

Camila Martins de Aguiar Gonçalves

A importância clínica dos antibióticos β -lactâmicos

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2019

Camila Martins de Aguiar Gonçalves

A importância clínica dos antibióticos β -lactâmicos

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2019

A importância clínica dos antibióticos β -lactâmicos

Camila Martins de Aguiar Gonçalves

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção de grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Sumário

Os antibióticos β -lactâmicos são inibidores da biossíntese do peptidoglicano, molécula exclusiva da parede celular das bactérias, sendo considerados antibióticos antiparietais. Portanto, são desprovidos de atividade antifúngica, antiprotozoário e de ação viral. Como as células do Homem são eucariotas, estas não possuem parede celular e, por isso, os antimicrobianos β -lactâmicos não exibem grandes efeitos secundários sobre as células do organismo humano, têm atividade sobre bactérias de Gram positivo e de Gram negativo, aeróbias e anaeróbias, têm uma boa distribuição corpórea e exibem atividade bactericida, revelando sinergismo com outros antibióticos bactericidas, o que justifica a sua grande utilização clínica.

Os isolados clínicos têm revelado resistência a esta família de antibióticos sendo de realçar entre as bactérias de Gram positivo, a presença de MRSA, e a presença de isolados produtores de carbapenemases entre as bactérias de Gram negativo, nomeadamente em *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

Neste trabalho são discutidas novas moléculas antibióticas β -lactâmicas e outras alternativas antimicrobianas na clínica, nomeadamente antibióticos antimembranares.

Palavras-chave: β -lactâmico, β -lactamases, resistência, antibiótico, bactérias multirresistentes.

Abstract

β -lactam antibiotics are inhibitors of peptidoglycan biosynthesis, an exclusive molecule of the bacterial cell wall, being considered antiparietal antibiotics. They are therefore devoid of antifungal, antiprotozoal and viral action. As human cells are eukaryotic, they have no cell wall and therefore β -lactam antimicrobials do not exhibit major side effects on human body cells, have activity on Gram positive and Gram negative bacteria, aerobic and anaerobic, have good body distribution and exhibit bactericidal activity, showing synergism with other bactericidal antibiotics, which justifies their widespread clinical use.

Clinical isolates have shown resistance to this family of antibiotics. Of note is Gram positive bacteria, the presence of MRSA, and the presence of carbapenemase producing isolates among Gram-negative bacteria, namely in *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*.

In this paper new β -lactam antibiotic molecules and other antimicrobial alternatives in the clinic are discussed, namely antimembrane antibiotics.

Keywords: β -lactam, β -lactamases, resistance, antibiotic, multiresistant bacteria.

Agradecimentos

Decidir trilhar a longa e atribulada viagem da investigação científica rumo ao conhecimento é, além de um desafio pessoal, aceitar de forma humilde e agradecida o contributo de diversas pessoas.

Neste percurso pude contar com o apoio especial e dedicado do meu orientador, Professor Doutor João Carlos Sousa, que, com o seu rigor científico, saudável exigência, visão crítica e oportuna, disponibilidade e vontade de ensinar, permitiu enriquecer decisivamente todas as etapas subjacentes ao trabalho realizado.

Também agradeço à minha família.

Destaco o meu marido, Alexandre Gonzaga, pelo amor, partilha, companheirismo e apoio incondicional. Ajudou-me a compreender que o motivo fundamental deste trabalho está alicerçado no sentido de missão que todos os profissionais da área da saúde devem possuir, pois, o investigador almeja sempre obter resultados decisivos que favoreçam quem mais precisa.

Sublinho o papel dos meus cunhados – Olga Gonçalves, José Luís Gonçalves e Helena Leite, que criaram as condições para que a frequência letiva e a elaboração da presente dissertação fossem exequíveis.

Não posso deixar de lembrar o apoio da minha família que se encontra no Brasil, os maiores incentivadores na busca do conhecimento e da qualificação profissional. Aos meus pais – Airton Aguiar e Socorro Martins – e irmãos – Marcela Aguiar, Mirela Aguiar e Norton Aguiar – a minha eterna gratidão.

Finalmente, dedico o fruto desta dissertação ao meu querido e amado filho, Diogo de Aguiar Gonçalves.

Índice

Sumário.....	i
Abstract.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Índice de Figuras.....	vi
Índice de Tabelas.....	viii
Abreviaturas.....	ix
I. Introdução.....	1
II. Estrutura celular bacteriana.....	5
2.1. Parede celular.....	6
2.1.1. Parede celular das bactérias de Gram positivo.....	7
2.1.2. Parede celular das bactérias de Gram negativo.....	9
2.1.3. Parede celular de bacilos álcool-ácido-resistentes.....	11
III. Estrutura química dos antibióticos β -lactâmicos.....	13
IV. Mecanismo de ação dos antibióticos β -lactâmicos.....	15
V. Resistência bacteriana aos antibióticos β -lactâmicos.....	17
5.1. Resistência em bactérias de Gram positivo.....	17
5.2. Resistência em bactérias de Gram negativo.....	20
VI. Farmacologia dos β -lactâmicos.....	26
VII. Uso clínico dos β -lactâmicos.....	30
7.1. Infecções de pele e tecidos moles.....	30
7.2. Infecções do trato respiratório superior.....	34
7.3. Infecções do trato respiratório inferior.....	36
7.4. Infecções do trato urinário.....	40
7.5. Infecções genitais.....	40
7.6. Infecções do sistema nervoso central.....	40
7.7. Infecções do trato gastrointestinal.....	41

7.8. Uso clínico dos β -lactâmicos em pacientes especiais	41
7.9. Efeitos secundários	42
VIII. Conclusão	44
IX. Referências	46

Índice de Figuras

Figura 1: Paul Ehrlich no seu laboratório e medalha comemorativa elaborada em 1973 para a série “Grandes Homens da Medicina”	1
Figura 2: Placa de Petri com uma cultura de <i>Staphylococcus aureus</i> contaminada com o fungo ambiental <i>Penicillium notatum</i> , produtor de Penicilina G, antibiótico β -lactâmico.....	2
Figura 3: Cronologia da descoberta temporal de novas moléculas antimicrobianas, de uso clínico	3
Figura 4: Classificação dos antibióticos de acordo com os seus mecanismos de ação ..	3
Figura 5: Estrutura celular de um microrganismo procariota e eucariota.....	5
Figura 6: Ultraestrutura de uma célula bacteriana de Gram positivo (PC: parede celular, N: nucleóide, R: ribossomas)	6
Figura 7: Estrutura básica do monómero de peptidoglicano (NAMA: ácido N-acetilmurâmico; NAG: N-acetilglucosamina)	6
Figura 8: Parede celular de bactéria de Gram positivo e sua respectiva ultraestrutura	7
Figura 9: Estrutura química do peptidoglicano (PG) em <i>S. aureus</i>	8
Figura 10: Estrutura dos ácidos teicóicos na PC bacteriana	8
Figura 11: Parede celular de bactéria de Gram negativo (OM: membrana externa; PG: cadeia de peptidoglicano; MC: membrana citoplasmática)	9
Figura 12: Organização química da OM e estrutura do LPS	9
Figura 13: Estrutura molecular do LPS de <i>Escherichia coli</i> . A ligação do lipídeo A à cadeia polissacarídica é feita por um grupo químico KDO.....	10
Figura 14: Canais aquosos de porina na OM.....	11
Figura 15: Estrutura química da PC de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	12
Figura 16: Ultraestrutura da PC de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . ED - camada de ácidos micólicos; ET - camada de arabinolactano; PG - peptidoglicano; MC - membrana citoplasmática	12
Figura 17: Estrutura química dos β -lactâmicos que inclui o anel β -lactâmico	13
Figura 18: Estrutura geral das penicilinas e cefalosporinas	13
Figura 19: Divisão da célula bacteriana por cisão binária, com formação de um septo parietal na divisão celular.....	15

Figura 20: Colocação dos NAG-NAMA-pentapeptídeo no periplasma bacteriano e sua inserção na PC mediada pelas TP e TG.....	16
Figura 21: Lise celular bacteriana mediada por penicilina G.....	16
Figura 22: Inativação da Penicilina G por penicilinases.....	17
Figura 23: Estrutura química das isoxazolilpenicilinas - dicloxacilina e flucloxacilina...	18
Figura 24: Mecanismo de ação da vancomicina, através da ligação desta com D-alanil-D-alanina mediada por 5 pontes de hidrogénio	19
Figura 25: Comportamento da vancomicina nas estirpes de <i>S. aureus</i> MSSA (esquerda); ao centro o comportamento da vancomicina nas estirpes VISA e hVISA; à direita, o comportamento das estirpes VRSA.....	20
Figura 26: Estrutura de penicilina G (aniónica) e das aminopenicilinas: ampicilina e amoxicilina (zwitteriónicas).....	21
Figura 27: As aminopenicilinas e a piperacilina associadas ao respectivo inibidor suicida.....	22
Figura 28: Molécula de uma cefalosporina com um radical químico metoximino protetor do anel β -lactâmico, impedindo a hidrólise por TEM-1 e SHV-1.....	22
Figura 29: Estrutura química dos carbapenemos terapêuticos.....	24
Figura 30: Cinética da absorção oral da ampicilina e amoxicilina, na mesma dose.....	26
Figura 31: Níveis plasmáticos de penicilina, após administração oral e I.M.....	27
Figura 32: Níveis plasmáticos de penicilina G (hidrossolúvel)e penicilina benzatínica (suspensão).....	28
Figura 33: Comparação do T > CMI de β -lactâmicos, em função da via de administração	29
Figura 34: Cinética da formação de biofilmes bacterianos.....	32
Figura 35: Estrutura química de oritavancina e da vancomicina.....	34
Figura 36: Vesiculação em bactérias de Gram negativo	35
Figura 37: Cinética temporal da resistência aos antibióticos em <i>N. gonorrhoeae</i>	36
Figura 38: Estrutura química do carbapenemo meropenemo associado ao inibidor de β -lactamases vaborbactam	37
Figura 39: Estrutura química de cefiderocol.....	38
Figura 40: Mecanismo de ação da colistina (polimixina E)	39
Figura 41: Mecanismo das reações alérgicas dos β -lactâmicos.....	43

Índice de Tabelas

Tabela 1. Classificação das β -lactamases de Ambler24

Abreviaturas

7-ACA: Ácido 7-aminocefalosporânico

6-APA: Ácido 6-aminopenicilâmico

AMPc: Cefalosporinase codificada cromossomicamente

CAMP: Peptídeos antimicrobianos catiónicos

CMI: Concentração mínima inibitória

CRAB: *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenemos

ESBLs: β -lactamases de espectro estendido

CA-MRSA: MRSA adquiridos na comunidade

HA-MRSA: MRSA adquiridos em ambiente hospitalar

LA-MRSA: MRSA adquiridos na pecuária

IM: Intramuscular

IV: Intravenoso

MBLs: Metallo- β -lactamases

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina

MDR: Estirpes resistentes a vários antibióticos.

NAG: N-acetilglucosamina.

NAMA: Ácido N-acetilmurânico.

OMPs: Proteínas da membrana externa.

PBP: Proteínas de ligação à penicilina.

SBL: Serino- β -lactamases.

TDR: Estirpes totalmente resistentes aos antibióticos

VRE: *Enterococcus* resistentes à vancomicina.

VISA: *Staphylococcus aureus* intermediário à vancomicina.

hVISA: *Staphylococcus aureus* com comportamento heterogêneo à vancomicina

VSSA: *Staphylococcus aureus* suscetível à vancomicina.

VRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina.

XDR: Estirpes com resistência extrema aos antibióticos.

WHO: Organização Mundial de Saúde.

I. INTRODUÇÃO

Na história da medicina, o uso dos **antibióticos** no tratamento das doenças infecciosas bacterianas teve excelentes resultados clínicos, sendo, por isso, considerados os medicamentos principais do século XX (Lobanovska and Pilla, 2017).

A descoberta da penicilina G por Alexandre Fleming, a partir de um fungo ambiental, *Penicillium notatum*, acabou por mobilizar os cientistas na investigação de compostos naturais com ação antimicrobiana (Sousa *et al.*, 2016).

O início da quimioterapia, em 1906, deve-se aos trabalhos do pesquisador alemão Paul Ehrlich (Paterson and Bonomo, 2005). Ele utilizou um composto arsênico conhecido como **Salvarsan** no tratamento da sífilis, uma doença endêmica e quase incurável na época. Esta descoberta rendeu-lhe o Prémio Nobel de Medicina em 1908. Mas, do tratamento com **Salvarsan** resultavam efeitos colaterais graves. Em 1912, o seu colega Sahachiro Hata sintetizou uma nova molécula, derivada do Salvarsan, denominada **Neosalvarsan**, uma substância mais solúvel em água e menos tóxica, o que possibilitou a sua utilização em larga escala no tratamento da sífilis, infeção causada pela espiroqueta *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (Sousa *et al.*, 2016; Aminov, 2010).



Figura 1. Paul Ehrlich no seu laboratório e medalha comemorativa elaborada em 1973 para a série “Grandes Homens da Medicina” (Ros-Vivancos *et al.*, 2018).

Em 1928, Alexander Fleming, médico-cientista escocês que trabalhava no Hospital St. Mary, em Londres, ao fazer experiências com *Staphylococcus aureus*, deparou-se com uma placa de Petri contaminada com um fungo ambiental *Penicillium notatum*. Observou

que à volta das colónias deste fungo não ocorria o crescimento de estafilococos e teve a genialidade de deduzir que o fungo excretava para o meio de cultura uma substância antiestafilocócica, denominada **Penicilina (Figura 2)** (Tan and Tatsumura, 2015).

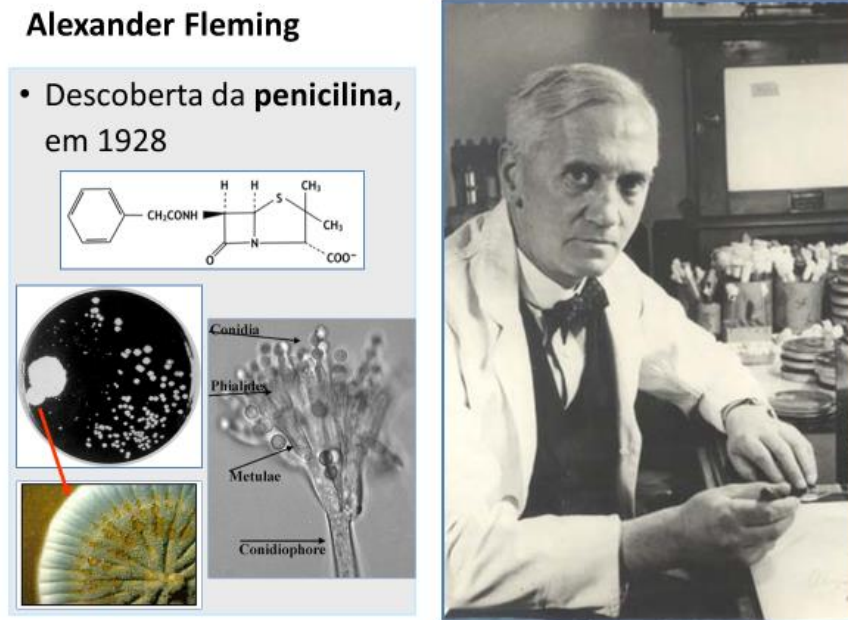


Figura 2: Placa de Petri com uma cultura de *Staphylococcus aureus* contaminada com o fungo ambiental *Penicillium notatum*, produtor de Penicilina G, antibiótico β -lactâmico.

