunidade (*Community-Associated MRSA*, CA-MRSA) (Chavez e Decker 2008; Skov, Christiansen et al. 2012).

A prevalência de patologias originadas por HA-MRSA varia geograficamente, sendo maior sendo nos países do sul, em oposição aos países do norte. Tal deve-se ao esforço de países como Finlândia, Dinamarca, Noruega, Islândia, Holanda e Reino Unido em

reduzir a colonização e disseminação destes microrganismos. Ainda assim, mais de 25% das bacteriemias descritas num terço dos países estudados deve-se a MRSA (Moellering 2011). Originalmente, HA-MRSA provoca infeções nosocomiais, ocorrendo mais frequentemente em hospitais e instalações onde se prestam cuidados a longo prazo (na década de 80). Já nos anos 90, verificou-se que MRSA tinha prevalência de 20% em hospitais de menores dimensões (menos de 200 camas) e de 40% em grandes centros hospitalares urbanos e já na década de 2000, aumentou para 60% em unidades de cuidados intensivos (UCI). Os fatores de risco associados a HA-MRSA encontram-se identificados: hospitalização ou permanência em unidades de convalescença prolongados, hemodialisados, cateterismo, exposição em UCI, antibioterapia prévia, cirurgias e proximidade de doente colonizado por MRSA. As infeções associadas a HA-MRSA são pneumonia, bacteriemia, infeções do trato urinário e feridas cirúrgicas (French 2006; Bamberger 2008; Chavez e Decker 2008).

Contrastando com HA-MRSA, as estirpes CA-MRSA associam-se amplamente a infeções da pele e dos tecidos moles (*Skin and Soft Tissue Infections*, SSTI), embora ultimamente tenham surgido casos de bacteriemias causadas por também por CA-MRSA (Davis, Perri et al. 2007; Bamberger 2008; Chavez e Decker 2008).

A prevalência de infeções CA-MRSA é variável de 1 a 50% em diferentes países, sendo maior em crianças, comparativamente com os adultos (Skov, Christiansen et al. 2012).

Estas infeções são prevalentes de forma significativa em países como os Estados Unidos da América (EUA), Taiwan, Canadá e Austrália. Em Taiwan observou-se um aumento de 9,8% (1999-2000) para 56% (2004-2005), dentro das infeções infantis, tornando-se endémico, ao passo que nos EUA, a incidência de patologias por CA-MRSA é geograficamente heterogénea. Em 2002, foram registadas em França doenças infecciosas por CA-MRSA, embora estudos evidenciem casos datados do fim da década de 80 e início de 90 na Holanda e Dinamarca. Para os países nórdicos e Holanda, em que o número de casos por

HA-MRSA é muito baixo, as infecções por CA-MRSA correspondem a uma grande parte das doenças infecciosas (suspeita-se da importação destas estirpes de regiões endêmicas do globo) (Skov, Christiansen et al. 2012). Atualmente, a prevalência destas infecções é baixa na Europa mas crescente, sendo mais pronunciada na Grécia, seguido de Portugal, Itália e Espanha (Fig.9) (Sousa 2006; Skov, Christiansen et al. 2012).

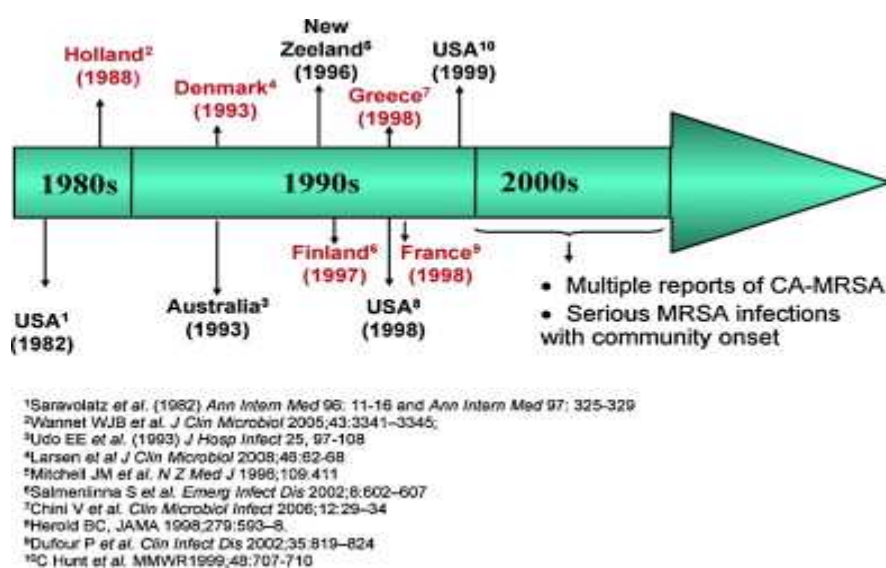


Figura 9 - Disseminação global de CA-MRSA (Skov, Christiansen et al. 2012).

Apesar do aumento do número de casos de infecções por CA-MRSA, o número de portadores de MRSA (cerca de 76% assintomáticos até 12 meses) é baixo, sendo a prevalência de colonização nasal em 9004 indivíduos saudáveis nos EUA em 2003-2004 de 1,5% (Chavez e Decker 2008; Skov, Christiansen et al. 2012). Os portadores com alta hospitalar podem representar reservatórios de CA-MRSA e HA-MRSA, sendo necessário distinguir três grupos de doentes (Salgado, Farr et al. 2003):

1. indivíduos na comunidade com factores de risco associados à prestação de cuidados de saúde;
2. indivíduos na comunidade sem os factores de risco anteriormente referidos;

3. doentes hospitalizados que adquirem infecção nosocomial por MRSA.

A definição de HA-MRSA e CA-MRSA pode basear-se na epidemiologia das infeções, como referenciado até agora, ou na biologia molecular das estirpes infetantes (presença de fatores de virulência específicos, produção de exotoxinas e suscetibilidade antimicrobiana) (Tab. 2) (Chavez e Decker 2008).

Tabela 2 - Características de CA-MRSA e CA-MRSA (Adaptado de Davis, Perri et al. 2007; Chavez e Decker 2008).

<b>Características</b>	<b>CA-MRSA</b>	<b>HA-MRSA</b>
Infeções clínicas	Pele, tecido mole e pneumonia necrosante	Pneumonia, urinária, sanguínea, ferida cirúrgica
Populações de risco	Grupos fechados de pessoas (prisioneiros, atletas, militares, populações étnicas, homossexuais, toxicodependentes de drogas intravenosas)	Prestadores de cuidados de saúde
Condições subjacentes	Ausente	Fatores de risco associados a cuidados de saúde
Grupo etário	Mais jovem	Mais velho
Raça/etnia	Não caucasiano	Caucasiano
Resistência antimicrobiana	Suscetível a múltiplos antibióticos	Resistente a múltiplos

Características	CA-MRSA	HA-MRSA
		antibióticos
Resistência genotípica	SCC <sup>*</sup> <i>mec</i> tipo IV  <i>*staphylococcal cassette chromosome</i>	SCC <sup>*</sup> <i>mec</i> tipos I, II, III
Toxina PVL <sup>**</sup>  <i>**Panton-Valentine leukocidin</i>	Presente	Ausente

Geralmente, níveis baixos de resistência verificados em MRSA podem ser consequência de: hiperprodução de  $\beta$ -lactamases, aumento da quantidade de PBPs intrínsecos ou redução da sua afinidade para se ligarem. Por outro lado, níveis elevados de resistência resultam da expressão de PBPs alternativos, codificados pelo gene *mecA*, cuja afinidade para a maioria dos agentes  $\beta$ -lactâmicos é reduzida. Este gene localiza-se no cromossoma, a sua expressão pode ser constitutiva ou induzida por determinados  $\beta$ -lactâmicos ou heterogênea (nem todas as células expressam o gene) (Fluit A.D.C. 2001).

As estirpes MRSA apresentam um quinto PBP, além dos quatro já referidos (PBP<sub>1,2,3,4</sub>) anteriormente, designado por PBP<sub>2a</sub> (Zapun, Contreras-Martel et al. 2008). Ou seja, um PBP alterado, cuja expressão não modifica a produção dos outros PBPs (Jones e Pfaller 1998; Zapun, Contreras-Martel et al. 2008).

A resistência aos  $\beta$ -lactâmicos apresentada por MRSA contendo PBP<sub>2a</sub> está associada à acilação reduzida da TP por parte dos agentes  $\beta$ -lactâmicos. Este PBP<sub>2a</sub> apresenta função de TP mas é desprovido de atividade de TG, o que significa que a síntese da PC bacteriana conta com a cooperação da TG do domínio do PBP<sub>2</sub> (Llarrull, Fisher et al. 2009).

Assim, quando a atividade de TP dos PBPs nativos é inviabilizada pela acilação  $\beta$ -lactâmica, o PBP<sub>2a</sub> assume a função desta enzima, de modo a manter a síntese parietal,

mesmo a concentrações inibitórias destes agentes antimicrobianos (Llarrull, Fisher et al. 2009).

Contudo, estudos evidenciam a incapacidade do PBP<sub>2a</sub> de conferir uma resistência à meticilina homogénea, sendo os fenótipos encontrados heterogéneos. Tal significa que a produção de PBP<sub>2a</sub> não torna toda a população bacteriana resistente à meticilina, verificando-se uma mistura de células com diferentes graus de resistência a este antibiótico (Kondo, Kuwahara-Arai et al. 2001).

De facto, uma população resistente homogénea verifica-se apenas na presença de  $\beta$ -lactâmicos e quando estes são retirados, a população celular volta a ser heterogénea. Tal revela que o PBP<sub>2a</sub> funcionante constitui um custo acrescido na biossíntese da PC, sendo evitado na ausência de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (Zapun, Contreras-Martel et al. 2008).

A expressão de PBP<sub>2a</sub> (cerca de 800 por célula) depende da transcrição do gene *mecA* (Fig.10), que por sua vez é regulada por elementos de *mecI* e *mecRI*, sendo o primeiro responsável por inibir a transcrição de *mecA* e o segundo uma proteína de transdução do sinal (Niemeyer, Pucci et al. 1996; Pucci e Dougherty 2002; Garcia-Castellanos, Mallorqui-Fernandez et al. 2004). O *MecRI* tem a capacidade de detetar a presença de  $\beta$ -lactâmicos (domínio extracelular) e o seu domínio intracelular, correspondente a uma protease, ao ser activado, leva à quebra do repressor *mecI* (Zapun, Contreras-Martel et al. 2008) Estes três elementos, juntamente com *IS431mec* integram o complexo do gene *mec* (Ito, Okuma et al. 2003).

Outra região essencial à célula procariótica é designada por complexo do gene *ccr*, constituída por dois genes de recombinase *ccrA* e *ccrB* (enzima responsável pela mobilidade de *SCCmec*) rodeados por *orfs* (com função desconhecida) (Ito, Okuma et al. 2003). Estas duas regiões compõem um elemento genético móvel denominado cassete cromossómica estafilocócica (SCC, *Staphylococcal Chromosome Cassette*), que faz parte do cromossoma de MRSA (Sousa 2006; Zapun, Contreras-Martel et al. 2008; Llarrull, Fisher et al. 2009). Os tipos de *SCCmec* estão descritos na tabela 3. As partes restantes de *SCCmec*, correspondentes a vários genes ou pseudogenes sem função essencial aparente para a bactéria, designam-se por regiões J (*junkyard*). As exceções

residem nos genes que conferem a resistência a antibióticos distintos dos  $\beta$ -lactâmicos ou metais pesados (Ito, Okuma et al. 2003).

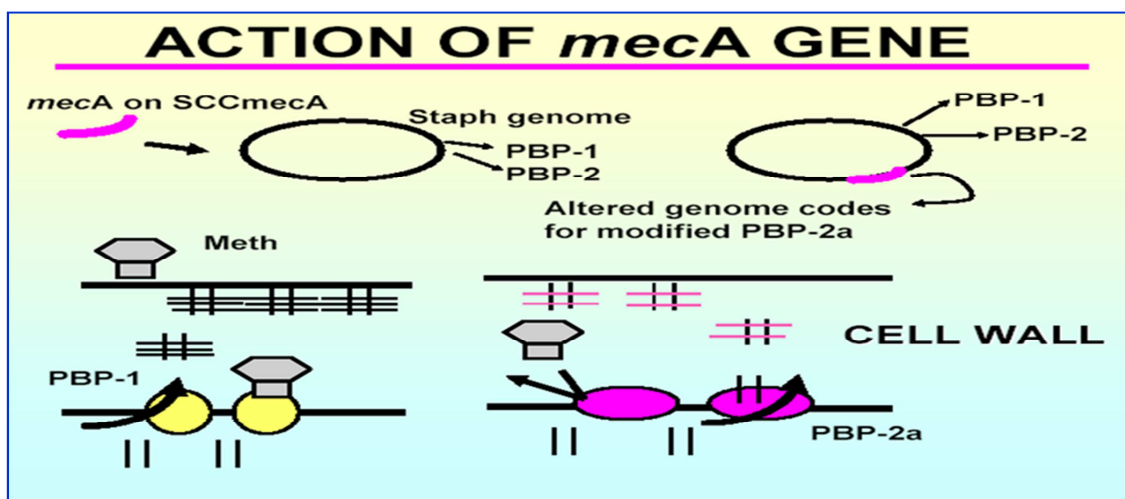


Figura 10 - Ação do gene *mecA* (Sousa 2006).

A região *mec*, que contém o gene *mecA*, localiza-se próximo do gene *pur-nov-his* e admite-se ter origem na transferência horizontal entre espécies estafilocócicas distintas. Em relação ao gene *mecA*, pensa-se ter ocorrido transferência entre diferentes géneros Gram positivo (Sousa 2006).

Tabela 3 - Tipos de SCCmec (Sousa 2006) adaptado de tabela cedida pelo Professor Doutor João Carlos de Sousa).

Tipo de SCCmec	Tamanho (kb)	Características
I	34,3	Outros genes de resistência ausentes
II	53,0	Resistência a múltiplos antibióticos
III	66,9	
IV	20,9-24,3	Resistência a $\beta$ -lactâmicos
V	28,0	Genes de resistência ausentes (exceto <i>mecA</i> )

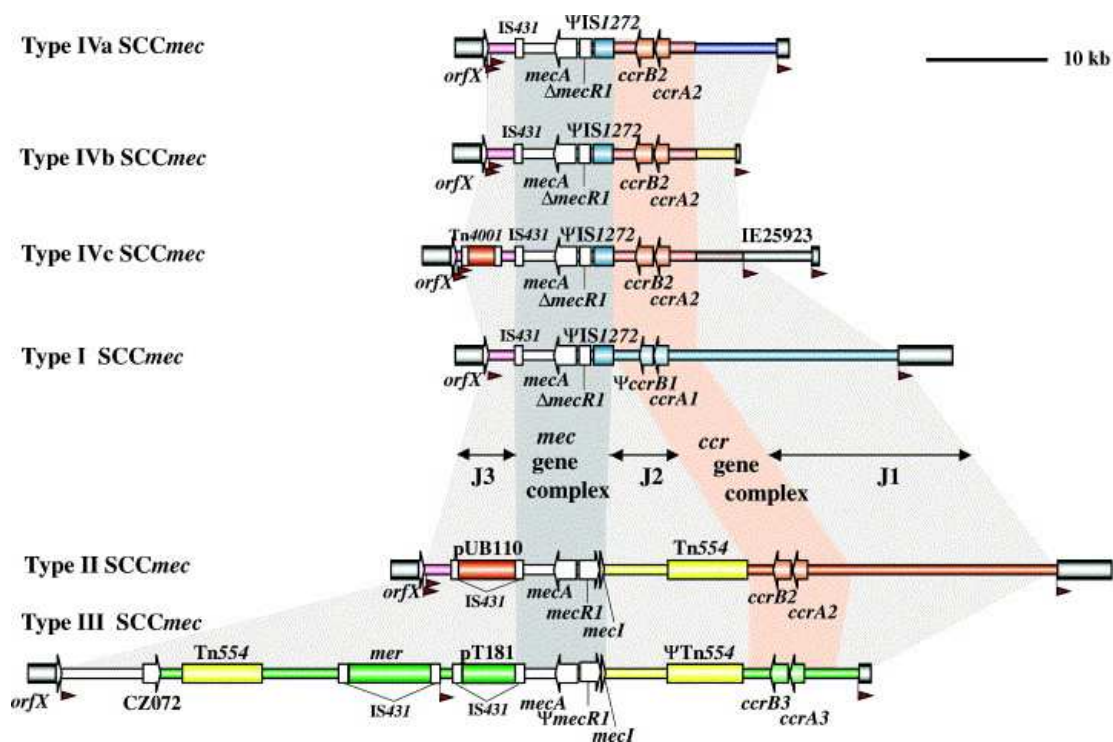


Figura 11 - Estruturas dos quatro tipos de SCCmec, de acordo as sequências nucleotídicas (Ito, Okuma et al. 2003).

A expressão do PBP<sub>2a</sub> também depende da intervenção de outros genes. Estes genes auxiliares são cerca de 30, *aux* ou *fem* (*factor essential for methicillin resistance*), e participam no metabolismo da PC. Por exemplo, os produtos codificados por *femAB* assumem a função de formar a cadeia pentaglicídica, através da adição dos resíduos de glicina (segundo ao quinto) ao precursor do peptidoglicano, fundamental para as pontes cruzadas da estrutura peptidoglicânica estafilocócica (Zapun, Contreras-Martel et al. 2008).

O perigo das estirpes MRSA prende-se com o facto da resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos estar frequentemente associada à resistência a outros grupos de antibióticos (Zapun, Contreras-Martel et al. 2008). A SCCmec tipo III exhibe a cópia do plasmídeo pT181, transposição e pseudo Tn554, que codificam resistência à tetraciclina, eritromicina e cádmio, respetivamente (Ito, Okuma et al. 2003).

#### IV-ANTIBIÓTICOS GLICOPÉPTIDOS CONTRA MRSA

A vancomicina foi descoberta na década de 50, mas o seu uso clínico não foi tão frequente como verificado com as penicilinas devido ao baixo grau de pureza dos primeiros lotes e o facto destas últimas estas apresentarem maior segurança e eficácia (Van Bambeke 2004; Moellering 2011). Foi introduzida em 1956 no tratamento de infeções estafilocócicas produtoras de  $\beta$ -lactamases até surgimento das isoxazolilpenicilinas (Sousa 2006). Contudo, este glicopéptido de origem natural, também denominado de “old Mississipi mud” (“lama do velho Mississipi”, relembrando a sua origem) passou a ser o fármaco de primeira linha no tratamento de infeções por estirpes MRSA, sendo desde então amplamente utilizado em meados da década de 70 (Jones e Pfaller 1998; Van Bambeke 2004; Pace e Yang 2006).

Este glicopéptido é produzido por *Streptomyces orientalis*, com estrutura tricíclica, em que duas unidades  $\beta$ -hidroxitirosina clorada, três sistemas substituintes de fenilglicina, N-metilleucina e asparagina (unidos por duas ligações éter e ligação C-C) se encontram ligados numa cadeia peptídica de sete elementos. Uma das unidades de fenilglicina está unida a um dissacarídeo de glucose e vancosina (açúcar aminado). Porém, esta metade açucarada não integra a estrutura tricíclica. É um composto anfotérico e hidrófilo de elevado PM (Sousa 2006).

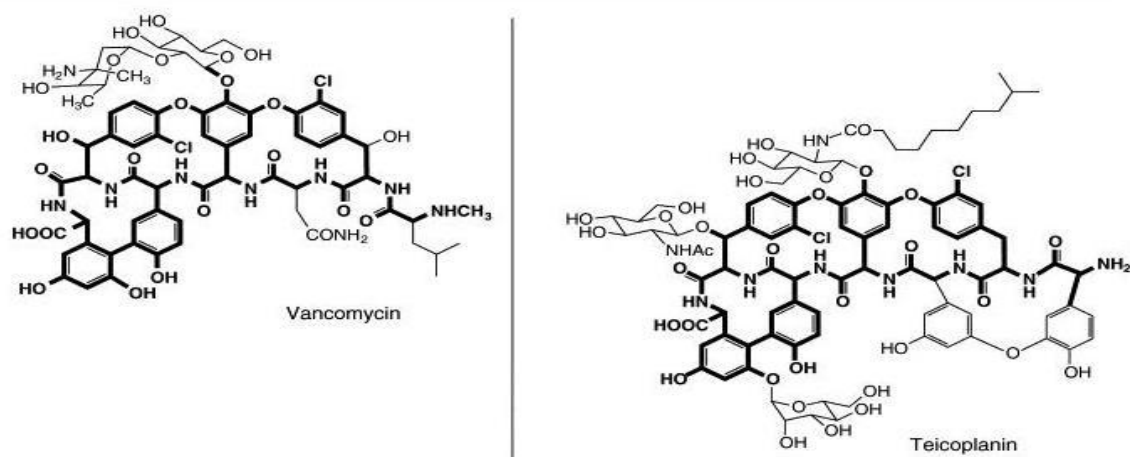


Figura 12 - Estrutura química da vancomicina e teicoplanina (Van Bambeke 2004).

A vancomicina é um inibidor da biossíntese do peptidoglicano na fase membranar (Fig. 13). Apresenta um efeito bactericida e é ativo bactérias em crescimento. Ocorre formação de complexos entre este agente antibiótico e o dipéptido D-alanil-D-alanina da cadeia peptídica dos precursores do peptidoglicano uma vez que a vancomicina apresenta grande afinidade e especificidade para se ligar ao referido dipéptido (por pontes de hidrogénio e interações hidrofóbicas) (Van Bambeke 2004; Sousa 2006).

De facto, é na interface membrana citoplasmática/PC que se verifica a ligação do glicopéptido ao dipéptido D-alanil-D-alanina de NAG-NAMA-pentapéptido-(P)-(P)-lípidio, levando à interrupção da transferência das unidades recém sintetizadas para a matriz parietal em formação.

Este evento culmina na lise bacteriana, mediada pelas autolisinas endógenas (Sousa 2006). É possível que a vancomicina, ao formar complexos com D-alanil-D-alanina na cadeia do peptidoglicano em crescimento, iniba a actividade das TP e TG, responsáveis pela reticulação dos precursores do peptidoglicano (Fig.13) (Van Bambeke 2004; Sousa 2006). A diferença deste mecanismo de ação comparativamente com o dos  $\beta$ -lactâmicos reside na suscetibilidade de estirpes MRSA à vancomicina (Sousa 2006).

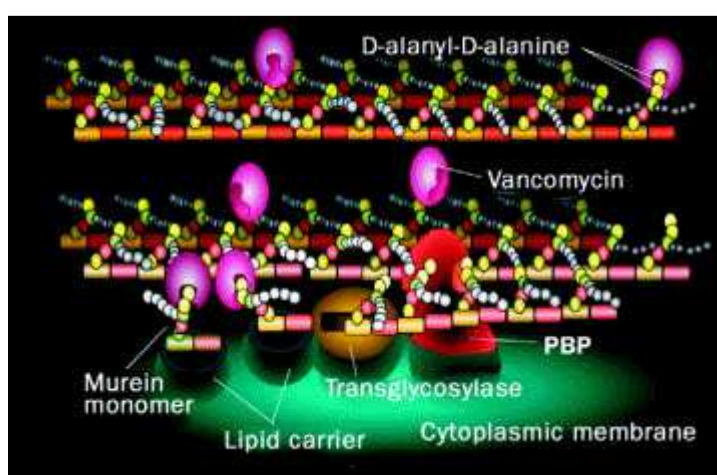


Figura 13 - Ação da vancomicina e teicoplanina. O antibiótico liga-se aos resíduos de D-alanil-D-alanina do monómero de murina. O monómero ligado ao antibiótico não é substrato da enzima TG (Hiramatsu 2001).

Em relação ao seu uso clínico, este glicopéptido é usado no tratamento de infecções graves causadas por MRSA ou outras infecções estafilocócicas em doentes com alergia às penicilinas ou ainda como medida profilática em circunstâncias específicas (Sousa 2006; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). Em particular, a vancomicina é administrada por via intravenosa para tratar endocardites estafilocócicas e pode usada *per os* no tratamento de enterocolites de origem estafilocócica (Sousa 2006).

A vancomicina é fracamente absorvida no trato intestinal e possui um efeito irritante, doloroso e até necrosante para os tecidos (desaconselhada a via intramuscular), embora apresente uma boa difusão. Este antibiótico deve ser administrado lentamente por via endovenosa, em soro fisiológico, de modo a minimizar o risco de alergias. Não tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) e é maioritariamente eliminada na urina. O tempo de semivida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) é de 6-12 horas (varia inversamente na população pediátrica), com ligação às proteínas plasmáticas de 55%. É passível de ser removida apenas por diálise peritoneal (Sousa 2006).

A utilização de vancomicina purificada por cromatografia minimizou os efeitos adversos, entre eles: febre, flebites, neutropenia, alergias, ototoxicidade e nefrotoxicidade. A administração rápida por via endovenosa (ev) origina o “*red-man-syndrome*” que se manifesta por febre, arrepios, parestesias, eritema na base do pescoço, seguido de hipotensão (reação pseudoanafilática). A prevenção desta síndrome passa pela administração lenta ou recorrendo previamente ao uso de antihistamínicos. Por via oral, este antibiótico pode provocar vômitos (Sousa 2006).