Em 1940, Fleming e os cientistas Howard Florey, Ernst Chain e Norman Heatley, conseguiram produzir este antibiótico em grande escala, sendo utilizado terapêuticamente durante a Segunda Guerra Mundial (Tan and Tatsumura, 2015).

A penicilina G é o primeiro antibiótico da família dos β -lactâmicos, antibióticos antiparietais, com atividade bactericida (Tan and Tatsumura, 2015).

A introdução da penicilina na terapêutica e o seu efeito curativo em várias doenças infecciosas representou um dos maiores avanços da Medicina no século XX, o que resultou na descoberta posterior de novas moléculas antibióticas naturais ou semissintéticas (Lobanovska and Pilla, 2017).

A maior parte das classes de antibióticos, em uso clínico, foi identificada nas décadas de 1950-1970, sendo, por isso, conhecida como a “era de ouro dos antibióticos” (Gould, 2016) (**Figura 3**).

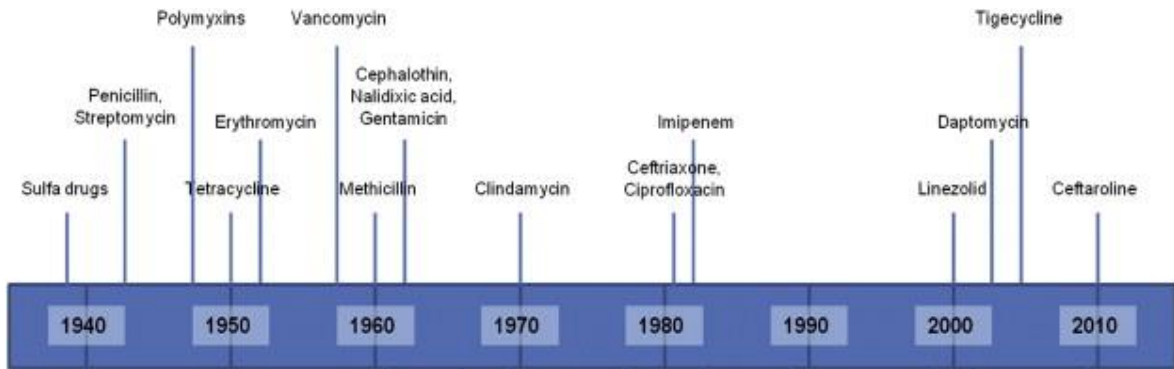


Figura 3: Cronologia da descoberta temporal de novas moléculas antimicrobianas, de uso clínico (Tang *et al.*, 2014).

As diferentes moléculas de antibióticos com utilização clínica são geralmente classificadas por critérios farmacológicos conforme indicado na **Figura 4**.

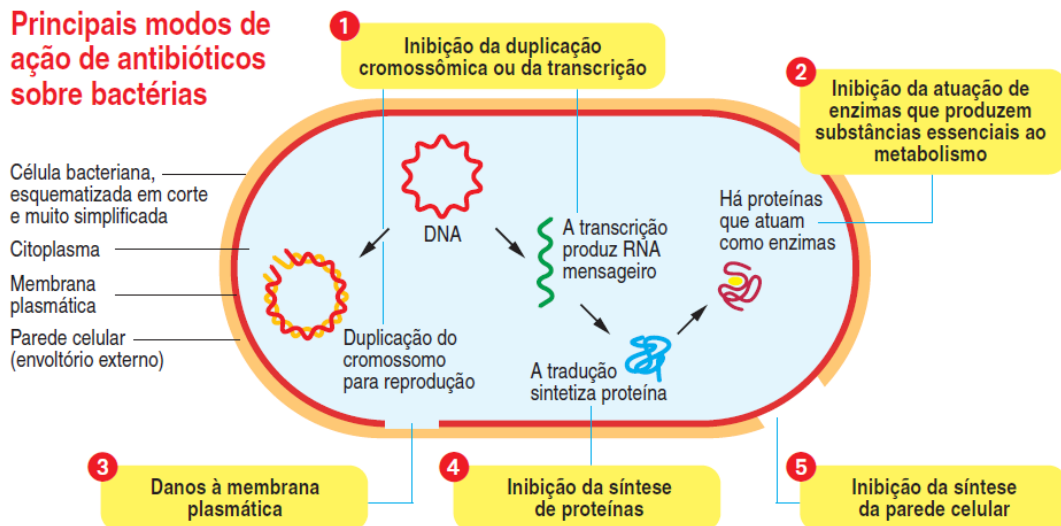


Figura 4. Classificação dos antibióticos de acordo com os seus mecanismos de ação.

Infelizmente, a descoberta de novas moléculas antibióticas não tem ocorrido nas últimas décadas, não acompanhando a rapidez com que as estirpes bacterianas resistem aos antibióticos convencionais (Livermore, 2011).

Nesse período, criou-se a ilusão que as doenças infecciosas seriam facilmente controladas pela antibioterapia, porém, as bactérias não tardaram a desenvolver mecanismos de resistência à penicilina G e às outras famílias de antibióticos (Aminov, 2010; Livermore, 2011).

No final da década 60, mais de 80% das estirpes comunitárias e hospitalares de *Staphylococcus aureus* eram resistentes à penicilina G, por hidrólise do anel β -lactâmico da penicilina, mediada por **β -lactamases** (Sousa *et al.*, 2016).

A indústria farmacêutica resolveu este problema com a criação de derivados da penicilina G, as isoxazolilpenicilinas e a meticilina, com atividade sobre *S. aureus* produtores de β -lactamases (Tooke *et al.*, 2019).

Posteriormente, apareceram estirpes estafilocócicas resistentes à meticilina e a todas as moléculas β -lactâmicas, designadas pelo acrónimo **MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus)**, o que conduziu ao uso da **vancomicina**, antibiótico glicopeptídico, para o tratamento das infecções estafilocócicas (Lobanovska and Pilla, 2017; Abraham, 1991).

O uso frequente de antibióticos na clínica humana e animal, incluindo a sua utilização abundante na agropecuária como promotor do crescimento animal, conduziu evolutivamente para o aparecimento de estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos, sendo, por isso, designadas por “**super bugs**” (Brown *et al.*, 2019; Van Boeckel *et al.*, 2015).

O aparecimento de estirpes resistentes a antibióticos das diferentes famílias reduziu substancialmente as opções terapêuticas, ocorrendo situações clínicas infecciosas sem possibilidade de tratamento antibiótico (Brown *et al.*, 2019).

A WHO evidenciou a necessidade de diminuir a incidência da resistência bacteriana aos antibióticos e admite que, se não houver alteração da política atualmente seguida no consumo de antibióticos, possam ocorrer cerca de 10 milhões de mortes, em 2050, causadas por bactérias resistentes a todos os antibióticos (Shrivastava *et al.*, 2018; de Kraker *et al.*, 2016).

É objetivo deste trabalho, explicar o mecanismo de ação e os mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos β -lactâmicos, bem como a sua utilização clínica. Para atingir este desiderato, torna-se pertinente referir e discutir a ultraestrutura da célula bacteriana, a estrutura química e funcional da parede celular bacteriana.

II. A estrutura celular bacteriana

No mundo microbiano existem dois tipos de organização celular que diferem na sua complexidade: **procariota e eucariota**.

Os organismos procariotas incluem microrganismos pertencentes aos domínios biológicos *Bacteria* e *Archaea*, que constituem um grupo bastante heterogéneo, apresentando uma organização celular muito simples, em contraste com os microrganismos eucariotas (fungos e protozoários) que apresentam uma organização celular mais complexa (Sousa *et al.*, 2016) (**Figura 5**).

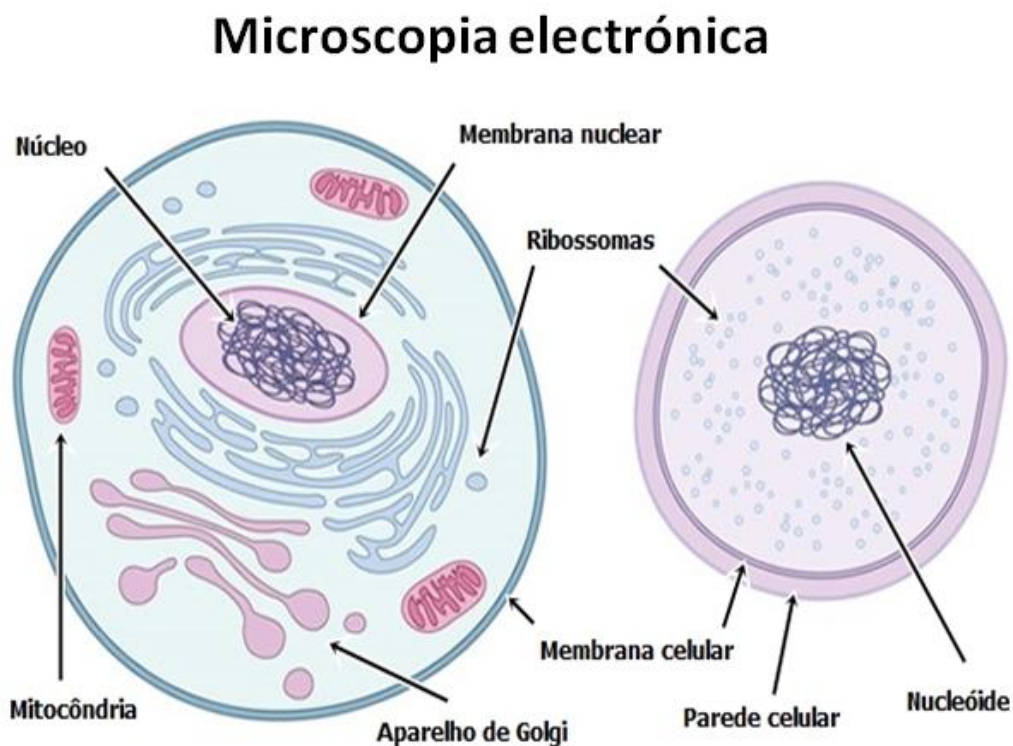


Figura 5: Estrutura celular de um microrganismo procariota e eucariota.

As bactérias são os únicos microrganismos procariotas, devido à simplicidade da sua região nuclear geralmente organizada por um ou dois cromossomas, sem membrana nuclear, denominada nucleóide, em contacto íntimo com o citoplasma bacteriano, com a existência de peptidoglicano (PG) na parede celular (PC) e ausência de organelas (Marinho and Taveira, 2014) (**Figura 6**).

2. 1. Parede celular

A maioria das bactérias possui uma parede celular (PC) (**Figura 6**) com uma molécula específica na sua organização, denominada **peptidoglicano ou mucopeptídeo** (Sousa *et al.*, 2016).

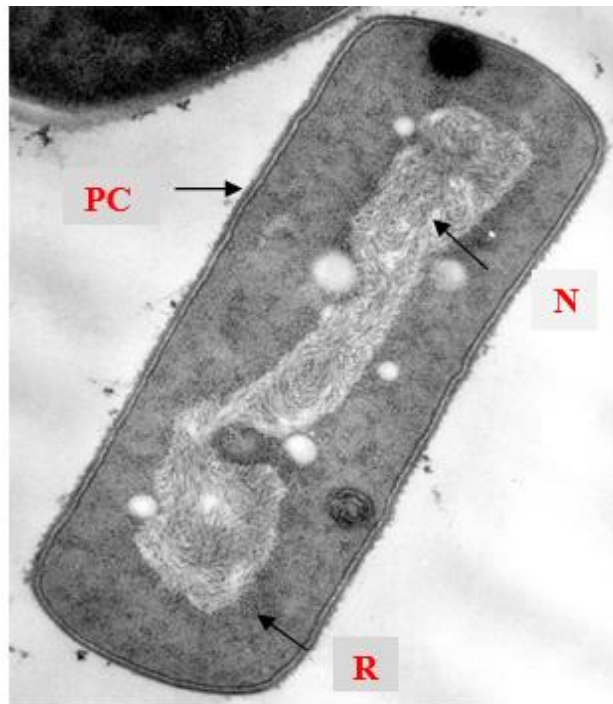


Figura 6: Ultraestrutura de uma célula bacteriana de Gram positivo (PC: parede celular, N: nucleóide, R: ribossomas) (Silva and Sousa, 1972).

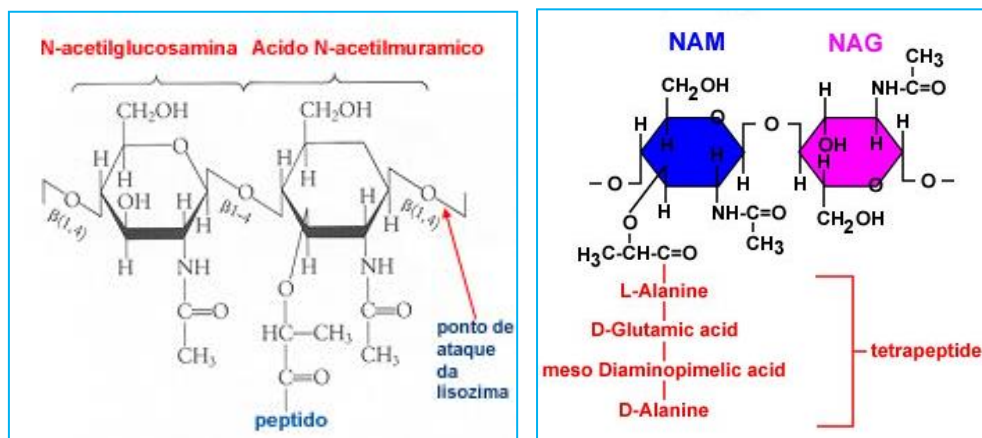


Figura 7: Estrutura básica do monômero de peptidoglicano (NAMA: ácido N-acetilmurâmico; NAG: N-acetilglucosamina).