A concentração inibitória mínima (MIC) é de 0,5-2 mg/L para estirpes MRSA. A posologia recomendada varia de 6,5 a 15mg/kg, duas vezes por dia (pode ser também administrada de seis em seis horas) e deve ser ajustada em insuficientes renais (Sousa 2006; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Ainda assim, estudos evidenciaram a ineficácia deste antibiótico no tratamento de pneumonia nosocomial originada por MRSA devido provavelmente a um baixo poder de penetração no pulmão com o esquema posológico de 1g de 12 em 12 horas (Ferrara 2007).

O melhor indicador de eficácia consiste no rácio AUC (*Area Under the Curve*)/MIC encontrar-se igual ou acima de 400, sendo esse o objetivo a atingir em termos terapêuticos. Para tal a *American Society of Health System Pharmacists, Infectious Diseases Society of America* e a *Society of Infectious Diseases Pharmacists*, defendem estratégias de dosagens mais agressivas, sendo o alvo a atingir correspondente a níveis de 15-20 mg/L nos casos de pneumonia, endocardite e outras patologias invasivas causadas por MRSA (Micek 2007; Nguyen e Graber 2010). Outro estudo revela que é necessário uma dose de 3-4 g por dia para a obtenção 90% do rácio AUC/MIC  $\geq$  400, em que a MIC é igual a 1 mg/L, até porque no caso de 2 mg/L não é possível atingir o rácio pretendido. Todavia, estudos apontam para o desenvolvimento de nefrotoxicidade com doses elevadas de vancomicina, não sendo clara a relação causal. (Nguyen e Graber 2010).

A teicoplanina é igualmente um glicopéptido natural com as mesmas indicações terapêuticas da vancomicina, produzido por *Actinoplanes teichomyceticus* e quimicamente corresponde a um complexo de análogos com a mesma base heptapeptídica linear, um aglicona com aminoácidos aromáticos D-manose e N-acetil-D-glucosamina (Fig. 12). O PM é elevado como acontece com a vancomicina, mas é mais lipofílico, o que favorece a penetração tecidual e também para o interior dos fagócitos (Sousa 2006).

Este agente glicopeptídico atua de forma similar à vancomicina, sendo bactericida. A absorção por via oral é fraca, podendo ser administrada por via intramuscular (im) e ev (Sousa 2006). A dose recomendada é de 6mg/kg (Van Bambeke 2004). A excreção é maioritariamente renal (cerca de 80%), mas por via oral, cerca de 40% é eliminado nas fezes, em ambos os casos sob a forma inalterada. Não atravessa a BHE e apresenta um  $t_{1/2}$  de 40-70h e ligação proteica na ordem dos 90%. Tal permite a administração numa única dose diária deste antibiótico, conferindo uma vantagem em relação à vancomicina. É igualmente necessário um reajuste de dose a administrar em caso de insuficiência renal, dada a nefrotoxicidade associada, mas é menos nefrotóxica comparativamente com a vancomicina. Existe também referência a ototoxicidade. Constitui uma alternativa à vancomicina nos quadros clínicos para o qual esta está

indicada, sendo também eficaz em dose única de 400mg por dia nas infecções causadas por MRSA (Sousa 2006).

## **V- STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À VANCOMICINA (VRSA)**

De acordo com o *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, estirpes com MIC entre 8 e 16  $\mu\text{g/mL}$  são definidas como VISA (do inglês, *Vancomycin-Intermediate S. aureus*, VISA), e as que apresentam uma MIC  $\geq 32$  mg/L designam-se por VRSA. Caso se constate resistência tanto à vancomicina como à teicoplanina, a denominação correta é *glycopeptide-intermediate or glycopeptide-resistant S. aureus* (GISA ou GRSA) (Aritaka, Hanaki et al. 2001; Ferrara 2007).

Em 1996 no Japão, foi isolada a primeira estirpe VISA com resistência intermédia à vancomicina, com MIC de 4  $\mu\text{g/mL}$  num indivíduo de 64 anos pneumonia causada por MRSA não sensível a vancomicina. Embora a MIC não esteja compreendida entre 8 e 16  $\mu\text{g/mL}$ , o isolado era composto também por subpopulações com capacidade de crescer em meios de cultura contendo 5-9  $\mu\text{g/mL}$  de vancomicina. Tal demonstrou resistência heterogénea na estirpe, designada por hVISA (VISA com comportamento heterogéneo) (Sousa 2006).

Desde o primeiro VISA isolado, foram reportados novos casos por todo de o mundo, tendo sido detetado em Portugal o primeiro caso de infecção por VRSA numa mulher de 74 anos, diabética, com insuficiência renal (necessidade de hemodiálise) e doença vascular periférica, sujeita a revascularização e amputação de dois dedos do pé já com gangrena. A estirpe VRSA foi isolada do pus do dedo do pé amputado e a MIC de 256  $\mu\text{g/mL}$  e 24  $\mu\text{g/mL}$  respeitantes a vancomicina e teicoplanina, respectivamente. Apresentou suscetibilidade ao cotrimoxazol, tetraciclina, tigeciclina, linezolid, daptomicina, quinopristina/dalfopristina, ácido fusídico, cloranfenicol, rifampicina e mupirocina (Melo-Cristino, Resina et al. 2013).

Embora o número de estirpes VRSA isoladas seja pequeno, existe a confirmação da plasticidade genética e elevada adaptabilidade de SA. Os riscos de surgimento de estirpes VRSA estão relacionados com a terapia prolongada com glicopéptidos (4-18 semanas), procedimentos invasivos ou presença de um corpo estranho (Ferrara 2007).

Em nenhuma das estirpes VISA foi detetada a existência do gene *van* (A, B, C), que está presente nas estirpes enterocócicas resistentes à vancomicina, pelo que a resistência intermédia de SA à vancomicina não deriva da transferência interespecies de genes de resistência. Estas estirpes possuem uma taxa de crescimento menor e uma espessura da PC superior, o que poderá promover a sequestração da vancomicina e, desta forma, ocorrer uma diminuição da susceptibilidade de SA a este glicopéptido. Paradoxalmente, são mais sensíveis à ação dos  $\beta$ -lactâmicos, apresentam maiores níveis de PBP<sub>2</sub> e PBP<sub>2a</sub>, além de uma incorporação maior de NAG na PC (Sousa 2006).

O peptidoglicano constituído por múltiplas camadas impede que as moléculas do antibiótico glicopeptídico atinjam à superfície da MC a fim de inibirem a síntese do peptidoglicano. Quanto às estirpes VRSA, pensa-se que apresentam mecanismos de disseminação mais eficientes, particularmente a transferência de plasmídeos contendo o gene *vanA* do *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina (VRE). Este gene é indutor da troca do terminal terminal D-alanil-D-alanina por terminal D-alanil-D-lactato nos precursores da PC, culminando na perda de afinidade para os glicopéptidos (Ferrara 2007).

A nível laboratorial, a diminuição de suscetibilidade no SA é difícil de detetar pelos testes de suscetibilidade convencionais. A difusão dos discos não distingue estirpes sensíveis à vancomicina das que exibem uma resistência crescente. Todavia, o recurso a placas de agar com vancomicina (feitas a partir de *Brain Heart Infusion* agar) ou *Mueller-Hinton* agar tem funcionado bem (Tenover 2001).

## VI- NOVAS ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS AOS GLICOPÉPTIDOS CONVENCIONAIS

Com o surgimento de estirpes VRSA, o tratamento com vancomicina tem sido questionado e novas opções terapêuticas foram usadas clinicamente (Weigelt, Kaafarani et al. 2004). Por outro lado, as *guidelines* recomendam o recurso a outros agentes antibióticos para o tratamento de alguns tipos de infecção por MRSA, quando se verifica uma MIC de 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ou superior para a vancomicina (Campbell, Marchaim et al. 2012).

Idealmente, o antibiótico para o tratamento de quadros infecciosos causados por MRSA deve ter um elevado poder bactericida; excelente capacidade de penetração tecidual; perfil farmacocinético e farmacodinâmico favorável ao estabelecimento da dose previsível; baixo potencial de desenvolvimento de resistências durante a antibioterapia; toxicidade reduzida e eficácia clínica e microbiológica comprovada (Nguyen e Graber 2010).

Como não existe um antibiótico com todas estas propriedades reunidas, recentemente foi defendida a antibioterapia combinada, no sentido de colmatar falhas de cada um dos antibióticos usados. Os objetivos destas combinações antibióticas consistiam no aumento da *clearance* bacteriana, diminuição do surgimento de resistências e garantia do alcance do antibiótico no local infectado (Nguyen e Graber 2010).

As estirpes VRSA isoladas mostraram ser sensíveis a alguns antibióticos já conhecidos: cloranfenicol, minociclina, cotrimoxazol, quinupristina-dalfopristina. Contudo estes agentes apresentam um efeito bacteriostático e não são considerados para a terapêutica de 1ª linha destas infecções (Pace e Yang 2006).

Têm sido desenvolvidos novos agentes para o tratamento de infecções por MRSA e VRSA, nomeadamente linezolid, tigeciclina, daptomicina, novos glicopéptidos, cefalosporinas de 5ª geração e iclaprim (Micek 2007).

## A. Linezolid

O linezolid é um antibiótico sintético pertencente à classe oxazolidinonas. Esta classe nova, embora tenha sido descoberta em 1980, só foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de infecções por organismos suscetíveis, em particular MRSA (inativo contra bacilos Gram negativo) (Sousa 2006; Micek 2007).

Quimicamente, o linezolid tem incorporado uma piperazina, um grupo hidroxiacetilo e flúor, o que contribui para melhorar a sua atividade antibacteriana e reduzir os efeitos tóxicos (Fig.14) (Sousa 2006).

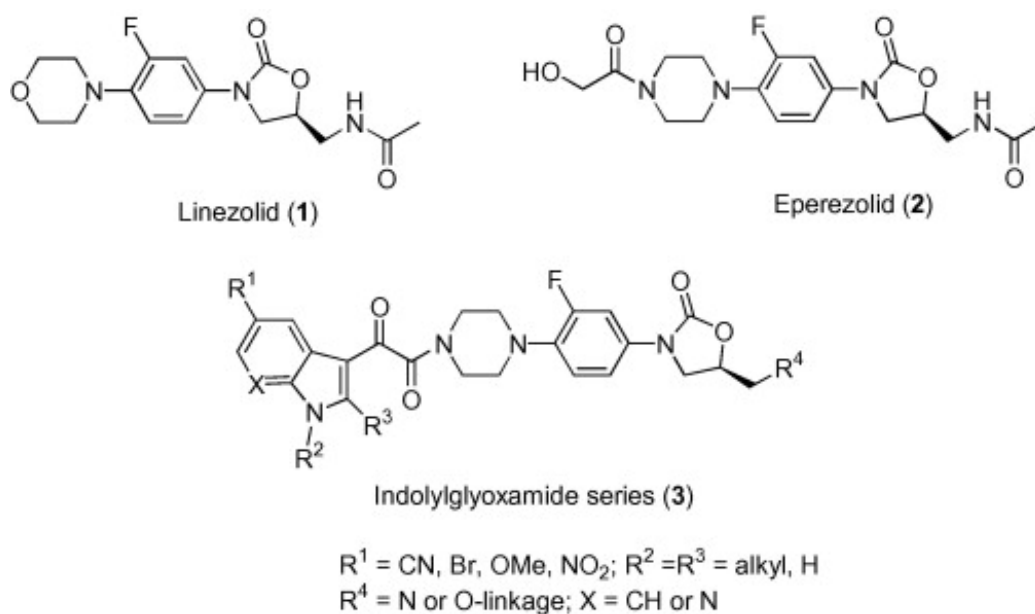


Figura 14 - Estruturas químicas de oxazolidinonas (Takhi, Singh et al. 2008).

Esta oxazolidinona atua por um mecanismo bacteriostático, concretamente inibindo a iniciação da síntese proteica bacteriana (Sousa 2006; Micek 2007). Este liga-se à subunidade 50S do ribossoma e impede a formação do complexo de iniciação 70S funcional (Micek 2007; Takhi, Singh et al. 2008). O linezolid interfere na ligação do iniciador f-metionina- $\gamma$ -RNA ao local P na peptidiltransferase (vazio antes da formação

da primeira cadeia peptídica), impedindo a tradução da mensagem codificada no mRNA (Sousa 2006). A formação do complexo 30S (N-formilmetionina-tRNA-30S) ocorre, mas o complexo f-metionina-tRNA-ribossoma-mRNA não é formado. Graças a este mecanismo de ação singular, não se esperam interações com outras classes de antibióticos (Sousa 2006; Takhi, Singh et al. 2008).