A parede celular bacteriana é diferente quimicamente nas bactérias de Gram positivo e de Gram negativo, o que vai ter repercussões na sua estrutura morfológica, condicionando a atividade dos antibióticos usados na clínica.

2.1.1 Parede celular das bactérias de Gram positivo

A PC das bactérias de Gram positivo quimicamente é predominantemente constituída por mucopeptídeo, por ácidos teicóicos e lipoteicóicos, formando uma única camada espessa à volta da membrana citoplasmática da célula bacteriana (Sousa *et al.*, 2016) (Figura 8).

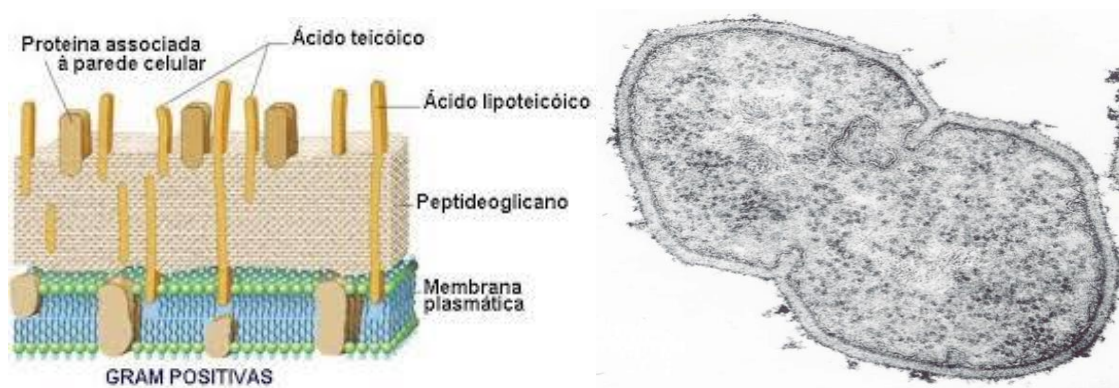


Figura 8: Parede celular de bactéria de Gram positivo (à esquerda, esquema) e respectiva ultraestrutura à direita (Imagem cedida por J.C. Sousa).

O mucopeptídeo em *S. aureus* é constituído por cadeias lineares de **NAG** (**N-acetilglucosamina**) e **NAMA** (**Ácido N-acetilmurâmico**) dispostas alternadamente e ao NAMA está associada uma cadeia tetrapeptídica (**L-Alanina-D-Glutâmico-L-Lisina-D-Alanina**) (Drawz and Bonomo, 2010) (Figura 9).

Os açúcares aminados **NAG** e **NAMA** estão unidos por uma ligação glicosídica β -1-4, mediada por uma enzima membranal **TG** (**transglicolase**) e as cadeias tetrapeptídicas de cadeias lineares vizinhas que estão ligadas entre si por pontes pentaglicínicas, mediadas por uma enzima membranal **TP** (**Transpeptidase**) (Figura 9). As **carboxipeptidases** (**CP**) quebram a ligação D-alanina-D-alanina na subunidade NAMA-pentapeptídeo, sintetizada no citoplasma bacteriano, dando origem a cadeias tetrapeptídicas. Uma percentagem significativa dos NAMA na PC têm uma estrutura pentapeptídica (L-alanina-D-glutâmico-L-Lisina- D-alanina-D-alanina) (Hardman and Limbird, 1996).

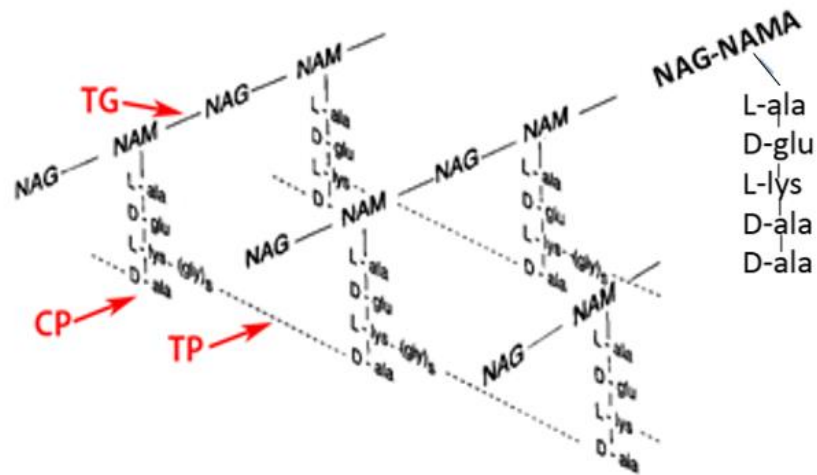


Figura 9: Estrutura química do peptidoglicano (PG) em *S. aureus*.

Portanto fica evidente que as enzimas membranares **TG**, **TP** e **CP** são fundamentais para a biossíntese do peptidoglicano (**PG**).

Os **ácidos teicóicos** (**Figura 10**) são constituídos por um polímero de moléculas de ribitol, unidas por grupos fosfatos, o que lhe confere uma carga elétrica negativa. A existência desta carga negativa torna possível a atração electrostática de antibióticos de carga positiva (por exemplo, a daptomicina- Ca^{2+}) bem como à ação das aminas catiónicas antibacterianas (**CAMPs**, peptídeos catiónicos) produzidas pelas células humanas e que fazem parte do sistema imune inato (Pizzolato-Cezar *et al.*, 2019).

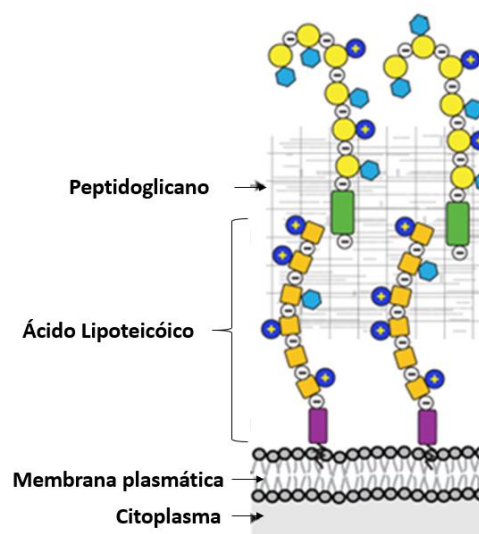


Figura 10: Estrutura dos ácidos teicóicos na PC bacteriana.

2.1.2. Parede celular das bactérias de Gram negativo

A parede celular das bactérias de Gram negativo é mais complexa que a parede das bactérias de Gram positivo pois possui membrana exterior (OM) e uma camada de peptidoglicano de menor espessura (Silva and Sousa, 1973) (**Figura 11**).

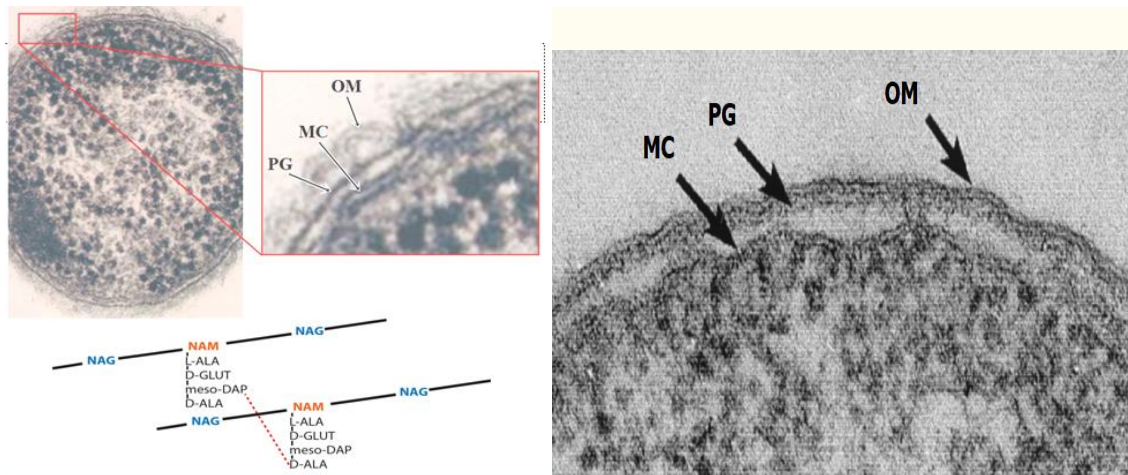


Figura 11. Parede celular de bactéria de Gram negativo (OM: membrana externa; PG: cadeia de peptidoglicano; MC: membrana citoplasmática) (Imagem cedida por J.C. Sousa).

A OM é uma membrana assimétrica, com o folheto interior constituído por fosfolípidos e o folheto exterior contém o lipídeo A do LPS (lipopolissacarídeo) com a parte polissacarídica (**core** e **antígeno O**) projetado para o exterior celular (Marinho and Taveira, 2014) (**Figura 12**).

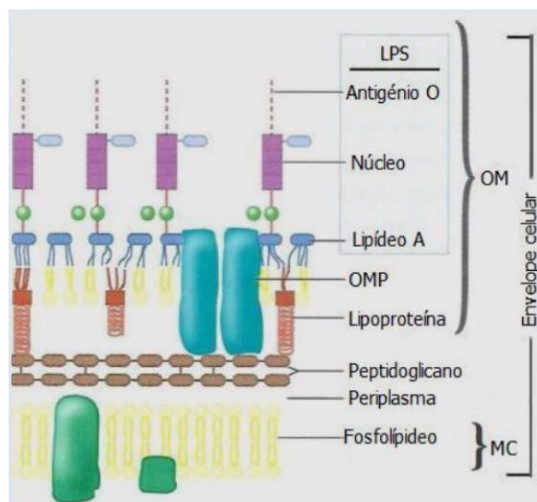


Figura 12. Organização química da OM e estrutura do LPS.

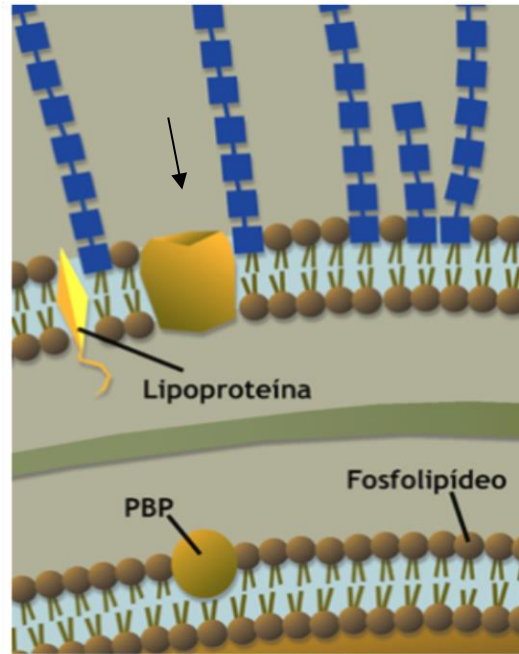


Figura 14. Canais aquosos de porina (seta) na OM.

A difusão dos antibióticos através dos canais de porina é facilitada na presença de moléculas de baixo peso molecular (<600 Da), hidrossolúveis e sem carga elétrica negativa, evitando-se a repulsão electrostática no canal de porina, que internamente tem carga negativa (Sousa *et al.*, 2016).

As moléculas de natureza hidrófoba (por exemplo, macrólidos) têm o acesso à OM dificultado pela estrutura polissacarídica do LPS e pela fraca difusão através dos canais aquosos de porina (Beveridge, 1999).

Contudo, alguns antibióticos catiónicos, como as polimixinas, os aminoglicosídeos e os CAMPs (peptídeos antimicrobianos) substituem competitivamente os iões bivalentes Ca^{2+} e Mg^{2+} estabilizadores do LPS da OM, autopromovendo a sua difusão para o periplasma celular (via self-promoted) (Pizzolato-Cezar *et al.*, 2019).

2.1.3. Parede celular de bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR)

As bactérias do Género *Mycobacterium*, *Corynebacterium* e *Nocardia* possuem uma parede celular complexa (**Figura 15**) constituída por peptidoglicano, arabinogalactano e a parte exterior composta por ácidos micólicos com cadeias alifáticas longas que dificultam a sua permeação, a ponto de não serem visualizadas pela coloração de Gram (Brown *et al.*, 2015a).

A sua visualização por microscopia óptica requer a coloração dos esfregaços pelo método de Ziehl-Nielsen, com fucsina concentrada de Ziehl e as células resistem à descoloração com o soluto de Ebner, constituído por álcool e ácido clorídrico, sendo por isso designados por bacilos **álcool-ácido resistentes (baar)** (Figura 16) (Park and Uehara, 2008).

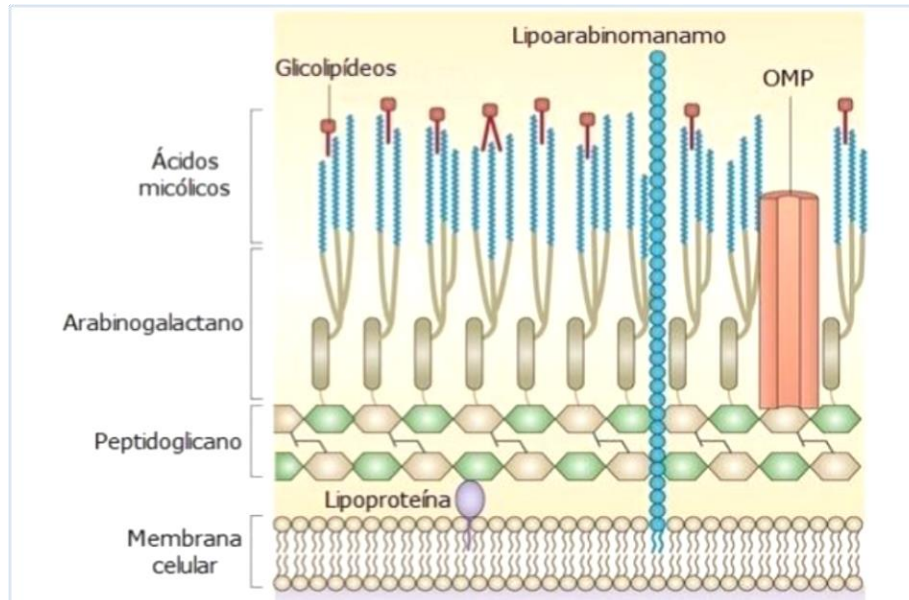


Figura 15. Estrutura química da PC de *Mycobacterium tuberculosis* (Brown et al., 2015b).

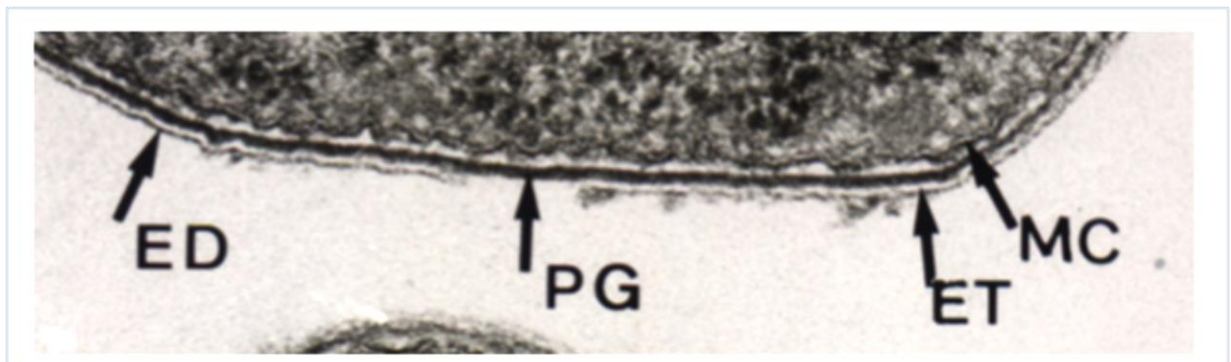


Figura 16. Ultraestrutura da PC de *Mycobacterium tuberculosis*. **ED** - camada de ácidos micólicos; **ET** - camada de arabinolactano; **PG** - peptidoglicano; **MC** - membrana citoplasmática (foto de ME cedida por J.C. Sousa).

III. Estrutura química dos antibióticos β -lactâmicos

A família dos antibióticos β -lactâmicos é constituída por cinco classes de moléculas, sendo quatro (**penicilinas, cefalosporinas, monobactams e carbapenemos**) com actividade antibacteriana directa e uma constituída por moléculas inibidoras de β -lactamases (**ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam**) (**Figura 17**).

Classes de antibióticos β -lactâmicos

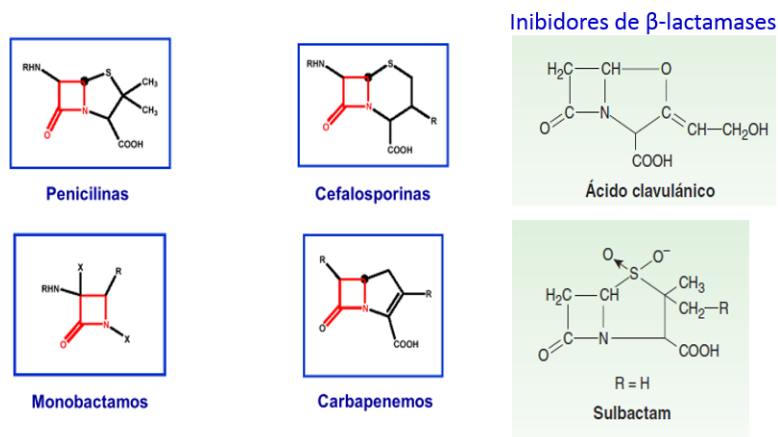


Figura 17. Estrutura química dos β -lactâmicos que inclui o anel β -lactâmico (vermelho).

A partir do núcleo base da penicilina foi possível elaborar novas moléculas dando origem ao ácido 6-aminopenicilânico (6-APA) e ao ácido 7-aminocefalosporânico (7-ACA). Esses intermediários foram então transformados em moléculas semissintéticas por introdução de cadeias laterais no núcleo penemo e cefemo (Abraham *et al.*, 1992; Sousa *et al.*, 2016).

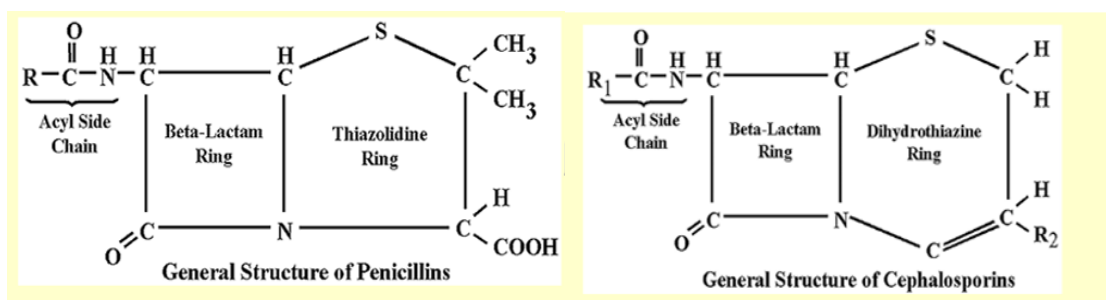


Figura 18. Estrutura geral das penicilinas e cefalosporinas.

Nas penicilinas, o anel β -lactâmico encontra-se fundido com um anel tiazolidínico contendo uma cadeia lateral (R) que confere diferenças farmacocinéticas e

farmacodinâmicas às penicilinas. Nas cefalosporinas o anel β -lactâmico encontra-se fundido com o anel di-hidrotiazínico (Garrett and Guimarães, 2001) (**Figura 18**).

As cefalosporinas apresentam dois radicais principais, possibilitando a síntese de uma grande variedade de moléculas, que permite a sua classificação por cinco gerações. As alterações em R1 influenciam geralmente o espectro de atividade bacteriana, enquanto alterações em R2 influenciam nas propriedades farmacocinéticas. As cefamicinas (por exemplo, a cefoxitina, o cefotetan e o cefmetazol) possuem um grupo metoxi no carbono 7 do núcleo do anel β -lactâmico do 7-ACA e fazem parte do grupo das cefalosporinas de segunda geração (Hardman and Limbird, 1996).

Os monobactams só possuem um anel β -lactâmico monocíclico que mantém uma maior estabilidade contra alguns tipos de metalo- β -lactamases (MBLs), exceto contra as β -lactamases de largo espectro (ESBLs). Estes β -lactâmicos não possuem atividade contra bactérias de Gram positivo e contra anaeróbios estritos (Oliver *et al.*, 2018).

Os carbapenemos apresentam um anel β -lactâmico fundido a um anel de 5 membros, similar ao anel das penicilinas, porém insaturado e com um carbono em C1 ao invés de um átomo de enxofre. Esta configuração química impede a hidrólise do anel β -lactâmico por serino- β -lactamases de largo espectro (ESBLs), mas não inibe as carbapenemases. O imipenemo, meropenemo, doripenemo e ertapenemo são os carbapenemos de maior uso clínico (Sousa *et al.*, 2016; Papp-Wallace *et al.*, 2011).

Dado que as β -lactamases inativavam os antibióticos β -lactâmicos foram desenvolvidas novas moléculas β -lactâmicas destituídas de atividade antibacteriana, mas com afinidade específica para as β -lactamases, sendo por isso designadas por inibidores suicidas das β -lactamases (ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam) (Liu *et al.*, 2018).

Nos últimos anos, foi desenvolvido uma nova classe de inibidores de β -lactamases sem estrutura β -lactâmica, nomeadamente avibactam, relebactam e varbobactam que aumentaram o espectro de ação dos β -lactâmicos (Asli *et al.*, 2016, Tooke, 2019 #20).

IV. Mecanismo de ação dos antibióticos β -lactâmicos

A célula bacteriana divide-se por cisão binária (**Figura 19**) resultando da interação entre a atividade autolítica (autolisinas) da célula bacteriana e a inserção parietal de novos resíduos NAG-NAMA-pentapeptídeo. Estes resíduos, sintetizados no citoplasma bacteriano, são transportados através da MC pelo “carrier” lipídeo II para o seu folheto exterior e ficam expostos à ação das enzimas TP (transpeptidases), TG (transglicolases) e CP (carboxipeptidases) que promovem a sua integração na PC em crescimento. A PC em síntese é assim constituída por PC “velha” impregnada com fragmentos “sintetizados de novo” (Suarez and Gudiol, 2009).

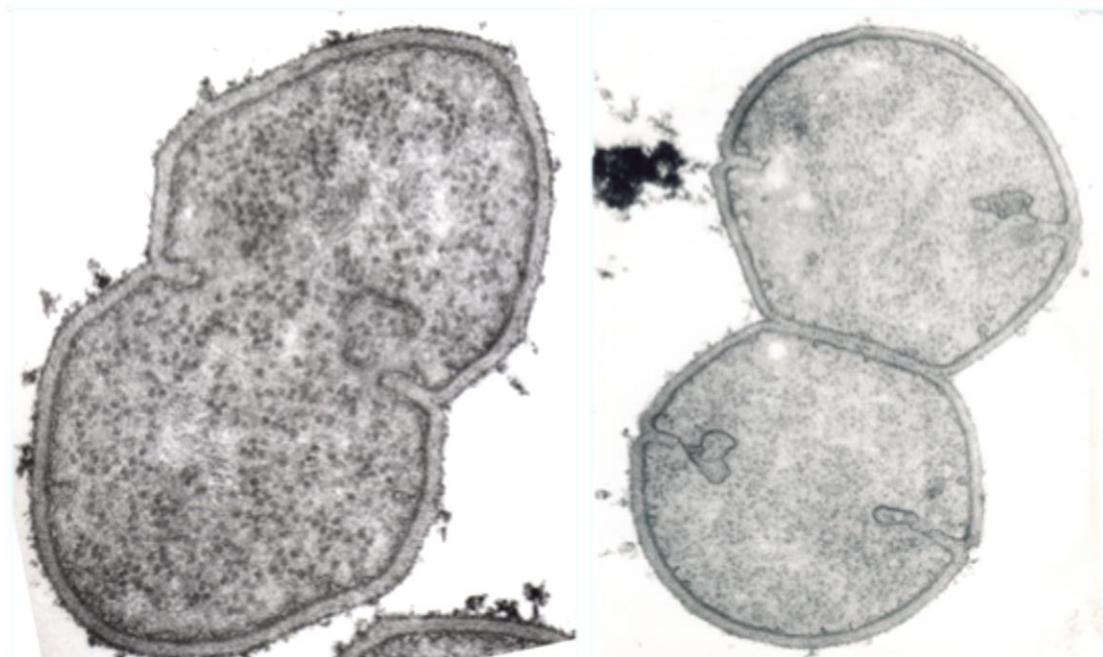


Figura 19. Divisão da célula bacteriana por cisão binária, com formação de um septo parietal na divisão celular (fotografia de ME, cedida por J.C. Sousa).

A acilação química destas enzimas (TP e TG) pelos antibióticos β -lactâmicos neutraliza a sua atividade fisiológica na biossíntese do PG (**Figura 20**). Estas enzimas, alvo dos antibióticos β -lactâmicos, recebem, por isso, a designação de **PBPs (Penicillin Binding Proteins)** (Drawz and Bonomo, 2010).

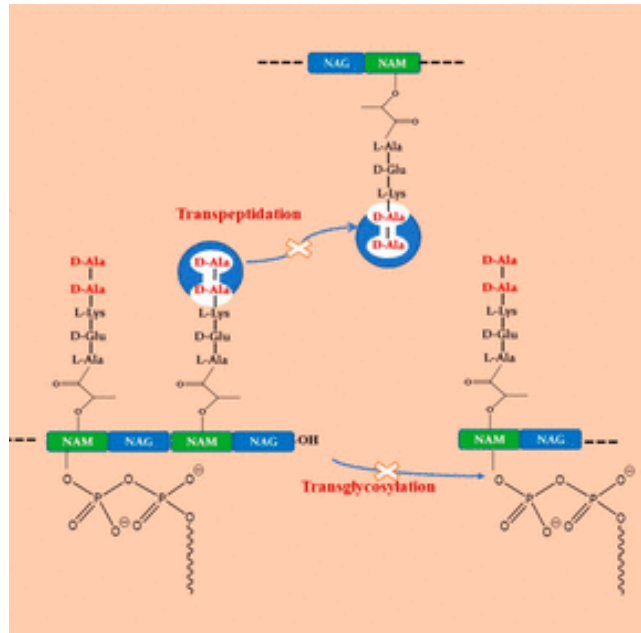


Figura 20: Colocação dos NAG-NAMA-pentapeptídeo no periplasma bacteriano e sua inserção na PC mediada pelas TP e TG (Dhanda *et al.*, 2019).

A ausência das ligações químicas no PG, induzidas pelos β -lactâmicos, causa fraturas na PC ocorrendo lise celular (efeito bacteriolítico) (Silva and Sousa, 1972) (**Figura 21**).



Figura 21: Lise celular bacteriana mediada por penicilina G (Foto cedida por J.C. Sousa).

Outros antibióticos antiparietais exercem a sua atividade nas outras fases da biossíntese do PG, como é o caso da fosfomicina (fase citoplasmática) e os glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina e televancina) na fase membranar (Katzung and Trevor, 2017).

V. Resistência bacteriana aos β -lactâmicos

5.1. Resistência em bactérias de Gram positivo

Dado que o anel β -lactâmico é o centro farmacológico dos antibióticos β -lactâmicos, torna-se indispensável a integridade química desta molécula para exercerem a sua atividade bactericida (Sousa *et al.*, 2016).

Com a introdução da penicilina G no armamentário terapêutico surgiram estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes a este antibiótico, chegando a atingir uma incidência maior que 90% (Lobanovska and Pilla, 2017).

Esta resistência é mediada pela ação de **β -lactamases** (penicilinases) que hidrolisam o centro farmacológico da benzilpenicilina inativando-a (Drawz and Bonomo, 2010) (**Figura 22**).