O linezolid (Zyvoxid<sup>®</sup>) apresenta duas formulações com vias de administração distintas: via oral e endovenosa. A posologia é de 400-600mg duas vezes por dia para ambas as formulações (Slatter, Stalker et al. 2001; Sousa 2006). Este antibiótico *per os* é absorvido rapidamente, atingindo a concentração plasmática máxima ao fim de duas horas e metabolizado pelo fígado (não induz nem inibe o citocromo P<sub>450</sub>), dando origem a dois metabolitos inativos (ácido aminoetoxicético e hidroxietilglicina) (Slatter, Stalker et al. 2001; Sousa 2006). As concentrações séricas de linezolid oral e endovenoso são equivalentes, sem diferença significativa na biodisponibilidade (cerca de 100%), embora a concentração plasmática máxima seja estatisticamente diferente (Slatter, Stalker et al. 2001; Welshman, Sisson et al. 2001). A sua eliminação é principalmente por via urinária (30% inalterado e 50% de metabolitos) e cerca de 10% pelas fezes. O respetivo t<sub>1/2</sub> é de cinco horas e cerca de 31% liga-se às proteínas plasmáticas, (MacGowan 2003; Sousa 2006).

Este antibiótico está indicado na terapêutica de SSTIs (infecções necrosantes), infecções ósseas e articulares, infecções por CA-MRSA (estirpes produtoras de toxinas) e pneumonia (Beringer, Nguyen et al. 2005; Sousa 2006; Micek 2007; Nguyen e Graber 2010).

Estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem que a eficácia intracelular e extracelular de linezolid é similar, assumindo relevância no caso de SA, que é capaz de invadir e sobreviver no interior das células (persistência da infecção estafilocócica) (Sandberg, Jensen et al.).

A análise de estudos realizados indicou que a taxa de sobrevivência em doentes com pneumonia nosocomial por MRSA tratada com linezolid era significativamente superior, quando comparada com a verificada no caso da vancomicina (80% *versus*

64%). Contudo, não demonstrou ser mais eficaz que o glicopéptido de eleição no tratamento de bacteriemia secundária por MRSA (Micek 2007).

Outros estudos revelaram que a cura de SSTIs e infeções das extremidades inferiores com este antibiótico era de 94% e de 84% no grupo tratado com vancomicina (Sharpe, Shively et al. 2005).

O uso da formulação oral de linezolid reduziu o número de amputações, o que se traduziu na minimização da mortalidade, morbidade e os custos associados a este procedimento (alta hospitalar precoce e custos reduzidos nos cuidados em regime de ambulatório) (Sharpe, Shively et al. 2005; Micek 2007).

Estudos revelaram também a eficácia do linezolid no tratamento de pneumonias nosocomiais, incluindo as causadas por MRSA (Welte e Pletz 2010).

Estudos indicam que o linezolid é bem tolerado, sendo os efeitos adversos mais observados de origem gastrointestinal (náuseas, diarreia). Também podem ocorrer alterações do paladar, descoloração da língua, candidíase oral, cefaleia (Stevens, Herr et al. 2002; Sousa 2006). O tratamento prolongado pode causar mielodepressão (trombocitopenia, leucopenia) e como é um inibidor da MAO (monoaminoxidase) pode ocorrer síndrome serotoninérgica (hiperpirexia e disfunção cognitiva), sobretudo em concomitância com antidepressivos inibidores da recaptção seletiva de serotonina (exige monitorização do tratamento. Hepatotoxicidade, acidose láctica e neuropatias periféricas constituem efeitos adversos verificados, sendo este último descrito em doentes com osteomielite ou outras doenças subjacentes (Sousa 2006; Micek 2007).

O número crescente de infeções causadas por VISA e VRSA justifica o recurso a este antibiótico, porém já foram reportados casos de bactérias resistentes ao linezolid. A resistência bacteriana e a toxicidade hematológica motivam o desenvolvimento de oxazolidinonas mais efetivas (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). Já uma nova série de análogos pertencentes a esta classe contendo indolilglioxamidas (possuem um grupo amida no C5) (Fig.14), sendo mais potentes que o linezolid contra estirpes suscetíveis. A adição de amidas halogenadas, tioamidas e 1,2,3-triazol na cadeia lateral



A tigeciclina (Tygacil<sup>®</sup>) é administrada por via intravenosa (iv) uma dose de 50 mg (infusão de 30-60 minutos) a cada 12 horas, após dose de carga de 100 mg (Fritsche, Sader et al. 2005; Pankey 2005; Mendes, Sader et al. 2008). Por via oral apresenta uma baixa biodisponibilidade (Van Wart, Cirincione et al. 2007). Tem boa capacidade de distribuição tecidual, com volume de distribuição (Vd) de 7-10L/kg, uma ligação moderada às proteínas séricas (71-89%) e um  $t_{1/2}$  variável de 37 a 67 horas (Doan, Fung et al. 2006; Van Wart, Cirincione et al. 2007). Sofre metabolização no fígado principalmente por glucoronidação e é excretada na forma inalterada na urina (33%) e nas fezes (59%) (Pankey 2005; Doan, Fung et al. 2006; Van Wart, Cirincione et al. 2007).

A tigeciclina encontra-se indicada para tratar infecções complicadas da pele e tecidos moles e infecções intrabdominais provocadas por MSSA e MRSA entre outros Gram positivo Gram negativo (Fritsche, Sader et al. 2005; Pankey 2005). Estudos revelaram a atividade bacteriostática em 98,2% das estirpes CA-MRSA e 98,7% em estirpes HA-MRSA (Mendes, Sader et al. 2008). É eficaz no tratamento de pneumonia nosocomial, inibindo prontamente as estirpes estafilocócicas (incluindo MRSA), correspondentes a quase metade das agentes patogénicos causadores desta infeção (Fritsche, Sader et al. 2005). Este antibiótico está indicado na terapêutica de pneumonias adquiridas na comunidade (PAC), excluindo as estirpes MRSA, uma vez que os estudos efetuados não constataram eficácia equivalente a outros agentes como a vancomicina, o linezolid e teicoplanina. Embora apresente uma boa penetração alveolar, atinge níveis reduzidos no fluído epitelial, sugerindo uma dose subótima para tratar a infeção respiratória (Nguyen e Graber 2010). Outro estudo mostrou a suscetibilidade de estirpes VRSA e GISA a este antibiótico, exercendo um efeito bacteriostático (Pankey 2005)

A tigeciclina possui um bom perfil de tolerância, sendo as reações adversas mais frequentes a diarreia e o vômito (Pankey 2005; Doan, Fung et al. 2006).

### C. Daptomicina

Os lipopéptidos foram descobertos há mais de meio século atrás, sendo a daptomicina o primeiro membro desta classe de antibióticos naturais. É produzida por *Streptomyces rosesporus* e apresenta uma estrutura química cíclica composta por um depsipéptido (grupo amida é substituído por grupo éster) altamente hidrofílico ligado a uma cadeia de ácido gordo decanoil (Fig.16) (Dvorchik, Arbeit et al. 2004; Sousa 2006; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

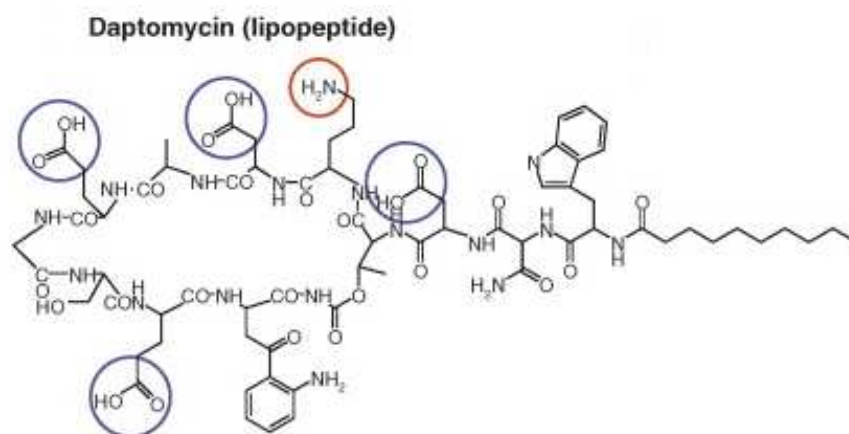


Figura 16 - Estrutura química da daptomicina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

A daptomicina liga-se de forma irreversível à membrana celular (MC) através da despolarização desta (devido ao efluxo de potássio), sem atingir o citoplasma (Sousa 2006). Este lipopéptido sofre modificação conformacional na presença de cations de cálcio, intensificando as suas propriedades anfifílicas: uma parte da molécula é composta por aminoácidos carregados e a outra por uma cauda lipofílica. O cálcio induz a formação de micelas por parte da daptomicina, com as cadeias lipídicas direcionadas para o interior. O contacto com a MC carregada negativamente provoca outra alteração estrutural nestas estruturas micelares, o que facilita a interação das caudas lipofílicas com a MC (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). Inserindo-se no folheto externo da membrana, ocorre a fuga do conteúdo citosólico, culminando num rápido

efeito bactericida (dose-dependente) com inibição da síntese dos ácidos nucleicos (Fig.17) (Dvorchik, Arbeit et al. 2004; Bamberger 2008; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

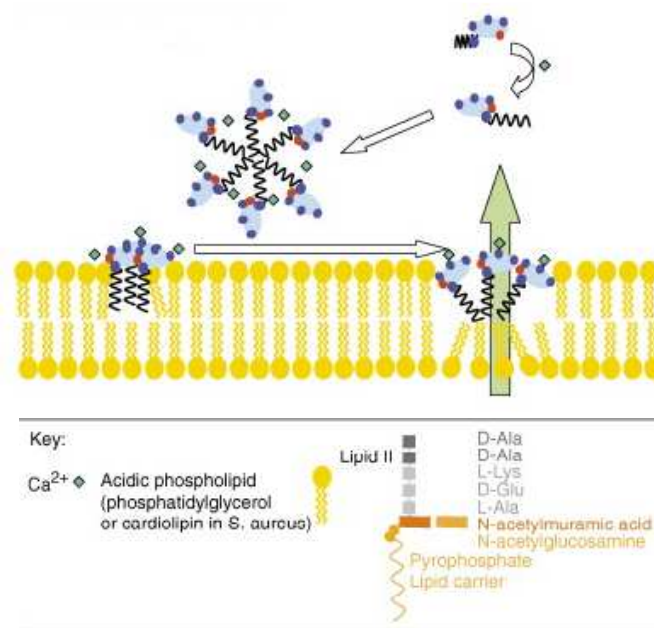


Figura 17 - Mecanismo de ação da daptomicina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

A daptomicina, cujo nome comercial é Cubicin<sup>®</sup>, apresenta atividade apenas contra bactérias Gram positivo, uma vez não que tem a capacidade de atravessar a membrana externa (OM, *Outer Membrane*) dos Gram negativo (Sousa 2006; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). Apesar de interagir com as membranas das células eucarióticas por ser um substrato da P-glicoproteína, não afeta a integridade membranar. Além disso, a seletividade deste antibiótico para organismos procarióticos também reside na interação preferencial com o fosfatidilglicerol (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Cubicin<sup>®</sup> é administrado por via iv durante 30 minutos, nas doses que variam de 4-6 mg/kg/dia, a cada 24 horas e possui um reduzido volume de distribuição nos tecidos e fluidos do organismo (não atravessa a BHE e fraca penetração nos tecidos alveolares)

(Dvorchik, Brazier et al. 2003; Sousa 2006; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Este antibiótico não é metabolizado pelo  $P_{450}$  e cerca de 78% é eliminado por filtração glomerular (Dvorchik, Brazier et al. 2003; Sousa 2006). Possui um  $t_{1/2}$  de aproximadamente de 8-9 horas e 92% liga-se às proteínas séricas (Dvorchik, Brazier et al. 2003; Sousa 2006; Bamberger 2008). É lentamente removida por hemodiálise e diálise peritoneal (Sousa 2006).

A daptomicina está aprovada nos EUA, Europa e noutros países para o tratamento de infecções complicadas da pele e tecidos moles e no EUA bacteriémias e endocardite do lado direito provocadas por MRSA e outros Gram positivo (Bamberger 2008; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008; Chakraborty, Roy et al. 2009). Não está indicada na terapêutica da pneumonia devido à ausência de eficácia, uma vez que este lipopéptido torna-se inativo pelo surfactante pulmonar (relacionado com a proporção baixa de fosfatidilglicerol no surfactante, que induz a formação de agregados dependentes do cálcio) (Goldberg, Paul et al. ; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

A injeção iv de daptomicina durante dois minutos revelou ser vantajoso no tratamento de infecções por bactérias Gram-positivo, uma vez que simplifica o esquema posológico para doentes a fazer outros medicamentos através de cateter e reduz o volume administrado, facilitando a monitorização do equilíbrio de fluído do doente (sobretudo nas UCIs). Além disso, minimiza o risco de infeção (bacteriémias associadas a cateterismo) como resultado de não ser necessário o uso de cateteres (Chakraborty, Roy et al. 2009). Outros estudos realizados indicaram que várias doses de 6mg/kg de daptomicina foram eficazes no tratamento de infecções do pé e osteomielite em doentes diabéticos (Traunmuller, Schintler et al. 2010). Entre as estirpes MRSA sensíveis à vancomicina, 97% são também sensíveis à daptomicina; no entanto, em estirpes VRSA observou-se suscetibilidade à daptomicina (Bamberger 2008).

A daptomicina exhibe miotoxicidade dose-dependente, afetando o músculo esquelético (não afeta a musculatura lisa e cardíaca), ocorrendo fraqueza muscular e mialgias nas

extremidades distais, neuropatias periféricas ou cranianas. Estudos em doentes tratados com daptomicina evidenciaram elevação da creatinina cinase (CK), desenvolvimento de rabdomiólise e falência renal aguda (Sousa 2006; Bamberger 2008). Outros eventos adversos descritos são reacções de hipersensibilidade, anemias, hipotensão ou hipertensão e alterações glicémicas. O uso prolongado pode levar a vaginites ou infeções orais por *Candida albicans* e pode causar colite pseudomembranosa. Interação com varfarina e inibidores da HMG-CoA, por alteração do poder anticoagulante e risco de miopatia, respetivamente (Sousa 2006).

Este antibiótico também exibe resistência heterogénea, paralelamente com a vancomicina, mesmo a níveis da MIC a que os microrganismos seriam sensíveis. Ensaios *in vitro* revelam que o efeito bactericida é mais lento em populações celulares heteroresistentes. Também foi constatada uma relação do espessamento da PC com a perda de suscetibilidade à daptomicina, graças à incapacidade desta em atravessar uma PC mais espessa.

O gene *vanA* não confere também resistência das estirpes VRSA à daptomicina, uma vez que estirpes de tamanho celular normal e detentoras deste gene mantêm-se suscetíveis ao lipopéptido (Bamberger 2008). A resistência à daptomicina já descrita parece também estar associada a mutações de genes como *mprF*, que codifica a lisilfosfatidilglicerol sintetase (responsável pela síntese deste fosfolípido) (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Outros lipopéptidos foram desenvolvidos, nomeadamente friulimicinas e amfomicinas, e possuem o mesmo mecanismo de ação que a daptomicina, diferindo apenas na complexação dependente do cálcio, com a cadeia lipídica do C55-P. Outro agente encontra-se em desenvolvimento, parecendo ser mais vantajoso relativamente à daptomicina por não sofrer inativação pelo surfactante pulmonar (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

## D. Novos glicopéptidos

O surgimento de suscetibilidade intermédia ou mesmo resistência de estirpes estafilocócicas aos glicopéptidos (vancomicina e teicoplanina) verificada foi uma das razões para o desenvolvimento de novos análogos semissintéticos desta classe (Pace e Yang 2006). Como tal, o objetivo principal seria a descoberta de moléculas que não eram afectadas pelos mecanismos de resistência observados nos glicopéptidos naturais (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). Os novos agentes glicopéptidos são: dalbavancina, oritavancina e telavancina (Micek 2007).

As características físicoquímicas destes derivados modificam a farmacodinâmica mas também o perfil farmacocinético. A presença de uma cauda lipofílica contribui para uma ligação às proteínas plasmáticas, aumentando o  $t_{1/2}$  no organismo (Fig.18) (Van Bambeke 2004).

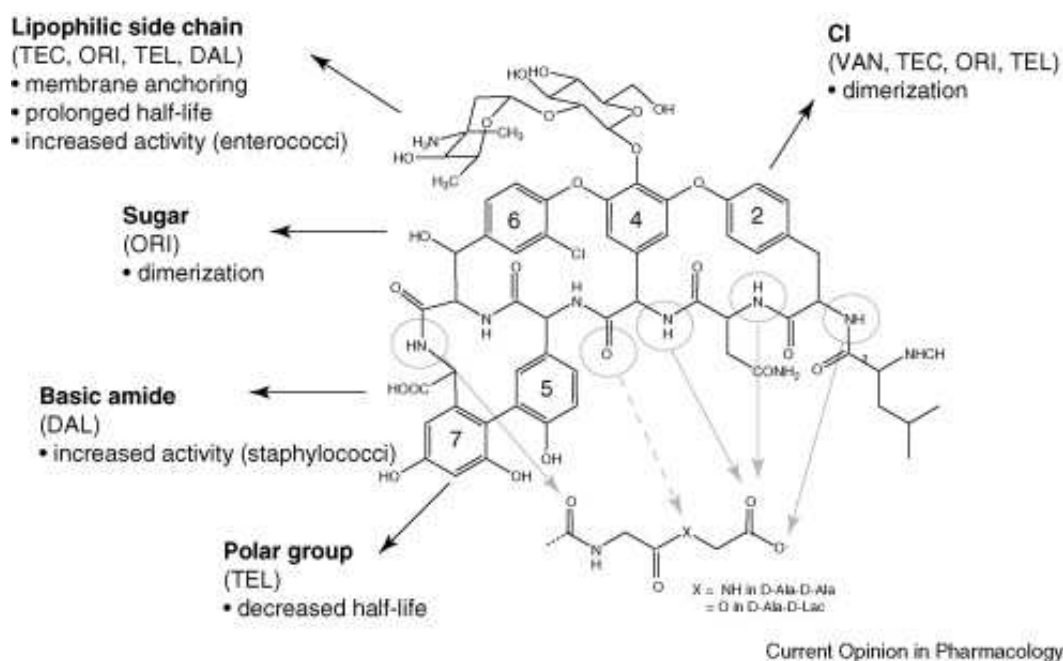


Figura 18 - Relação estrutura-atividade dos glicopéptidos e o impacto na actividade e farmacocinética das modificações introduzidas na teicoplanina (TEC), oritavancina (ORI), telavancina (TEL) e dalbavancina (DAL) (Van Bambeke 2004).

A dalbavancina partilha o mesmo mecanismo de acção com outros glicopéptidos, ou seja, tem a capacidade de disrupção da PC bacteriana, evitando a transpeptidação, uma vez que se liga ao carbono terminal da porção D-alanil-D-alanina cadeias de peptidoglicano em crescimento. Além disso, a dalbavancina é capaz de dimerizar e fixar-se na MC, resultando num aumento da afinidade e estabilização para o alvo peptidoglicano. Estes mecanismos parecem ser a base do rápido efeito bactericida deste glicopéptido (Bennett, Lewis et al. 2008).

A telavancina exhibe igualmente múltiplos mecanismos de acção (Fig.19). Além da inibição da síntese do peptidoglicano, por inibição da etapa da transglicosilação, também interfere na permeabilidade celular por dissipação do potencial membranar. Este mecanismo múltiplo pode contribuir para uma frequência de resistência bacteriana reduzida (Shaw, Seroogy et al. 2005).

A oritavancina, a par da inibição da TG, exerce um efeito bactericida rápido graças à despolarização e permeabilização da MC (Fig. 20) (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

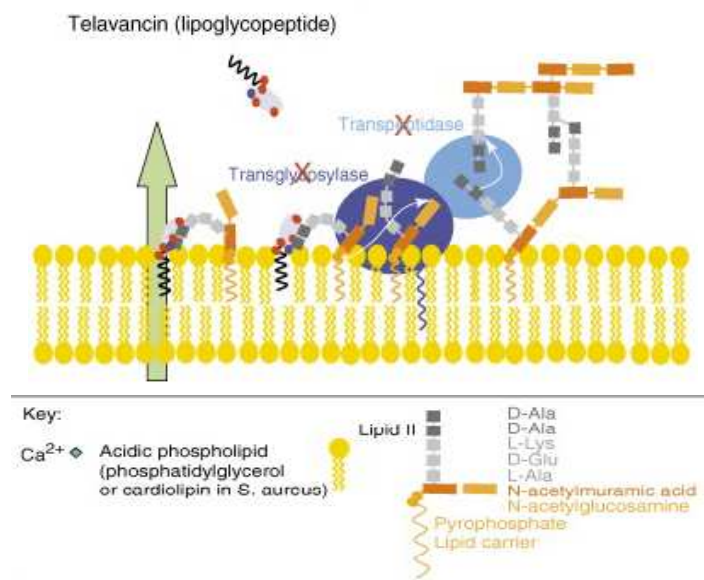


Figura 19 - Mecanismo de ação múltiplo da telavancina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

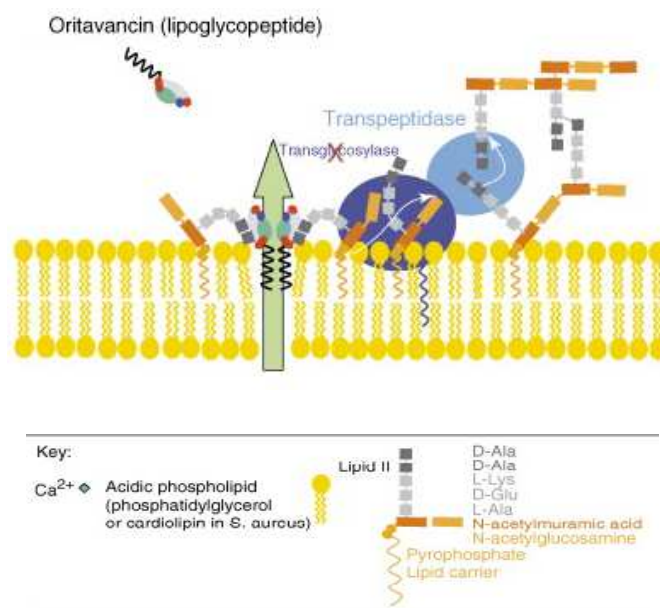


Figura 20 - Mecanismo de ação múltiplo da oritavancina (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

A farmacocinética única da dalbavancina diferencia-a dos outros glicopéptidos, apresentando um  $t_{1/2}$  cinco a sete dias, o que permite uma administração uma vez por semana de um regime de duas doses (Micek 2007; Welte and Pletz 2010). Como apresenta uma fraca disponibilidade por via oral, só se encontra disponível a formulação destinada à via iv (Bennett, Lewis et al. 2008). É principalmente excretada por via urinária, sob a forma inalterada (Wong, Barriere et al. 2008). A administração da telavancina (Vibativ<sup>®</sup>) é efetuada por via iv (infusões de 60 minutos), inserida num regime de uma dose diária (Shaw, Seroogy et al. 2005; Gould, David et al. 2012).

Por sua vez, a oritavancina possui uma elevada retenção em sistemas reticuloendoteliais do fígado, rins, baço e pulmões, como resultado da acumulação da dose administrada, sendo por muito ativa contra SA intracelular (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008; Rubino, Van Wart et al. 2009); por isso, a posologia recomendada é de uma dose única de 1200mg, que mostrou ser eficaz contra MRSA causador de ISSTs complicadas (Gould, David et al. 2012). A eliminação deste glicopéptido semissintético pelas vias renal e fecal ocorre muito lentamente, o que aponta para uma acumulação tecidual rápida. Não há evidências no que respeita ao seu metabolismo (Rubino, Van Wart et al.

2009). A telavancina apresenta uma acumulação celular e  $t_{1/2}$  baixos comparativamente com a oritavancina (Van Bambeke 2004).