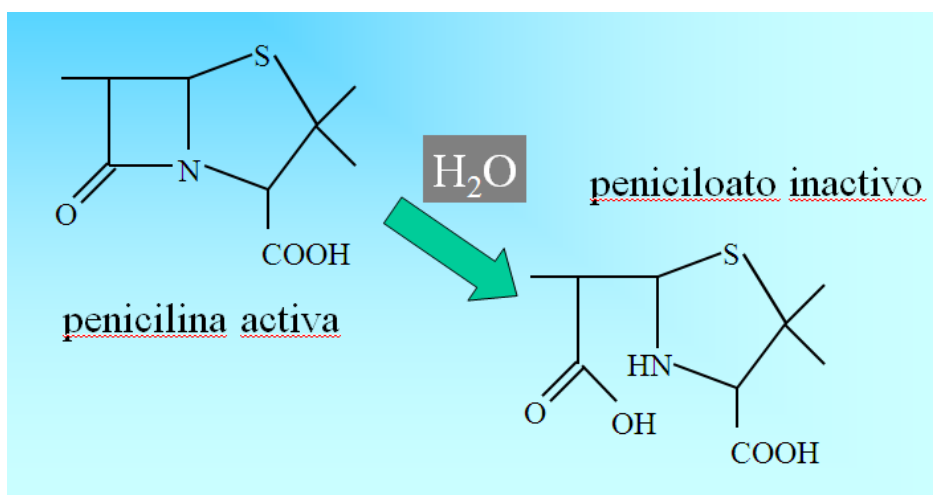


Figura 22. Inativação da Penicilina G por penicilinases

Com o objetivo de evitar a hidrólise do anel β -lactâmico por β -lactamases foram criadas novas moléculas, derivadas semissintéticas da penicilina G, com a introdução de radicais químicos protetores do anel β -lactâmico, impeditivos da ação direta das β -lactamases. É o caso das **isoxazolilpenicinas** (**Figura 23**) e da **meticilina**. Estes antibióticos, ativos contra estirpes de *S. aureus* produtores de penicilinases, inibem, portanto, os seus 4 PBPs (PBPs 1, 2, 3 e 4) inibindo a síntese do PG em formação (Santajit and Indrawattana, 2016).

As estirpes de *S. aureus* suscetíveis à meticilina receberam a designação **MSSA** (**M**ethicillin **S**usceptible **S**taphylococcus **A**ureus).

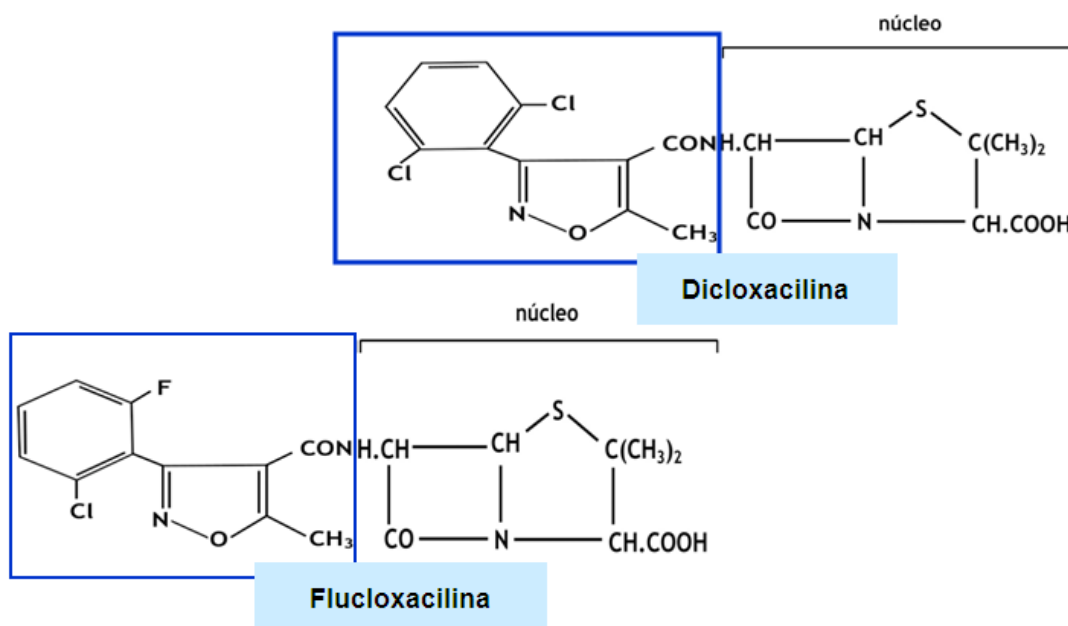


Figura 23: Estrutura química das isoxazolidinopenicilinas - dicloxacilina e flucloxacilina.

Após a utilização clínica destas penicilinas, surgiram isolados co-resistentes à meticilina bem como a todos os antibióticos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos) (Gajdacs, 2019).

As estirpes com este comportamento receberam a designação **MRSA** (**M**ethicillin **R**esistent **S**taphylococcus **A**ureus). Ao inverso das estirpes **MSSA**, estas têm um PBP adicional, **PBP2a**, codificado pelo **gene *mecA***, refratário à acilação pelos antibióticos β -lactâmicos, mas com capacidade TP e TG, crescendo, portanto, a estirpe na presença de antibióticos β -lactâmicos (Llarrull *et al.*, 2009).

Os clones de *S. aureus* **MRSA** (**HA-MRSA**) exibem também resistência generalizada a outras famílias de antibióticos (Lee *et al.*, 2018).

A **vancomicina**, antibiótico glicopeptídico, passou a ser a alternativa terapêutica para o tratamento sistêmico das infecções por **MRSA** (Foster, 2019).

A vancomicina e a teicoplanina, antibióticos glicopeptídeos antiparietais, têm como alvo o dipeptídeo D-alanil-D-alanina do precursor PG associado ao lipídeo II (**Figura 24**), bloqueando a atividade normal das TG e TP, inibindo a biossíntese do PG, ocorrendo morte celular (Lee *et al.*, 2018).

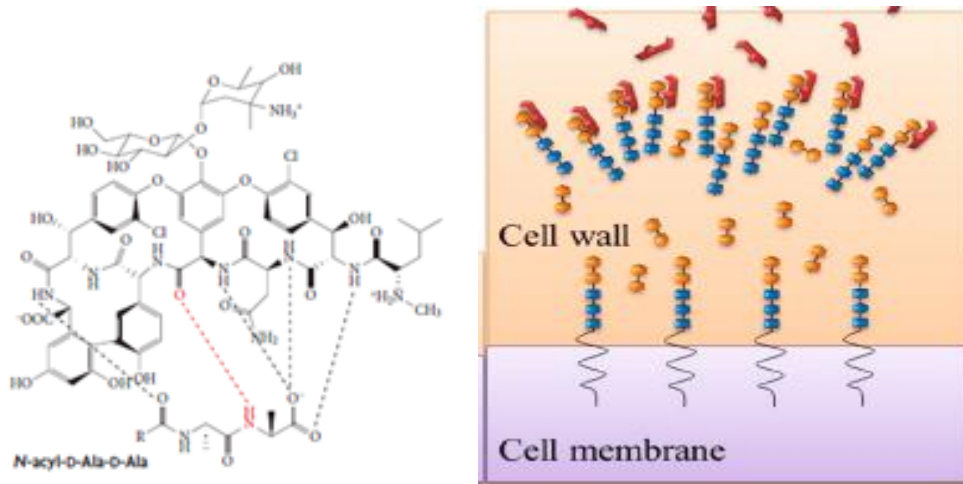


Figura 24: Mecanismo de ação da vancomicina, através da ligação desta com D-alanil-D-alanina mediada por 5 pontes de hidrogénio (Dhanda *et al.*, 2019).

No tratamento de infeções por MRSA com suscetibilidade à vancomicina ($\text{CIM} \geq 2\mu\text{g/ml}$) por tempo prolongado ocorrem frequentemente insucessos terapêuticos, devido ao aparecimento de uma pequena subpopulação de células com um CIM mais elevado (**hVISA**) integradas numa população maioritariamente VSSA (suscetível à vancomicina) ou ocorrem infeções homogêneas com comportamento generalizado **VISA** (**V**ancomicina **I**ntermedium **S.** **A**ureus) com CIMs mais elevados ($\text{CIM } 4 \text{ a } 8 \mu\text{g/ml}$) ou com comportamento **VRSA** ($\text{CIM} \geq 16\mu\text{g/ml}$) (Dhanda *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2013).

Este fenómeno ocorre geralmente por espessamento da PC de *S. aureus*, com um aumento de NAMA-pentapeptídeo na PC, sendo o seu dipeptídeo terminal D-alanil-D-alanina captador de moléculas de vancomicina, impedindo que este chegue em concentração adequada ao alvo D-alanil-D-alanina membranar (Holmes *et al.*, 2016) (**Figura 25**).

As estirpes **VRSA** foram obtidas por transferência do gene *vanA* de *Enterococcus faecalis* para as células estafilocócicas **MRSA**, mediado por um transposição (Chang *et al.*, 2003)

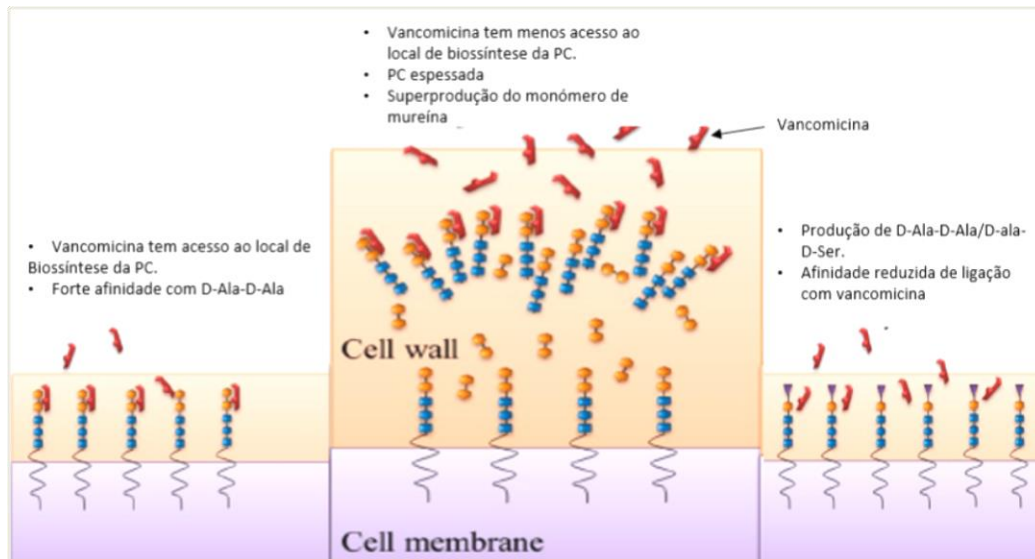


Figura 25: À esquerda, observa-se o comportamento da vancomicina nas estirpes de *S. aureus* **MSSA**; ao centro o comportamento da vancomicina nas estirpes **VISA** e **hVISA**; à direita, o comportamento das estirpes **VRSA** (Dhanda *et al.*, 2019).

Outro tipo de resistência aos β -lactâmicos ocorre em *Streptococcus pneumoniae* com **PBPs** de baixa afinidade (**estrutura em mosaico**). Este genótipo ocorre por transformação e recombinação homóloga entre DNA nativo de *S. pneumoniae* e o **DNA** ambiental da flora comensal da orofaringe (Grebe and Hakenbeck, 1996).

Os enterococos, sobretudo *Enterococcus faecium*, são intrinsecamente resistentes às cefalosporinas em altos níveis, devido à sua baixa afinidade para o **PBP5** enterocócicos mutados (Chang *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2014).

Convém lembrar que os PBPs são classificados como **serino-D-D-peptidases**. A homologia entre os **PBPs** e as **β -lactamases** evidencia que estas evoluíram a partir de **PBPs** (Bush, 2018).

5.2. Resistência em bactérias de Gram negativo

Os β -lactâmicos para exercerem sua atividade antibacteriana tem de atravessar a OM para, no periplasma, acilarem os PBPs (Suarez and Gudiol, 2009).

Devido à natureza aniônica da benzilpenicilina, esta difunde mal através dos canais de porina da OM, e para obviar este inconveniente, foram criadas moléculas semissintéticas com um grupo amina (**-NH₂**), que a pH fisiológico sofre protonação (**-NH₃⁺**), ficando, portanto, as aminopenicilinas eletricamente neutras. Nestas condições, as

aminopenicilinas difundem facilmente através dos canais de porina, sendo, portanto, ativas contra bactérias de Gram negativo não produtoras de β -lactamases (Sousa *et al.*, 2016) (**Figura 26**).

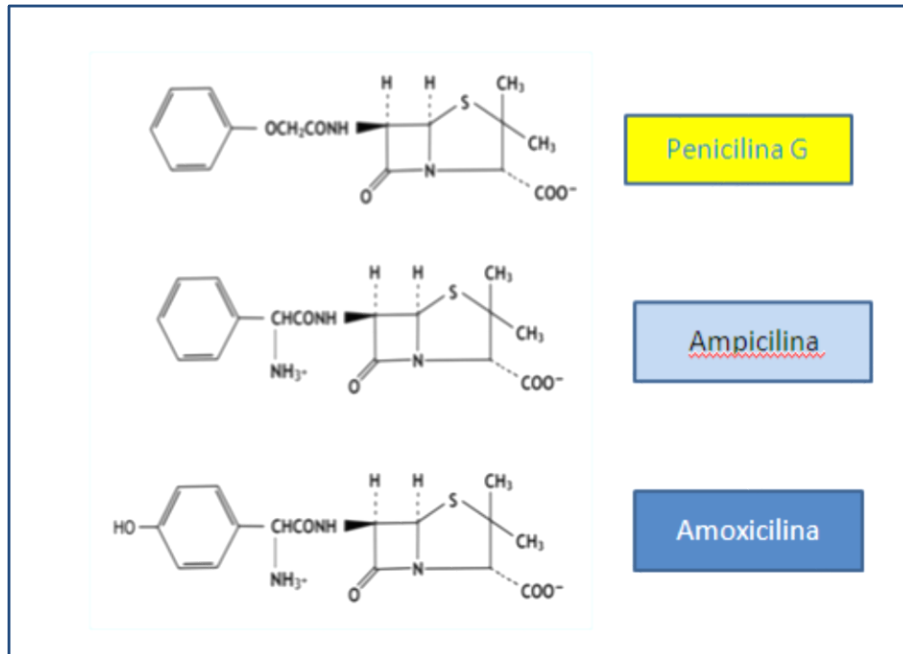


Figura 26: Estrutura de penicilina G (aniônica) e das aminopenicilinas: ampicilina e amoxicilina (zwitteriônicas).

Um ano após o uso clínico da ampicilina, num caso de infecção urinária por *E. coli* resistente à aminopenicilina, detetou-se a existência nesta estirpe de uma β -lactamase plasmídica, designada por **TEM-1**, facilmente disseminável entre bactérias da mesma espécie ou espécies diferentes (Santajit and Indrawattana, 2016).

A β -lactamase **SHV-1**, geralmente cromossômica em *Klebsiella pneumoniae*, tem um comportamento idêntico ao descrito à TEM-1 (Drawz and Bonomo, 2010).

Dadas as circunstâncias, foram introduzidas na terapêutica moléculas inibidoras suicidas de β -lactamases (**ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam**) que associadas a aminopenicilinas e piperacilina, (**Figura 27**) com atividade contra estirpes produtoras de TEM-1 e SHV-1 (Bonomo, 2017) .