Tabela 4 - Parâmetros farmacocinéticos dos novos glicopéptidos (Van Bambeke 2004)

Parâmetros (unidades)	Glicopéptidos		
	Oritavancina	Telavancina	Dalbavancina
Dose	3 mg/kg/dia	7.5 mg/kg/dia	15 mg/kg
Cmax (mg/L)	31	89	312
Vd (L/kg)	-	0.1	0.11
Ligação às proteínas séricas (%)	90	90–93	98
$t_{1/2}$ (h)	360	7	149
AUC (mg.h/L)	152	600	27103

Um ensaio randomizado com dalbavancina (por via iv, 1000mg no primeiro dia, seguido de 500mg passado uma semana), quando comparada com a vancomicina, mostrou ser significativamente mais eficaz no tratamento de infecções da corrente sanguínea associadas a cateterismo (87% e 50%, respectivamente) (Micek 2007). Outros estudos em modelos de doença evidenciaram a eficácia de dalbavancina na redução de endocardite por SA com susceptibilidade reduzida aos glicopéptidos convencionais, em regime de uma dose diária (mais vantajosa que a dose semanal) (Van Bambeke 2004; Bennett, Lewis et al. 2008). Outros ensaios demonstraram o potencial antimicrobiano na terapêutica de SSTIs complicadas provocadas por MRSA (Bennett, Lewis et al. 2008; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Ao contrário da oritavancina e telavancina, a dalbavancina não é ativa contra estirpes VRSA (é ativo contra VISA), além de possuir um efeito menos bactericida (Leighton, Gottlieb et al. 2004; Scheinfeld 2006; Bennett, Lewis et al. 2008; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Estudos preliminares revelam que a telavancina apresentou níveis de cura clínica e erradicação em doentes infetados, sobretudo por MRSA, superiores aos verificados com a vancomicina (Micek 2007).

Estudos realizados revelaram que a telavancina apresenta uma actividade bactericida potente (efeito rápido) contra estirpes resistentes, incluindo MRSA, estando indicada no tratamento de SSTIs complicadas, pneumonia nosocomial (Van Bambeke 2004; Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008). Este glicopéptido revelou ser em modelos animais no tratamento de meningite, estirpes VISA inclusive (Van Bambeke, Mingeot-Leclercq et al. 2008).

Ensaio efetuado em doentes com SSTIs complicadas e bacteriemia estafilocócica, demonstraram o sucesso clínico da oritavancina equiparado ao da vancomicina; no entanto a oritavancina foi mais eficaz clinicamente e microbiologicamente quando comparado com a vancomicina ou  $\beta$ -lactâmicos, sem maior incidência de efeitos secundários (Van Bambeke 2004).

Os efeitos secundários mais observados nos ensaios com dalbavancina correspondem a náuseas, vômitos e diarreia ou obstipação, febre (37,5°C) e cefaleia (Micek 2007; Bennett, Lewis et al. 2008). Hipotensão, hipocalcemia, candidíase oral e o aumento das transaminases hepáticas correspondem a eventos adversos também descritos (Micek 2007; Bennett, Lewis et al. 2008). Efeitos como ototoxicidade, nefrotoxicidade e “*red-man-syndrome*” não foram descritos nos ensaios (Bennett, Lewis et al. 2008).

Estudos de segurança indicam que a telavancina é bem tolerada e os eventos adversos ligeiros (distúrbios do paladar e cefaleias) (Shaw, Seroogy et al. 2005). Os efeitos descritos foram: urticária e náuseas, rubor facial e prurido; todos eles resolveram espontaneamente. Também ocorreram reações no local da injeção (dor e formigamento) e

os níveis do tempo de protrombina aumentaram transitoriamente, não significando risco maior de hemorragia. Verificou-se o aumento do intervalo QT, mas não tão evidente como no caso da moxifloxacina (Shaw, Seroogy et al. 2005).

A oritavancina mostrou um bom perfil de segurança em estudos realizados, em que não houve descrição de alterações hepáticas, renais ou hematológicas relevantes (Rubino, Van Wart et al. 2009). Foram reportados cefaleias, náuseas e distúrbios do sono (Micek 2007).

Relativamente a interações medicamentosas, estudos não sugerem a participação do sistema enzimático p450 no metabolismo da dalbavancina, pelo que não se espera que este antibiótico interaja com indutores ou inibidores do referido sistema. Contudo, verificou-se um efeito sinérgico com a combinação da dalbavancina e oxacilina contra algumas estirpes de SA (Bennett, Lewis et al. 2008).

### **E. Cefalosporinas de largo espectro**

O ceftobiprole (Fig.21) corresponde ao primeiro  $\beta$ -lactâmico pertencente a uma nova geração de cefalosporinas de largo espectro com actividade contra bactérias Gram positivo e Gram negativo (Murthy e Schmitt-Hoffmann 2008). A ceftarolina (Fig.21) é outra cefalosporina ativa contra um amplo espectro de procariotas Gram positivo (incluindo MRSA) e alguns Gram negativo (Welte and Pletz 2010)

As cefalosporinas são antibióticos antiparietais, pois ligam-se aos PBPs, evitando a transpeptidação na PC (Welte e Pletz 2010). O ceftobiprole apresenta elevada afinidade para a maioria dos PBPs, inclusive o PBP codificado pelo gene *mecA* (PBP<sub>2a</sub>, presente em MRSA) e resiste à acção das  $\beta$ -lactamases de classe A e C (Micek 2007; Bustos and Del Pozo 2010). O mesmo acontece com a ceftarolina, cuja MIC reduzida para estirpes MRSA (0,90  $\mu$ g/mL), explicita grande afinidade para se ligar ao PBP<sub>2a</sub> (Zhanel, Sniezek et al. 2009).

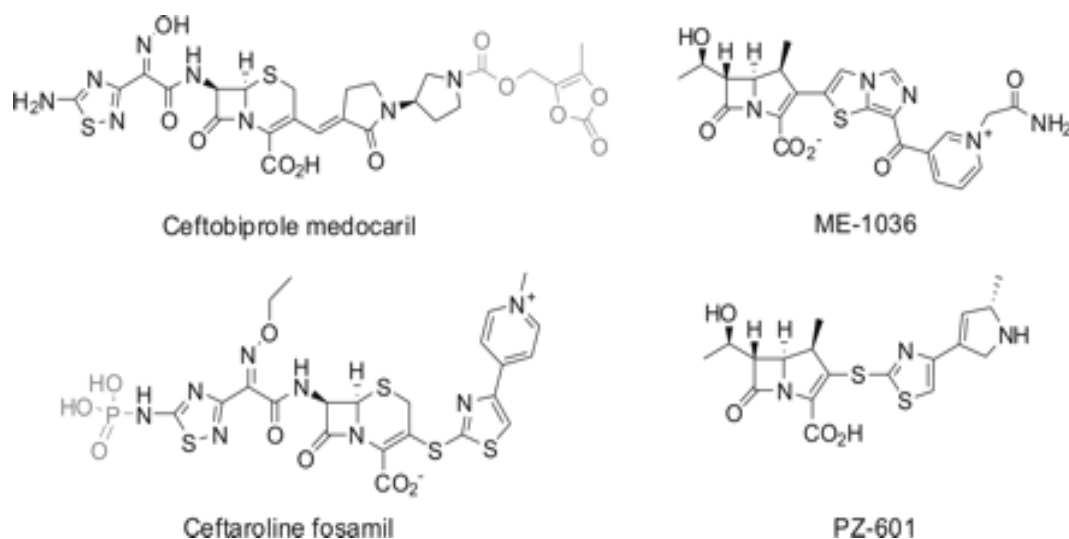


Figura 21 - Estruturas químicas dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos ativos contra MRSA. Os grupos químicos que sofrem clivagem durante a activação dos profármacos ceftobiprole medocaril e ceftarolina fosamil encontram-se destacados a cinzento (Llarrull, Fisher et al. 2009).

O PBP<sub>2a</sub> é a principal proteína envolvida na resistência de SA aos  $\beta$ -lactâmicos. Além disso, a ceftarolina parece ter a capacidade de induzir a alteração conformação do PBP<sub>2a</sub>, de modo a poder ligar-se ao centro ativo, anteriormente fechado (Llarrull, Fisher et al. 2009).

Como o ceftobiprole não é suficientemente hidrossolúvel para ser usado em humanos por via iv, administra-se um profármaco denominado ceftobiprole medocaril. Este composto hidrossolúvel é rapidamente convertido em ceftobiprole por ação das esterases plasmáticas do tipo A (Murthy e Schmitt-Hoffmann 2008; Bustos e Del Pozo 2010). Este antibiótico é administrado duas vezes por dia por via parenteral (infusão de 30 minutos) (Micek 2007; Llarrull, Fisher et al. 2009).

Estudos revelaram que a farmacocinética do ceftobiprole é linear, mesmo com uma variação de dose de 125 a 1000 mg, não se verificando acumulação apreciável aquando da administração duas ou três vezes por dia (Llarrull, Fisher et al. 2009). Este  $\beta$ -lactâmico apresenta um Vd elevado (18,4L) e uma ligação às proteínas plasmáticas fraca (16%).

O ceftobiprole é submetido a metabolização hepática mínima, é rapidamente eliminado, principalmente inalterado por excreção renal. O  $t_{1/2}$  é de três horas (Murthy e Schmitt-Hoffmann 2008; Llarrull, Fisher et al. 2009). Este antibiótico não é indutor nem inibidor do citocromo p450 e também não é substrato da P-glicoproteína (Murthy e Schmitt-Hoffmann 2008).

No que respeita a insuficientes renais, é necessário o reajuste da dose, considerando a *clearance* da creatinina (Llarrull, Fisher et al. 2009)

A ceftarolina partilha com o ceftobiprole o facto de ser o resultado da conversão de um profármaco, designado por ceftarolina fosamil, pelas fosfatases séricas. Após a administração de doses múltiplas de 600 mg por via iv (uma hora) a cada 12 horas, constata-se um Vd de 28,3L, baixa ligação proteica inferior a 20% e um  $t_{1/2}$  de 2,6 horas. Esta cefalosporina também não se acumula e a eliminação é maioritariamente por via renal, o que exige um reajuste de dose no caso de insuficiência renal moderada (400 mg de 12 em 12 horas) (Zhanel, Rossnagel et al. ; Zhanel, Sniezek et al. 2009). Por via im (volume pequeno de injeção), apresenta uma biodisponibilidade excelente, com perfil de tolerância aceitável, mantendo as concentrações do fármaco acima da MIC. Tal indica que a via im poderá ser uma alternativa para doentes em regime de ambulatório (Llarrull, Fisher et al. 2009; Ge, Maynard et al. 2010).

Ensaio clínicos desenvolvidos relativamente às SSTIs complicadas (causadas por MRSA) ena comunidade mostram que, em monoterapia, o ceftobiprole foi tão efectivo como a associação de vacomicina e ceftazidima. Outro estudo indica níveis de cura superiores em doentes infetados por MRSA e tratados com ceftobiprole (92%), comparativamente ao tratamento com vancomicina (90%) (Llarrull, Fisher et al. 2009). Em estudos *in vitro*, apresentou um efeito bactericida excelente contra estirpes MRSA isoladas nosocomiais em hospitais belgas (Denis, Deplano et al. 2006).

Estudos apontam para um efeito bactericida máximo verificado com ceftobiprole no regime de 500 mg de 12 em 12 horas no caso de SSTIs e de 500mg a cada oito horas no caso de pneumonia nosocomial (Bustos e Del Pozo 2010)(Bustos and Del Pozo 2010). Foi aprovado no Canadá sob o nome de Zeftera<sup>®</sup> (Barbour, Schmidt et al. 2009).

Comparada com outros  $\beta$ -lactâmicos, a ceftarolina (Zinforo<sup>®</sup> na Europa) possui atividade significativa contra MRSA devido provavelmente à presença de cadeias laterais mais longas, aumentando as interações com o centro ativo do PBP<sub>2a</sub> (Frampton ; Kosowska-Shick, McGhee et al. 2010; Moisan, Pruneau et al. 2010).

A ceftarolina possui um efeito bactericida potente contra estirpes VISA, VRSA e SA não suscetível à daptomicina. Estudos em modelos animais com endocardite, esta cefalosporina exibiu uma ação bactericida *in vivo* contra MRSA superior ao constatado com linezolid ou vancomicina; foi também mais eficaz contra estirpes GISA (Llarrull, Fisher et al. 2009).

Estudos *in vitro* indicaram um efeito bactericida da ceftarolina em bactérias causadores de SSTIs complicadas, pneumonia nosocomial e adquirida na comunidade (Ge, Maynard et al. 2010).

Outros estudos evidenciam uma baixa propensão para surgir resistência à ceftarolina por MSSA, MRSA, CA-MRSA e VISA (Llarrull, Fisher et al. 2009).

Ensaio de eficácia e segurança da ceftarolina desenvolvidos em relação a SSITs complicadas, comparando com a combinação de vancomicina e aztreonam, evidenciam efetividade e tolerância similares do tratamento intravenoso de ceftarolina em regime de monoterapia (percentagem de cura de infecções por MRSA foi de 95 e 92%, respetivamente) (Llarrull, Fisher et al. 2009; Zhanel, Sniezek et al. 2009).

O uso de ceftobiprole provocou como efeitos secundários mais comuns disgeusia (gosto a caramelo), náuseas e vômitos, diarreia, cefaleia e reacção no local da injeção (Micek 2007; Bustos e Del Pozo 2010; Welte e Pletz 2010).