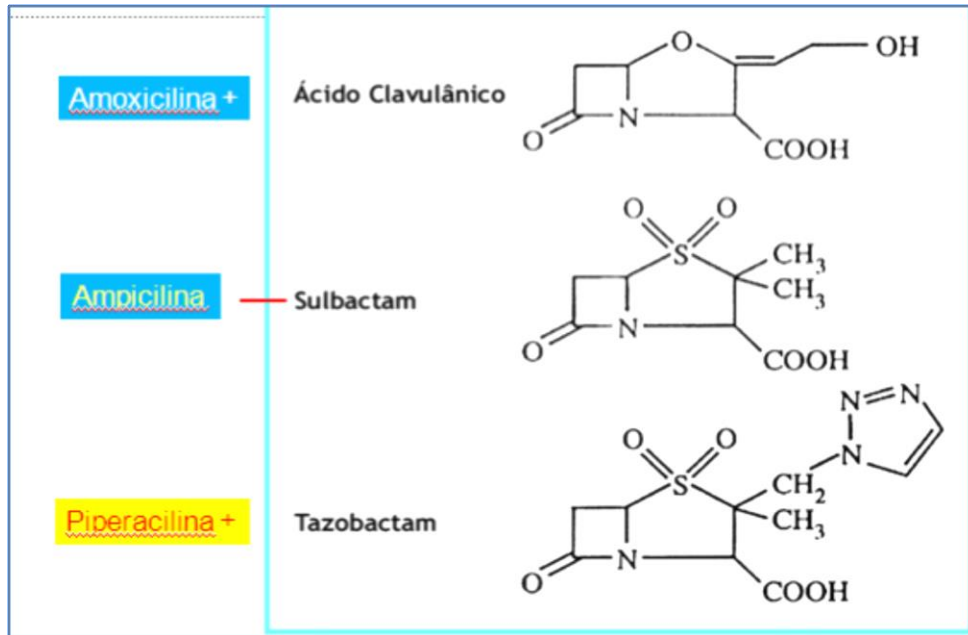


Figura 27: As aminopenicilinas e a piperacilina associadas ao respectivo inibidor suicida.

As cefalosporinas da 2^a a 4^a geração, genericamente denominadas **oximinocefalosporinas** (**Figura 28**), os **monobactamos** e os **carbapenemos** impedem a atividade hidrolítica das β -lactamases tipo TEM-1 e SHV-1 (Santajit and Indrawattana, 2016).

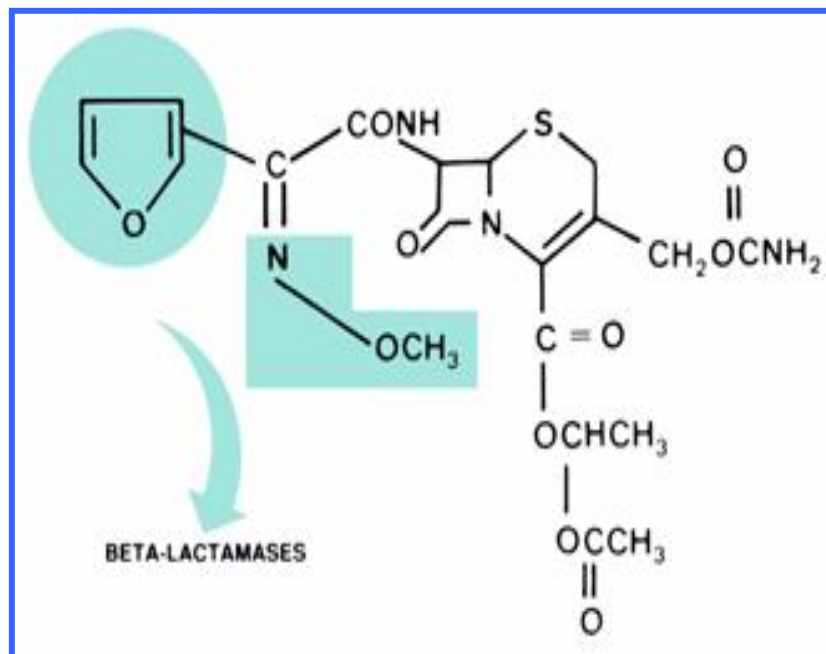


Figura 28: Molécula de uma cefalosporina com um radical químico metoximino protetor do anel β -lactâmico, impedindo a hidrólise por TEM-1 e SHV-1.

Acumulações pontuais de mutações nos genes *blaTem-1* e *blaSHV-1* levaram à produção de **ESBLs** (**E**xtended **S**pectrum **B**-Lactamases), com maior espectro de ação, inativando aminopenicilinas, cefalosporinas e monobactams, sem inativar as cefamicinas, aminopenicilinas + inibidores e os carbapenemos (Tooke *et al.*, 2019).

Posteriormente, apareceram isolados clínicos de Gram negativo produtores de β -lactamases com o mesmo comportamento, não com a mesma origem genética, designadas **CTX-M**, originárias de β -lactamases cromossômicas de *Kluyvera ascorbata* e *K. georgina*, bactérias ambientais (Sousa *et al.*, 2016).

Estas β -lactamases são geralmente mais ativas sobre a **ceftriaxona**, **cefotaxima** e **ceftazidima** (cefalosporina da 3ª geração) e **cefepima** (cefalosporina da 4ª geração) e sem atividade contra penicilinas + inibidores das β -lactamases e carbapenemos (Chaudhry *et al.*, 2019).

Certas espécies bacterianas, nomeadamente *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* são produtoras de β -lactamases AmpC codificadas pelo gene cromossômico *ampC*. Estas enzimas têm uma atividade cefalosporínica, hidrolizando eficazmente as cefalosporinas ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona, aminopenicilinas com inibidores e sem atividade contra cefalosporinas da 4ª geração (cefepime) e carbapenemos (Thakuria and Lahon, 2013; Bush, 2018).

Presentemente, têm sido detetadas estirpes de Enterobactérias com produção plasmídica de AmpC, predominantemente a **CMY-2** (Bonomo, 2017).

A ocorrência de isolados com o gene *ampC* plasmídico tornou possível a sua disseminação para outros bacilos de Gram negativo, o que veio dificultar os tratamentos de infeções com antibióticos convencionais, dado que praticamente os **carbapenemos** (**Figura 29**) são os únicos antibióticos β -lactâmicos ativos (Bush, 2018).

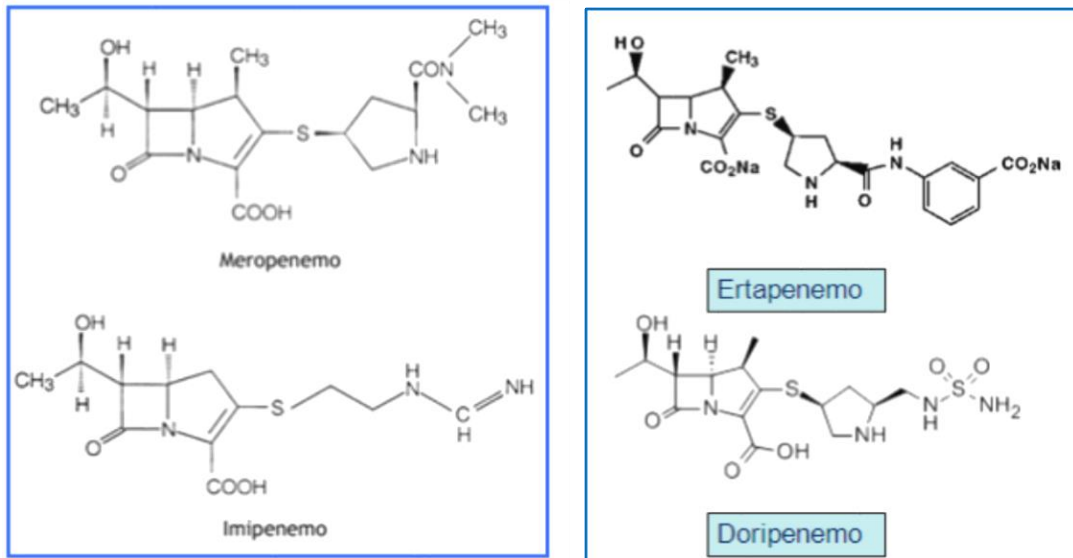


Figura 29: Estrutura química dos carbapenemos terapêuticos.

Consequentemente, a larga utilização clínica de carbapenemos fez pressão seletiva sobre as populações bacterianas, aumentando a incidência de estirpes de Gram negativo produtoras de **carbapenemases (serino e metalo-carbapenemases)** (Papp-Wallace *et al.*, 2011).

Tabela 1: Classificação de β -lactamases de Ambler (Sousa *et al.*, 2016)

Classe A- inclui as β -lactamases com espectro reduzido (ex: TEM-1 e SHV-1), com espectro alargado (ex: CTX-M-15) e carbapenemases (ex: KPC);
Classe B- inclui as metalo- β -lactamases (MBLs) que hidrolisam penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos (ex: NDM-1, IMP, VIM, SPM);
Classe C- inclui as cefalosporinas codificadas cromossomicamente (ex: AmpC) ou em plasmídeos (ex: CMY-2)
Classe D- inclui β -lactamases com grande capacidade hidrolítica sobre oxacilinas, por isso referidas como oxacilinas (OXA), com atividade contra cefalosporinas (ex: OXA-10) ou contra carbapenemos (ex: OXA-32)

Um dos esquemas de classificação das β -lactamases mais usado é a classificação de Ambler, sendo divididas em 4 Classes **A, B, C, D (Tabela 1)**. As serino-carbapenemases

estão distribuídas pelas classes A e D de Ambler e as metalo-carbapenemases pela classe B, as AmpC pela classe C e as ESBLs pela classe A (Santajit and Indrawattana, 2016).

A diminuição da suscetibilidade aos antibióticos também pode ser atingida nas estirpes bacterianas possuidoras de **Bombas de Efluxo**, impedindo que a célula bacteriana seja atingida por concentrações terapêuticas do antibiótico (Drawz and Bonomo, 2010).

Infelizmente, as estirpes com estes comportamentos em relação aos β -lactâmicos exibem co resistência a outras famílias de antibióticos, nomeadamente aminoglicosídeos e quinolonas, o que requer a procura de novas moléculas antibióticas ou a utilização de associações de antibióticos para atingir sucesso terapêutico (Aslam *et al.*, 2018).

Estirpes de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, produtoras de carbapenemases são casos extremos de resistência aos antibióticos de diversas famílias, e, nalguns casos, as **polimixinas** (polimixina B, colistina), antibióticos lipopeptídeos anti membranares com atividade bactericida, são a última alternativa terapêutica, apesar da sua toxicidade (Santajit and Indrawattana, 2016; Olaitan *et al.*, 2014).

A utilização de antibióticos como fator de promoção de crescimento animal na China e em outros países, conduziu ao aparecimento de estirpes animais e humanas resistentes às polimixinas, o que veio causar mais uma restrição nas opções para o tratamento de doenças infecciosas graves (Van Boeckel *et al.*, 2015).

VI. Farmacologia dos β -lactâmicos

A grande maioria das moléculas β -lactâmicas comporta-se como um ácido fraco, tendo o pH do meio uma grande influência no fenómeno de absorção e distribuição do antibiótico pelo corpo humano. Quando administrados por via oral, as moléculas do antibiótico no estômago apresentam-se predominantemente numa forma não dissociada, o que favorece a sua absorção oral (Hardman and Limbird, 1996).

A penicilina G, o primeiro antibiótico β -lactâmico, é hidrolisado pela acidez gástrica e apresenta fraca absorção, sendo administrada clinicamente por via parenteral (I.M. ou I.V.)(Rang and Dale, 2012).

Embora a maioria dos antibióticos β -lactâmicos (cefalosporinas, monobactams e carbapenems) sejam de administração parenteral, existem nos antibióticos β -lactâmicos diversas moléculas de absorção oral, como a ampicilina, amoxicilina, as cefalosporinas cefalexina, cefradina e cefradoxilo (1ª geração), a cefalosporina cefuroxima-axetil (2ª geração) e a cefalosporina cefixima (3ª geração) (Katzung and Trevor, 2017).

A aminopenicilina amoxicilina apresenta melhor absorção oral que a ampicilina, graças à presença de um hidroxilo no anel benzénico da penicilina e, conseqüentemente, melhor eficácia terapêutica e menos efeitos adversos (Katzung and Trevor, 2017) (**Figura 30**).

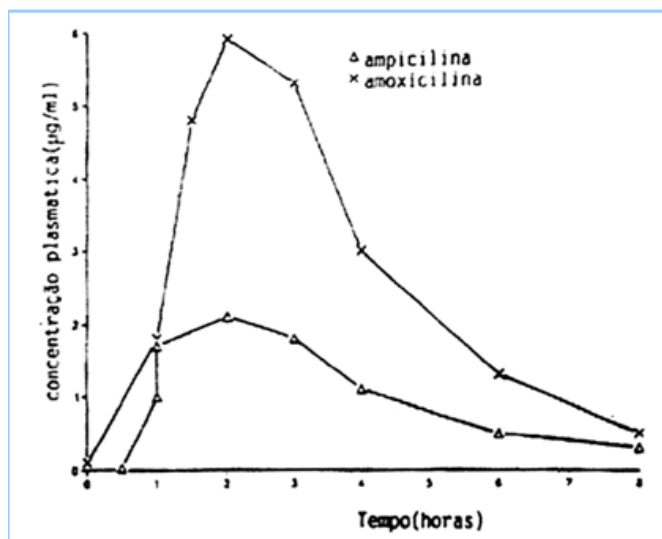


Figura 30: Cinética da absorção oral da ampicilina e amoxicilina, na mesma dose.

Após absorção, as penicilinas são rapidamente distribuídas através do organismo e eliminadas por via renal, por secreção tubular (80%) e filtração glomerular (20%), sem

sofrerem qualquer alteração metabólica e, por isso, requerem várias administrações diárias (Garrett and Guimarães, 2001) (**Figura 31**).

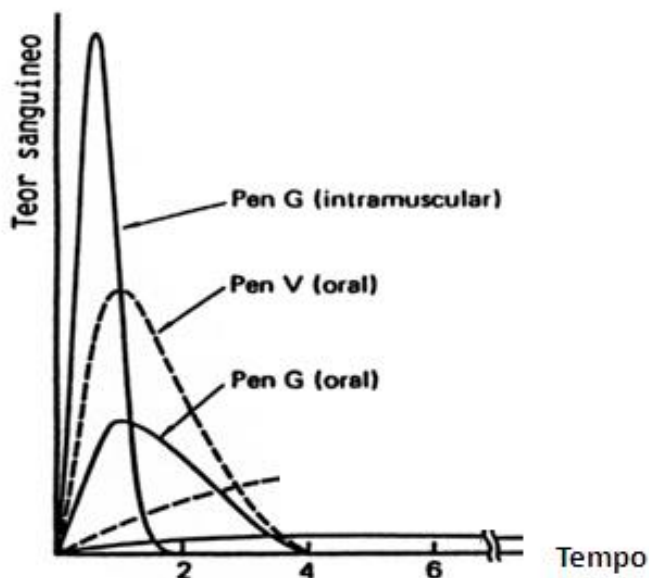


Figura 31: Níveis plasmáticos de penicilina, após administração oral e I.M.