Os eventos adversos descritos com maior frequência com o uso de ceftarolina foram náuseas, cefaleia, diarreia e prurido. Outros efeitos menos frequentes consistem em obstipação, insónia, prurido generalizado, aumento das transaminases, hipocalémia e pirrexia (Corey, Wilcox et al. 2010).

## F. Iclaprim

O iclaprim é um análogo sintético da classe das diaminopirimidinas, da qual o trimetoprim é o antibiótico representativo (Oefner, Parisi et al. 2009; Welte e Pletz 2010). O iclaprim mesilato corresponde a uma mistura racêmica composta por dois enantiômeros e ambos possuem atividade antimicrobiana potente contra um largo espectro bacteriano (Fig. 22) (Kohlhoff and Sharma 2007).

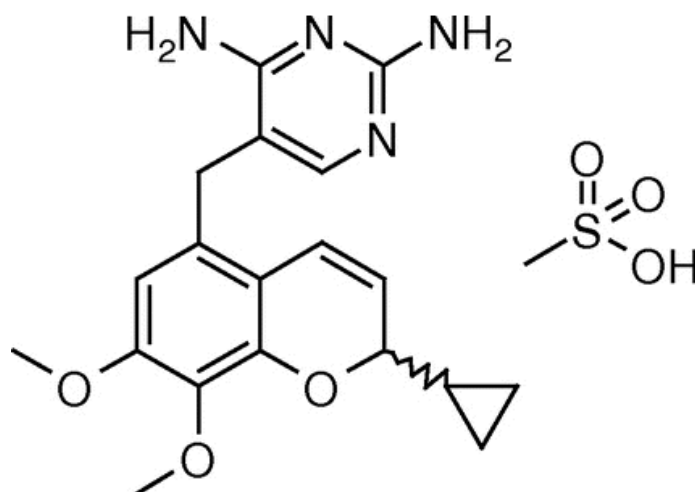


Figura 22 - Estrutura química do iclaprim (Kohlhoff e Sharma 2007)(Kohlhoff and Sharma 2007).

Esta diaminopirimidina atua por inibição da enzima dihidrofolato redutase (DHFR), uma vez que é um inibidor competitivo relativamente ao substrato dihidrofolato (Oefner, Parisi et al. 2009). Esta enzima assume um papel essencial na sobrevivência da bactéria, pois interfere na produção de tetrahydrofolato (provoca depleção da timidina monofosfato bacteriana) e, conseqüentemente, na síntese de proteínas e ácidos nucleicos (Kohlhoff e Sharma 2007; Welte e Pletz 2010).

Estas enzimas são distintas nas bactérias e nos mamíferos (homologia inferior a 30% e centro ativo diferente), pelo que ocorre inibição seletiva das DHFRs das células procarióticas, representando um excelente alvo para o desenvolvimento de novas diaminopirimidinas (Kohlhoff e Sharma 2007; Welte e Pletz 2010).

O iclaprim exibe um efeito bacteriostático contra Gram positivo de grande relevância como MRSA. Além disso, parece que a propensão para o desenvolvimento de resistência é inferior à verificada com o trimetoprim, até porque o mecanismo de ação é diferente dos agentes antibióticos disponíveis para o tratamento de infecções por MRSA (Welte e Pletz 2010).

Contudo, o suplemento de timidina antagoniza o efeito dos inibidores das DHFRs bacterianas, na medida em que passa a ocorrer em paralelo a conversão da timidina exógena a timidina monofosfato, mediada pela timidina cinase. As grandes concentrações de timidina existentes no pus humano, pensa-se que se podem traduzir numa menor eficiência da terapêutica com inibidores das DHFRs de infecções purulentas (Welte e Pletz 2010).

A administração iv de doses de 0,4 ou 0,8 mg/kg de iclaprim (infusão de 30 minutos) e 1,6 mg/kg (infusão de 60 minutos) resultou num  $t_{1/2}$  de 2,3-3,6 horas, independentemente da dose (Kohlhoff and Sharma 2007). Estudos farmacocinéticos revelaram que o iclaprim liga-se fortemente às proteínas plasmáticas (cerca de 93%) e tem a capacidade de penetrar na maioria dos tecidos, não atravessando facilmente a BHE (Kohlhoff and Sharma 2007; Laue, Valensise et al. 2009). As vias metabólicas principais envolvem O-desmetilação e hidroxilação, seguidas de glucoronidação é predominantemente eliminado por via fecal após administração oral e iv e via biliar associada no caso de uma dose parenteral (Kohlhoff e Sharma 2007).

As formulações orais que se encontram em desenvolvimento, sob a forma de solução ou cápsula, possuem uma biodisponibilidade de cerca de 40%, o que confirma a facilidade em atingir níveis séricos semelhantes aos verificados com a formulação intravenosa de iclaprim. A formulação oral seria vantajosa no que respeita à substituição da via iv pela via oral, reduzindo o período de hospitalização e os custos associados (Kohlhoff e Sharma 2007).

Estudos animais revelaram que o aumento de doses de iclaprim foi eficaz em casos de peritonite por MRSA (Kohlhoff e Sharma 2007).

Estudos *in vitro* apontam para um rápido efeito antimicrobiano contra MRSA (99,9% atingido ao fim de 3-5 horas) exibido pelo iclaprim (Kohlhoff e Sharma 2007; Laue, Valensise et al. 2009).

Ensaio comparativo de iclaprim e vancomicina para o tratamento de SSITs complicadas indicaram que a diaminopirimidina (0,8 mg/kg e 1,6 mg/kg duas vezes por dia) tinha taxas de cura similares às da vancomicina (1 g duas vezes por dia), 92,9% e 90,3%, 92,9%, respectivamente (Welte e Pletz 2010).

Ensaio no âmbito do tratamento da pneumonia foram iniciados, tendo em conta a grande capacidade de penetração no tecido pulmonar do iclaprim, mas foram suspensos por motivos não clínicos. Tal justifica a necessidade de estudos no contexto do tratamento de pneumonias resistentes a antibioterapia (Welte e Pletz 2010).

Além disso, estudos mostraram a atividade bactericida do iclaprim contra um grande espectro de bactérias causadoras de infeções do trato respiratório (Kohlhoff e Sharma 2007).

Um estudo clínico comparativo entre o iclaprim (94,7%) e linezolid (98,8%) não evidenciou superioridade do segundo relativamente ao inibidor das DHFR no tratamento de SSTIs (70% causadas por SA, sendo 25% por MRSA), tendo sido aprovado o seu uso pela *FDA* para o tratamento de SSTIs complicadas (Kohlhoff e Sharma 2007; Micek 2007).

Estudos de segurança e tolerância do iclaprim, demonstraram um perfil favorável sendo os eventos adversos mais comuns náuseas e cefaleias. Todavia verificou-se um prolongamento do intervalo QT, mas sem manifestações cardíacas descritas (Kohlhoff e Sharma 2007).

## VII- CONCLUSÕES

SA desenvolveu rapidamente resistência à penicilina através da aquisição de genes codificadores de  $\beta$ -lactamases, sendo urgente o desenvolvimento de antibióticos resistentes à ação destas enzimas. Assim surgiu uma nova classe de  $\beta$ -lactâmicos, eficaz no tratamento de infecções causadas por MSSA, as isoxazolilpenicilinas e a meticilina. No entanto, surgiram casos de infecções adquiridas no hospital e na comunidade originadas por estirpes MRSA, cujo mecanismo de resistência baseia-se na aquisição do gene *mecA*, codificador de um PBP distinto dos PBPs nativos: PBP<sub>2a</sub>. A baixa afinidade dos  $\beta$ -lactâmicos para este PBP<sub>2a</sub> torna-os ineficazes no tratamento com B-lactâmicos (exceto as cefalosporinas de 5ª geração), motivando o uso de glicopéptidos (vancomicina).

A vancomicina apresenta um efeito bactericida lento e baixo poder de penetração nos tecidos.

Com o surgimento de estirpes VISA (ou GISA), hVISA e VRSA, além de determinadas estirpes MRSA, o tratamento convencional com vancomicina não se revelou eficaz, suscitando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas como o linezolid, tigeciclina, daptomicina, novos glicopéptidos, cefalosporinas de 5ª geração e iclaprim.

O linezolid é uma oxazolidinona, com efeito bacteriostático e excelente capacidade de penetração tecidual, disponível em formulações oral e parenteral. Tem como desvantagens a toxicidade hematológica e o risco de síndrome serotoninérgica. É indicado para SSITs (infecções necrosantes), infecções ósseas e articulares, infecções por CA-MRSA e pneumonia.

A tigeciclina pertence às glicilciclinas e está indicada no tratamento de infecções complicadas da pele e tecidos moles e infecções intrabdominais. Possui uma boa penetração alveolar, mas atinge níveis reduzidos no fluido epitelial (necessidade de doses mais elevadas). Apresenta efeito bacteriostático. Este antibiótico tem a desvantagem de ser administrada exclusivamente por via injetável.

A daptomicina corresponde a um lipopéptido que exibe um efeito bactericida rápido e está indicado em SSTIs complicadas, bacteriémias e endocardite do lado direito. As desvantagens assentam na miotoxicidade, inativação pelo surfactante pulmonar, não podendo ser utilizado nas infeções pulmonares.

Os novos glicopéptidos em curso (dalbavancina, telavancina e oritavancina) possuem um efeito bactericida rápido e um esquema posológico atrativo (intervalo mínimo de 24h entre administrações) graças ao  $t_{1/2}$  longo. A dalbavancina demonstrou ser eficaz no tratamento de SSTIs complicadas e bacteriémias associadas a cateterismo. A telavancina está indicada no tratamento de SSTIs complicadas e pneumonia nosocomial. A oritavancina demonstrou eficácia clínica e microbiológica em doentes com SSTIs complicadas, bacteriémias associadas a cateterismo e pneumonia nosocomial. No geral, estes antibióticos são bem tolerados e os seus efeitos adversos são ligeiros, destacando-se o aumento do intervalo QT no caso da telavancina.

As cefalosporinas de 5ª geração (ceftobiprolel e ceftarolina) são profármacos, com ação bactericida após conversão rápida pelas fosfatases séricas. Possuem eficácia comprovada na terapêutica de SSTIs complicadas, pneumonia nosocomial e adquirida na comunidade. Apresentam baixa propensão para o desenvolvimento de resistência e apresentam um bom perfil de tolerância.

O iclaprim é diaminopirimidina e apresenta efeito bacteriostático contra as estirpes MRSA e baixo risco de desenvolvimento de resistência. Com formulações orais e intravenosas é eficaz no tratamento de SSTIs. Apresenta boa penetração no tecido pulmonar, sugerindo a possível eficácia (não comprovada por estudos) contra infeções respiratórias resistentes a antibioterapia convencional. De referir o aumento do intervalo QT como reacção adversa.

Dada a evolução destas resistências descritas, as infeções por SA constituem um problema de Saúde Pública, particularmente relevante no nosso País, dada a elevada incidência em MRSA. É assim importante realçar a atividade das novas moléculas contra MRSA e VRE.

## VIII- BIBLIOGRAFIA

Aritaka, N., H. Hanaki, et al. (2001). "Combination effect of vancomycin and beta-lactams against a *Staphylococcus aureus* strain, Mu3, with heterogeneous resistance to vancomycin." *Antimicrob Agents Chemother* **45**(4): 1292-4.

Bamberger, D. M. (2008). "Bacteremia and endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the potential role of daptomycin." *Ther Clin Risk Manag* **3**(4): 675-84.

Barbour, A., S. Schmidt, et al. (2009). "Ceftobiprole: a novel cephalosporin with activity against Gram-positive and Gram-negative pathogens, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)." *Int J Antimicrob Agents* **34**(1): 1-7.

Bennett, J. W., J. S. Lewis, et al. (2008). "Dalbavancin in the treatment of complicated skin and soft-tissue infections: a review." *Ther Clin Risk Manag* **4**(1): 31-40.

Beringer, P., M. Nguyen, et al. (2005). "Absolute bioavailability and pharmacokinetics of linezolid in hospitalized patients given enteral feedings." *Antimicrob Agents Chemother* **49**(9): 3676-81.

Bradford, P. A., D. T. Weaver-Sands, et al. (2005). "In vitro activity of tigecycline against isolates from patients enrolled in phase 3 clinical trials of treatment for complicated skin and skin-structure infections and complicated intra-abdominal infections." *Clin Infect Dis* **41 Suppl 5**: S315-32.

Brown, D. F., D. I. Edwards, et al. (2005). "Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)." *J Antimicrob Chemother* **56**(6): 1000-18.

Bustos, C. and J. L. Del Pozo (2010). "Emerging agents to combat complicated and resistant infections: focus on ceftobiprole." *Infect Drug Resist* **3**: 5-14.