A penicilina G é facilmente hidrolisada por penicilinasas e, por isso, é pouco utilizada na clínica. Porém, apresenta-se como uma alternativa terapêutica para o tratamento das faringites por *Streptococcus pyogenes* (grupo A de Lancefield) e para o tratamento da sífilis causada por *Treponema pallidum subsp. pallidum*, os quais requerem concentrações baixas (CMI- $\mu\text{g/ml}$) de penicilina. Nestas condições, é possível obviar o inconveniente farmacodinâmico da penicilina G, sendo necessário utilizar penicilinas-depósito, como é o caso da penicilina-benzatínica administrada numa única dose, com eficácia durante um longo período de tempo (2-3 semanas) que impede a ocorrência de reinfeção (Rang and Dale, 2012)(**Figura 32**).

A penicilina-benzatínica após a sua administração no tecido muscular é libertada lentamente em concentrações baixas para a corrente circulatória.

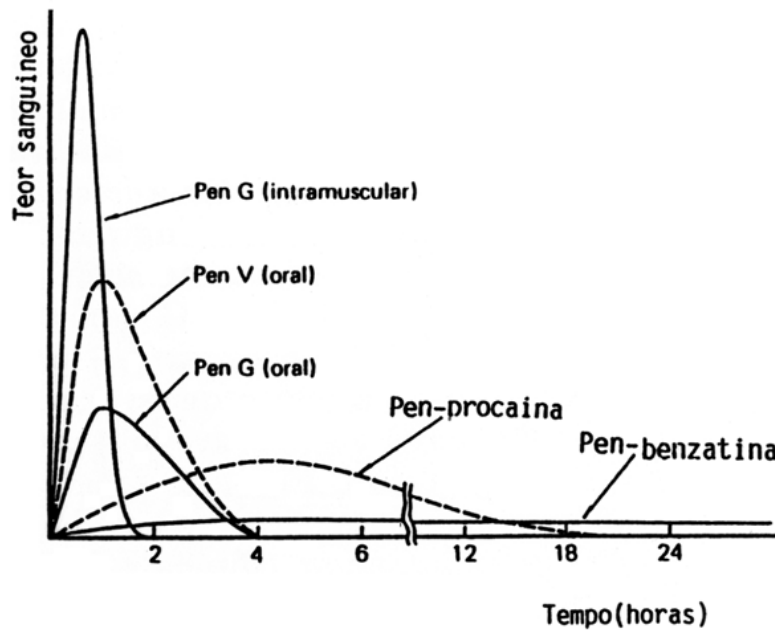


Figura 32: Níveis plasmáticos de penicilina G (hidrossolúvel) e penicilina benzatínica (suspensão).

Os β -lactâmicos na corrente sanguínea têm uma associação com as proteínas plasmáticas (albumina), designada por “protein binding” (expressa em % de associação) e com um comportamento diferenciado para cada uma das moléculas β -lactâmicas. Antibióticos com elevado “protein binding” exibem período de semivida longo, como é o caso da ceftriaxona e ertapenemo, respectivamente, com “protein binding” de 95% e 90 %, sendo utilizados numa única dose diária (Sousa *et al.*, 2016) .

Os β -lactâmicos têm uma boa distribuição corpórea (pleura, líquido sinovial, saliva e secreções nasais) penetrando, contudo, com dificuldade no tecido prostático, no líquido ocular, no sistema nervoso central e no líquido cefalorraquidiano (Rang and Dale, 2012).

Devido à eliminação dos β -lactâmicos predominantemente por via urinária, estes atingem na urina concentrações superiores às suas concentrações séricas, dependente da funcionalidade renal do paciente (Suarez and Gudíol, 2009).

O carbapenemo imipenemo sofre hidrólise pela enzima renal (DHP-1), “ β -lactamase eucariótica”, inativando a molécula e causando nefrotoxicidade. Portanto, este antibiótico é associado com cilastatina, inibidor da enzima DHP-1, permitindo a sua eficácia terapêutica e menor toxicidade (Gould, 2016).

As características farmacodinâmicas (PD) dos antibióticos β -lactâmicos que favorecem a sua atividade bactericida estão relacionadas com o tempo da concentração sérica do antibiótico acima do CIM (Fernandez *et al.*, 2011).

De um modo geral, os β -lactâmicos são administrados de 8 em 8 horas e em decorrência da sua rapidez de eliminação urinária existe um período em que a concentração sérica do antibiótico está abaixo da CMI, que não deve ser superior a 40% do intervalo temporal entre as duas doses. Este objetivo é fácil de atingir quando o isolado clínico tem uma grande suscetibilidade ao antibiótico (CMI $\mu\text{g/ml}$ baixo) (Suarez and Gudiol, 2009).

Nas infecções graves causadas por agentes bacterianos que exigem elevados CMI ($\mu\text{g/ml}$), de um modo geral, o intervalo temporal é superior a 40% entre as duas administrações, sendo adequado administrar o antibiótico β -lactâmico por infusão contínua (Suarez and Gudiol, 2009) (**Figura 33**).

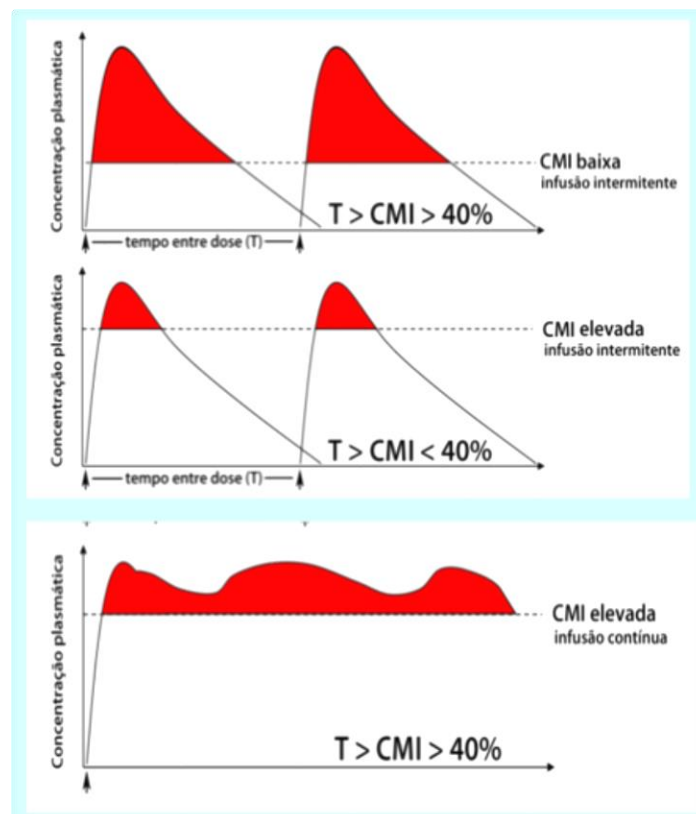


Figura 33. Comparação do $T > CMI$ de β -lactâmicos, em função da via de administração (Suarez and Gudiol, 2009).

VII. Uso clínico dos β -lactâmicos

Os antibióticos são considerados os etiotropos de maior eficácia terapêutica, apesar de atualmente alguns grupos bacterianos apresentarem múltiplas resistências a estes fármacos (Aslam *et al.*, 2018).

Os antibióticos β -lactâmicos são os mais utilizados na clínica, pois inibem a síntese do peptidoglicano com um mecanismo bactericida, com largo espectro de atividade contra bactérias de Gram positivo, de Gram negativo e contra anaeróbios estritos. Apresentam sinergismo com antibióticos de outras famílias, uma boa distribuição corpórea e reduzida frequência de efeitos adversos significativos (Tang *et al.*, 2014).

As diferentes moléculas deste grupo são destituídas de qualquer atividade contra bactérias sem parede celular (por exemplo, *Mycoplasma* spp.) que devido o seu baixo coeficiente de partilha não penetram com facilidade estruturas membranosas, o que justifica a sua ineficácia contra microrganismos intracelulares (por exemplo, *Chlamydia* spp. e *Legionella* spp.) (Sousa *et al.*, 2016).

Os β -lactâmicos têm propriedades farmacocinéticas favoráveis exibindo uma boa distribuição corpórea permitindo a sua utilização no tratamento de infeções em diversos tecidos e órgãos, onde atingem concentrações terapêuticas adequadas (Fernandez *et al.*, 2011).

7.1. Infeções da pele e tecidos moles

A pele humana tem uma microbiota específica sendo constituída por vários agentes microbianos, comensais e alguns patogénicos. As infeções de pele são causadas com maior predominância por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. e *Enterococcus* spp. (Sousa *et al.*, 2016).

O *S. aureus*, agente colonizador da pele e mucosas, é frequentemente associado a diversas infeções humanas, nomeadamente na pele (por exemplo, feridas cirúrgicas, úlceras diabéticas), no ambiente hospitalar e na comunidade (Wertheim *et al.*, 2005).

No Homem, as narinas anteriores são o principal nicho ecológico de *S. aureus* de um modo persistente ou intermitente, podendo causar um risco aumentado para adquirir infeções em outros locais, tendo sido evidenciada uma homologia genética entre as estirpes nasais e a dos isolados no local da infeção clínica (Wertheim *et al.* 2005).

Nas infecções causadas por estirpes de *S. aureus* suscetíveis à meticilina (**MSSA**), os β -lactâmicos flucloxacilina e dicloxacilina e as cefalosporinas da 1ª geração cefalexina ou cefazolina, refratárias às penicilinas estafilocócicas, constituem uma boa alternativa terapêutica (Lee *et al.*, 2018).

As estirpes de *S. aureus* resistentes à meticilina e cefoxitina (**MRSA**) ocorrem frequentemente em ambiente hospitalar (**HA-MRSA**), na comunidade (**CA-MRSA**) e nas explorações pecuárias (**LA-MRSA**). Os clones de *S. aureus* mais frequentes nestes 3 tipos de **MRSA** têm em comum a resistência aos β -lactâmicos, pois possuem o gene *mecA*, codificador de um PBP2a refratário à acilação por esta família de antibióticos, mas com um comportamento diferenciado em relação aos antibióticos não β -lactâmicos (Foster, 2019; Gordon and Lowy, 2008).

A vancomicina e a teicoplanina, antibióticos glicopeptídeos com atividade antiparietal, são a alternativa principal para o tratamento das infecções por **MRSA** (CIM ≤ 2 μ g/ml) pois possuem um alvo diferente do alvo dos antibióticos β -lactâmicos, embora ambos inibam a síntese do peptidoglicano por um mecanismo bactericida (Dhanda *et al.*, 2019).

Os clones HA-MRSA têm disseminado globalmente sendo responsáveis por infecções em diversos locais, sendo de destacar o clone brasileiro disseminado para Portugal (Aires-de-Sousa *et al.*, 2008).

Nos Estados Unidos da América foram isoladas estirpes CA-MRSA em infecções da pele, pneumonias e em sepsis, com resistência aos β -lactâmicos, mas com suscetibilidade a macrólidos e a clindamicina. Estas estirpes exibem um gene *pvl* codificador de uma toxina necrosante, designada por **leucocidina Panton-Valentine** (Gould, 2016).

O clone EMRSA-15 tem sido predominante no nosso País nas úlceras do pé diabético (Silva *et al.*, 2019).

Geralmente os clones **MRSA** exibem grande capacidade de aderência a superfícies bióticas (epitélio) e a superfícies abióticas (poliesterenos), a primeira etapa para a produção de biofilmes (McCarthy *et al.*, 2015; Arciola *et al.*, 2015) (**Figura 34**).

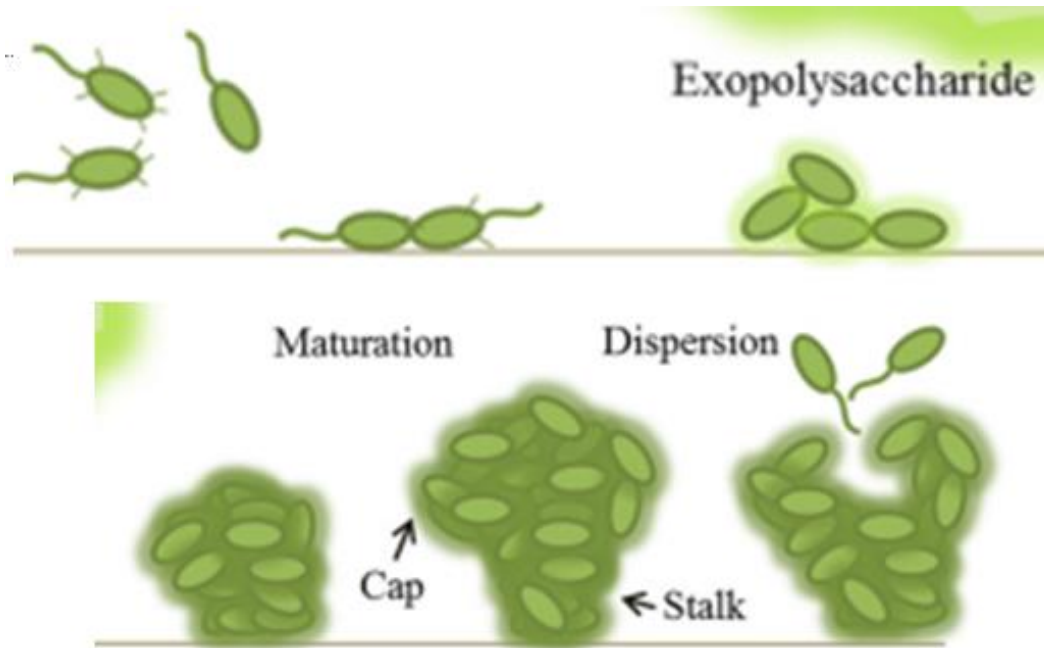


Figura 34. Cinética da formação de biofilmes bacterianos

As bactérias no interior do biofilme exibem resistência aos antibióticos o que não acontece no ambiente planctônico, tornando o esquema terapêutico instituído ineficaz, sendo necessário, desta forma, haver a remoção das superfícies abióticas. A presença de células bacterianas de elevada resistência no biofilme, denominadas “persister cells”, constitui um perigo para a saúde do paciente, dada a possibilidade de serem libertadas para o sistema sanguíneo, requerendo altos CMI (µg/ml) (Arciola *et al.*, 2015; Fauvart *et al.*, 2011).