Campbell, M. L., D. Marchaim, et al. (2012). "Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections with a Minimal Inhibitory Concentration of 2

mug/mL to Vancomycin: Old (Trimethoprim/Sulfamethoxazole) versus New (Daptomycin or Linezolid) Agents (December)." Ann Pharmacother.

Chakraborty, A., S. Roy, et al. (2009). "Comparison of the pharmacokinetics, safety and tolerability of daptomycin in healthy adult volunteers following intravenous administration by 30 min infusion or 2 min injection." J Antimicrob Chemother **64**(1): 151-8.

Chavez, T. T. and C. F. Decker (2008). "Health care-associated MRSA versus community-associated MRSA." Dis Mon **54**(12): 763-8.

Corey, G. R., M. Wilcox, et al. (2010). "Integrated analysis of CANVAS 1 and 2: phase 3, multicenter, randomized, double-blind studies to evaluate the safety and efficacy of ceftaroline versus vancomycin plus aztreonam in complicated skin and skin-structure infection." Clin Infect Dis **51**(6): 641-50.

Davis, S. L., M. B. Perri, et al. (2007). "Epidemiology and outcomes of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection." J Clin Microbiol **45**(6): 1705-11.

Denis, O., A. Deplano, et al. (2006). "In vitro activities of ceftobiprole, tigecycline, daptomycin, and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian hospitals." Antimicrob Agents Chemother **50**(8): 2680-5.

Doan, T. L., H. B. Fung, et al. (2006). "Tigecycline: a glycylicycline antimicrobial agent." Clin Ther **28**(8): 1079-106.

Dvorchik, B., R. D. Arbeit, et al. (2004). "Population pharmacokinetics of daptomycin." Antimicrob Agents Chemother **48**(8): 2799-807.

Dvorchik, B. H., D. Brazier, et al. (2003). "Daptomycin pharmacokinetics and safety following administration of escalating doses once daily to healthy subjects." Antimicrob Agents Chemother **47**(4): 1318-23.

Ferrara, A. M. (2007). "Treatment of hospital-acquired pneumonia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Int J Antimicrob Agents* **30**(1): 19-24.

Ferreira, W. F. C. and J. C. F. d. Sousa, Eds. (2000). *Microbiologia*. Lisboa, Lidel - Edições Técnicas

Fluit A.D.C., V. M. R., Schmitz Franz-Josef (2001). "Molecular Detection of Antimicrobial Resistance." *American Society for Microbiology* **14**: 836-871.

Frampton, J. E. "Ceftaroline fosamil: a review of its use in the treatment of complicated skin and soft tissue infections and community-acquired pneumonia." *Drugs* **73**(10): 1067-94.

French, G. L. (2006). "Bactericidal agents in the treatment of MRSA infections--the potential role of daptomycin." *J Antimicrob Chemother* **58**(6): 1107-17.

Fritsche, T. R., H. S. Sader, et al. (2005). "Antimicrobial activity of tigecycline tested against organisms causing community-acquired respiratory tract infection and nosocomial pneumonia." *Diagn Microbiol Infect Dis* **52**(3): 187-93.

Fritsche, T. R., H. S. Sader, et al. (2005). "Potency and spectrum of tigecycline tested against an international collection of bacterial pathogens associated with skin and soft tissue infections (2000-2004)." *Diagn Microbiol Infect Dis* **52**(3): 195-201.

Garcia-Castellanos, R., G. Mallorqui-Fernandez, et al. (2004). "On the transcriptional regulation of methicillin resistance: MecI repressor in complex with its operator." *J Biol Chem* **279**(17): 17888-96.

Ge, Y., D. Maynard, et al. (2010). "Comparative pharmacokinetics of ceftaroline in rats, rabbits, and monkeys following a single intravenous or intramuscular injection." *Antimicrob Agents Chemother* **54**(2): 912-4.

Goldberg, E., M. Paul, et al. "Co-trimoxazole versus vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a retrospective cohort study." *J Antimicrob Chemother* **65**(8): 1779-83.

Gordon, R. J. and F. D. Lowy (2008). "Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection." Clin Infect Dis **46 Suppl 5**: S350-9.

Gould, I. M., M. Z. David, et al. (2012). "New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance." Int J Antimicrob Agents **39**(2): 96-104.

Hiramatsu, K. (2001). "Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance." Lancet Infect Dis **1**(3): 147-55.

Ito, T., K. Okuma, et al. (2003). "Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC." Drug Resist Updat **6**(1): 41-52.

Jones, R. N. and M. A. Pfaller (1998). "Bacterial resistance: a worldwide problem." Diagn Microbiol Infect Dis **31**(2): 379-88.

Kasbekar, N. (2006). "Tigecycline: a new glycycline antimicrobial agent." Am J Health Syst Pharm **63**(13): 1235-43.

Klein, E., D. L. Smith, et al. (2007). "Hospitalizations and Deaths Caused by Methicillin-Resistant United States, 1999–2005 *Staphylococcus aureus*." Emerging Infectious Diseases **13**: 1840-1846.

Kohlhoff, S. A. and R. Sharma (2007). "Iclaprim." Expert Opin Investig Drugs **16**(9): 1441-8.

Kondo, N., K. Kuwahara-Arai, et al. (2001). "Eagle-type methicillin resistance: new phenotype of high methicillin resistance under mec regulator gene control." Antimicrob Agents Chemother **45**(3): 815-24.

Kosowska-Shick, K., P. L. McGhee, et al. (2010). "Affinity of ceftaroline and other beta-lactams for penicillin-binding proteins from *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*." Antimicrob Agents Chemother **54**(5): 1670-7.

Laue, H., T. Valensise, et al. (2009). "In vitro bactericidal activity of iclaprim in human plasma." Antimicrob Agents Chemother **53**(10): 4542-4.

Leighton, A., A. B. Gottlieb, et al. (2004). "Tolerability, pharmacokinetics, and serum bactericidal activity of intravenous dalbavancin in healthy volunteers." Antimicrob Agents Chemother **48**(3): 940-5.

Llarrull, L. I., J. F. Fisher, et al. (2009). "Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and insights into new beta-lactams that meet the challenge." Antimicrob Agents Chemother **53**(10): 4051-63.

MacGowan, A. P. (2003). "Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of linezolid in healthy volunteers and patients with Gram-positive infections." J Antimicrob Chemother **51 Suppl 2**: ii17-25.

Melo-Cristino, J., C. Resina, et al. (2013). First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. The Lancet. Lisboa. **382**: 205.

Mendes, R. E., H. S. Sader, et al. (2008). "Antimicrobial activity of tigecycline against community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from North American medical centers." Diagn Microbiol Infect Dis **60**(4): 433-6.

Micek, S. T. (2007). "Alternatives to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections." Clin Infect Dis **45 Suppl 3**: S184-90.

Moellering, R. C., Jr. (2011). "MRSA: the first half century." J Antimicrob Chemother **67**(1): 4-11.

Moisan, H., M. Pruneau, et al. (2010). "Binding of ceftaroline to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*." J Antimicrob Chemother **65**(4): 713-6.

Murthy, B. and A. Schmitt-Hoffmann (2008). "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ceftobiprole, an anti-MRSA cephalosporin with broad-spectrum activity." Clin Pharmacokinet **47**(1): 21-33.

Mutschler, E. and H. Derendorf, Eds. (1995). Drug Actions: Basic Principles and Therapeutic Aspects. Stuttgart, Medpharm Scientific Publishers.

Nguyen, H. M. and C. J. Graber (2010). "Limitations of antibiotic options for invasive infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: is combination therapy the answer?" J Antimicrob Chemother **65**(1): 24-36.

Niemeyer, D. M., M. J. Pucci, et al. (1996). "Role of *mecA* transcriptional regulation in the phenotypic expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*." J Bacteriol **178**(18): 5464-71.

Oefner, C., S. Parisi, et al. (2009). "Inhibitory properties and X-ray crystallographic study of the binding of AR-101, AR-102 and iclaprim in ternary complexes with NADPH and dihydrofolate reductase from *Staphylococcus aureus*." Acta Crystallogr D Biol Crystallogr **65**(Pt 8): 751-7.

Pace, J. L. and G. Yang (2006). "Glycopeptides: Update on an old successful antibiotic class." Biochem Pharmacol **71**(7): 968-80.

Pankey, G. A. (2005). "Tigecycline." J Antimicrob Chemother **56**(3): 470-80.

Pucci, M. J. and T. J. Dougherty (2002). "Direct quantitation of the numbers of individual penicillin-binding proteins per cell in *Staphylococcus aureus*." J Bacteriol **184**(2): 588-91.

Rubino, C. M., S. A. Van Wart, et al. (2009). "Oritavancin population pharmacokinetics in healthy subjects and patients with complicated skin and skin structure infections or bacteremia." Antimicrob Agents Chemother **53**(10): 4422-8.

Salgado, C. D., B. M. Farr, et al. (2003). "Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors." Clin Infect Dis **36**(2): 131-9.

Sandberg, A., K. S. Jensen, et al. "Intra- and extracellular activity of linezolid against *Staphylococcus aureus* in vivo and in vitro." J Antimicrob Chemother **65**(5): 962-73.

Scheinfeld, N. (2006). "Dalbavancin: a review for dermatologists." Dermatol Online J **12**(4): 6.

Sharpe, J. N., E. H. Shively, et al. (2005). "Clinical and economic outcomes of oral linezolid versus intravenous vancomycin in the treatment of MRSA-complicated, lower-extremity skin and soft-tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." Am J Surg **189**(4): 425-8.

Shaw, J. P., J. Seroogy, et al. (2005). "Pharmacokinetics, serum inhibitory and bactericidal activity, and safety of telavancin in healthy subjects." Antimicrob Agents Chemother **49**(1): 195-201.

Skov, R., K. Christiansen, et al. (2012). "Update on the prevention and control of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)." Int J Antimicrob Agents **39**(3): 193-200.

Slatter, J. G., D. J. Stalker, et al. (2001). "Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of linezolid following an oral dose of [(14)C]linezolid to healthy human subjects." Drug Metab Dispos **29**(8): 1136-45.

Sousa, J. C. d., Ed. (2006). Manual de Antibióticos Antibacterianos. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa.

Takhi, M., G. Singh, et al. (2008). "Novel and potent oxazolidinone antibacterials featuring 3-indolylglyoxamide substituents." Bioorg Med Chem Lett **18**(18): 5150-5.

Tenover, F. C. (2001). "Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: an overview." Clin Infect Dis **33 Suppl 3**: S108-15.

Traunmuller, F., M. V. Schintler, et al. (2010). "Soft tissue and bone penetration abilities of daptomycin in diabetic patients with bacterial foot infections." J Antimicrob Chemother **65**(6): 1252-7.

Van Bambeke, F. (2004). "Glycopeptides in clinical development: pharmacological profile and clinical perspectives." Curr Opin Pharmacol **4**(5): 471-8.

Van Bambeke, F., M. P. Mingeot-Leclercq, et al. (2008). "The bacterial envelope as a target for novel anti-MRSA antibiotics." Trends Pharmacol Sci **29**(3): 124-34.

Van Wart, S. A., B. B. Cirincione, et al. (2007). "Population pharmacokinetics of tigecycline in healthy volunteers." J Clin Pharmacol **47**(6): 727-37.

Weigelt, J., H. M. Kaafarani, et al. (2004). "Linezolid eradicates MRSA better than vancomycin from surgical-site infections." Am J Surg **188**(6): 760-6.

Welshman, I. R., T. A. Sisson, et al. (2001). "Linezolid absolute bioavailability and the effect of food on oral bioavailability." Biopharm Drug Dispos **22**(3): 91-7.

Welte, T. and M. W. Pletz (2010). "Antimicrobial treatment of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pneumonia: current and future options." Int J Antimicrob Agents **36**(5): 391-400.

Wong, S. L., S. L. Barriere, et al. (2008). "Multiple-dose pharmacokinetics of intravenous telavancin in healthy male and female subjects." J Antimicrob Chemother **62**(4): 780-3.

Zapun, A., C. Contreras-Martel, et al. (2008). "Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance." FEMS Microbiol Rev **32**(2): 361-85.

Zhanel, G. G., E. Rossnagel, et al. "Ceftaroline pharmacodynamic activity versus community-associated and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, heteroresistant vancomycin-intermediate *S. aureus*, vancomycin-intermediate *S. aureus* and vancomycin-resistant *S. aureus* using an in vitro model." J Antimicrob Chemother **66**(6): 1301-5.

Zhanel, G. G., G. Sniezek, et al. (2009). "Ceftaroline: a novel broad-spectrum cephalosporin with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." Drugs **69**(7): 809-31.