O tratamento prolongado de infecções graves por estirpes MRSA com vancomicina ou com daptomicina (antibiótico membranoativo) podem gerar no local da infecção uma população bacteriana heterogênea, em que uma diminuta população exibe um comportamento intermédio à vancomicina (**hVISA**), evoluindo para um comportamento **VISA**, o que justifica a falência do tratamento (McGuinness *et al.*, 2017; Okado *et al.*, 2018).

Este fenómeno ainda não bem esclarecido tem sido atribuído ao espessamento da PC nas estirpes hVISA e VISA, com a particularidade do dipeptídeo terminal D-alanil-D-alanina do pentapeptídeo associado ao NAMA na PC estar em maior percentagem que nas células VSSA, imobilizando a vancomicina. Nestas condições o antibiótico não chega ao seu alvo

natural na membrana celular bacteriana em concentração adequada, ocorrendo falha terapêutica (Chang *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2013).

A transferência horizontal do operão *vanA* de *Enterococcus sp.* para MRSA, mediada por um transposão, deu origem a estirpes com o fenótipo **VRSA**, devido o gene *vanA* codificar a ligase, requerida para a presença do dipeptídeo D-alanil-D-lactato no PG, um alvo não reconhecido pela vancomicina (Chang *et al.*, 2003).

Para o tratamento das infecções causadas por estirpes **VRSA**, **VISA** e **VRE** foram introduzidos no armamentário terapêutico novas moléculas, nomeadamente moléculas inibidoras da síntese protéica (linezolida, quinupristina-dalfopristina e tigeciclina) e moléculas membranoativas (daptomicina) (Elghaieb *et al.*, 2019).

Uma opção promissora de tratamento para infecções complicadas por MRSA é o uso da daptomicina em associação com outros antimicrobianos, especialmente a Ceftarolina (cefalosporina de 5^a geração), porém, o surgimento de resistência durante o tratamento pode ser antecipado (Dhand and Sakoulas, 2014).

Recentemente, foi introduzida na terapêutica um derivado semissintético da vancomicina, a **oritavancina**, com a introdução de um radical lipófilo (**Figura 35**), o que amplia as suas propriedades antibacterianas em comparação com a molécula nativa, com maior atividade bactericida e maior espectro de atividade, sendo ativa contra estirpes **VISA**, **VRSA** e **VRE** (com fenótipo VanA e VanB) (Dhanda *et al.*, 2019).

A **Oritavancina** tem um mecanismo de ação antiparietal, como a vancomicina, associando-se ao dipeptídeo D-alanil-D-alanina presente no folheto externo da MC associado ao lipideo II, mas adicionalmente tem afinidade para o dipeptídeo D-alanina-D-lactato, presente nas estirpes com o fenotipo VanA, o que justifica o seu maior espectro de atividade contra *Staphylococcus aureus* VRSA e contra *Enterococcus faecium* e *E. faecalis* (VRE) (Saravolatz and Stein, 2015).

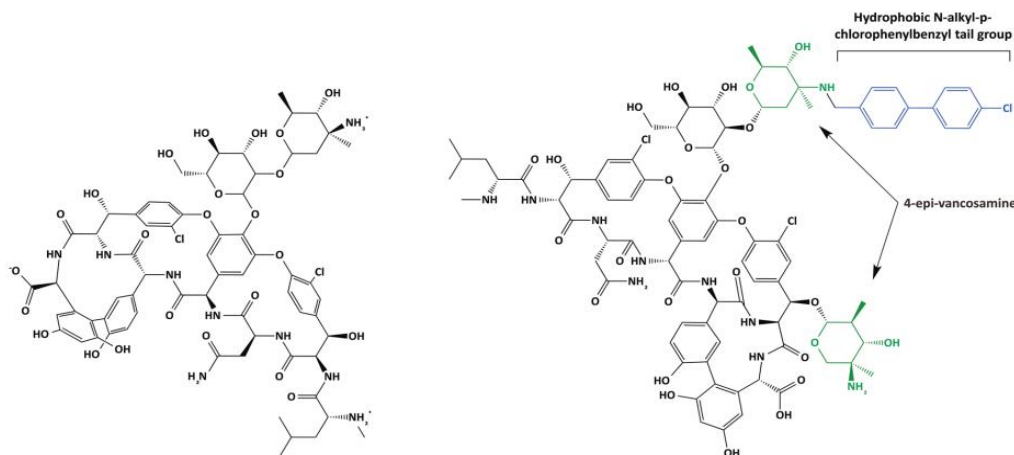


Figura 35. Estrutura química de oritavancina (à direita) e da vancomicina (à esquerda).

A introdução da cadeia lateral lipófila na molécula de oritavancina (**Figura 35**) associa-se fortemente ao lipídeo II membranar, perturbando a integridade da MC, alterando a sua permeabilidade (Saravolatz and Stein, 2015).

Em resumo, esta nova molécula lipoglicopeptídica e a **telavancina**, têm um duplo mecanismo de ação com atividade antiparietal e antimembranar, reforçando a sua forte atividade bactericida (Zhanel *et al.*, 2012).

Oritavancina tem ainda a particularidade de dificultar a formação de biofilmes, o que é relevante na terapêutica clínica (Zhanel *et al.*, 2012).

7.2. Infecções do trato respiratório superior

A penicilina G em baixa concentração sérica é ativa contra *S. pyogenes* (β -hemolítico do grupo A de Lancefield) um dos agentes etiológicos nas infecções do trato respiratório superior, dado não ter sido descrita qualquer estirpe produtora de penicilinase (Sousa *et al.*, 2016).

Como referido anteriormente, a CMI de penicilina contra *S. pyogenes* é muito baixa, podendo ser tratada com moléculas de penicilina de ação prolongada, como a **penicilina-benzatínica**, a qual liberta penicilina G ao longo de 2 a 3 semanas numa única dose (**Figura 32**). O tratamento prolongado com esta formulação evita a produção de anticorpos contra a estreptolisina O, fortemente antigénica, produzida por *S. pyogenes*, os quais reconhecem epítomos antigénicos no tecido cardíaco e renal, que poderá causar febre reumática ou lesão renal. A formulação oral de amoxicilina, com administração de 8 em

8 horas por um período de 7 dias também poderá ser utilizada (Garrett and Guimarães, 2001).

Têm sido descritos casos clínicos de falência deste esquema terapêutico, devido a presença na orofaringe de *Haemophilus influenzae* e *Moraxella catarrhalis*, produtoras de β -lactamases. O stress causado pela presença de penicilina no local da infecção pode estimular as bactérias de Gram negativo a formarem **vesículas lipídicas da OM (OMVs)** carregadas de β -lactamases (**Figura 36**) que podem inativar as penicilinas, tornando o tratamento ineficaz. Por isso, é aconselhado, nestes casos, o uso oral de azitromicina, um macrólido de 15 átomos no anel lactônico (Kulp and Kuehn, 2010).

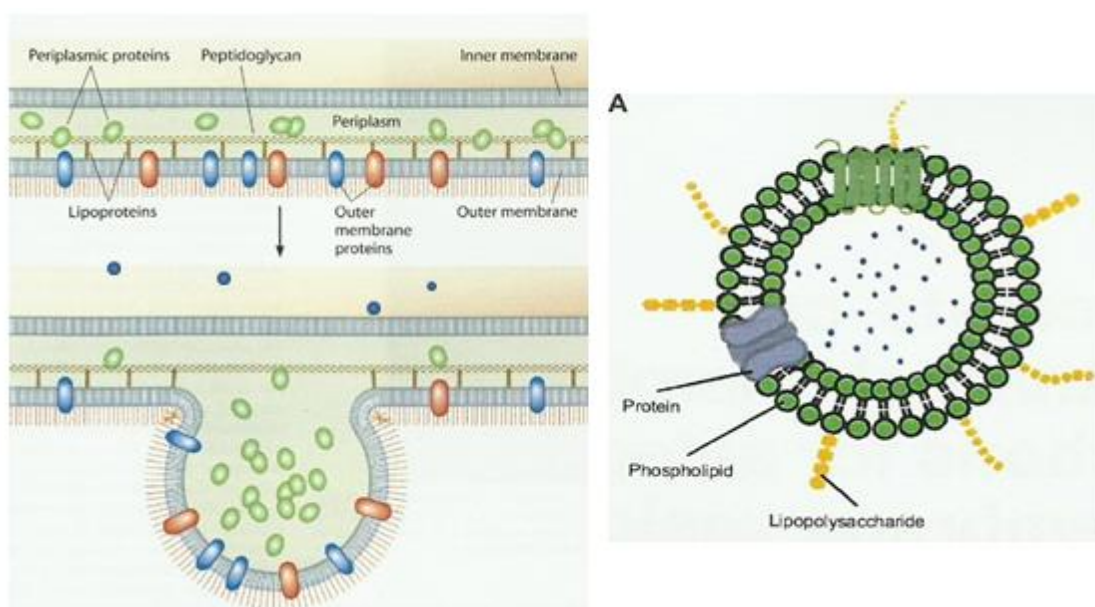


Figura 36. Vesiculação em bactérias de Gram negativo.

Ensaio *in vitro* demonstram que OMVs oriundas de uma estirpe de *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenemos (gene *bla_{oxa-24}*) foram incubadas com células de outra estirpe de *A. baumannii*, suscetível aos carbapenemos, permitindo a transferência dessa resistência (Mosqueda *et al.*, 2014).

Faringites orais por *N. gonorrhoeae* deixaram de ser tratadas com antibióticos em monoterapia dada a resistência das estirpes desta espécie ser muito elevada (**Figura 37**), sendo considerada pela WHO uma infecção emergente. Presentemente, é utilizado o tratamento duplo com ceftriaxona injetável (cefalosporina da 3ª geração), associado a azitromicina oral, devendo-se averiguar as resistências a estes antibióticos (Cole *et al.*, 2019).

A resistência à azitromicina exibida por algumas estirpes pode ser atribuída à presença de bombas de efluxo ou alterações no rRNA 23S, pela ação de metilases e a resistência à ceftriaxona pode ocorrer por mutação ou pela estrutura em mosaico do gene penA (PBP2) (Shigemura *et al.*, 2015; Unemo and Shafer, 2014).

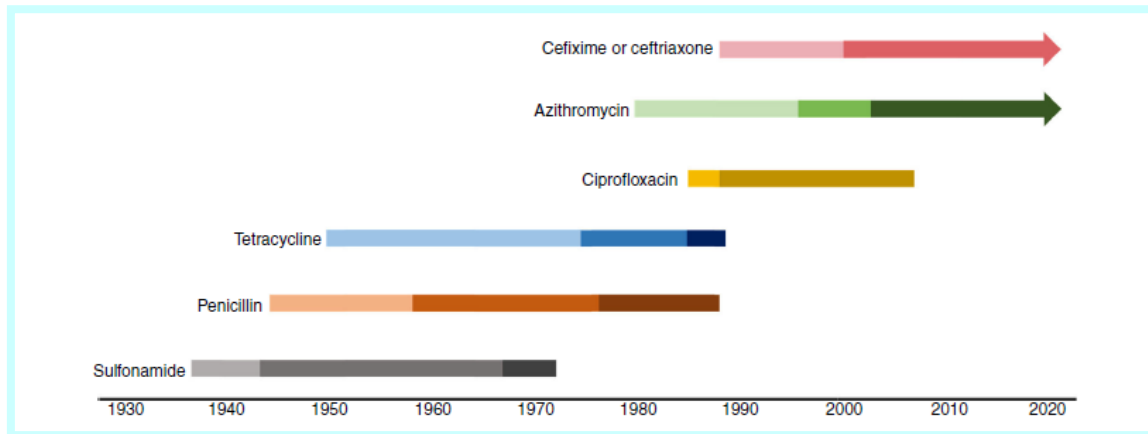


Figura 37. Cinética temporal da resistência aos antibióticos em *N. gonorrhoeae*.

O tratamento das sinusites e otites, frequentemente causadas por estirpes de *H. influenzae* e *M. catarrhalis* produtoras de β -lactamases plasmídicas, requer a utilização de amoxicilina em associação com ácido clavulânico ou oximinocefalosporinas e, por vezes, o uso de azitromicina. Pois, o *H. influenzae* pode ter resistência aos β -lactâmicos, sem a intervenção de β -lactamases, devido à presença de PBPs alterados (Skaare *et al.*, 2015).

7.3. Infecções do trato respiratório inferior

As infecções do trato respiratório inferior podem ser causadas por bactérias de Gram positivo, como indicado anteriormente, principalmente por MRSA.

As infecções causadas por *Streptococcus pneumoniae* também são frequentes, destacando-se a presença de estirpes com PBPs de estrutura em mosaico o que dificulta o tratamento com β -lactâmicos. Estas estirpes de *S. pneumoniae* pouco suscetíveis aos β -lactâmicos resultam da transferência de DNA de outros *Streptococcus* spp. oriundos da microbiota oral e recombinação homóloga com as células competentes do pneumococo (Grebe and Hakenbeck, 1996).

A vacinação em massa de crianças e idosos com antígenos capsulares de pneumococos reduziu significativamente as infecções por estes agentes (Sousa *et al.*, 2016).

A utilização de **daptomicina** (associado a Ca^{2+}) no trato respiratório inferior não é aconselhada por sofrer inativação com o surfactante que reveste o epitélio pulmonar. Este surfactante, constituído por cerca de 10% de fosfatidilglicerol (com carga negativa) associado a proteínas, promove a atração entre o fosfatidilglicerol aniónico e a molécula catiónica de daptomicina- Ca^{2+} , impedindo a sua atividade antimembranar sobre as bactérias (Silverman *et al.*, 2005).

As infeções causadas por bacilos de Gram negativo, nomeadamente as causadas por *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* fortemente produtoras de carbapenemases (serino e metalo-carbapenemases), tornam difícil a escolha terapêutica dentro da família dos β -lactâmicos. As carbapenemases mais frequentes em *K. pneumoniae* são as KPC, enzimas da classe A de Ambler, as carbapenemases NDM, IMP e VIM da classe B de Ambler e as OXA-48 da classe D de Ambler (Aslam *et al.*, 2018).

Uma das situações de difícil resolução diz respeito aos pacientes com fibrose cística, geralmente infetados com agentes bacterianos designados por “super bugs”, nomeadamente *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *Stenotrophomonas maltophilia*, sendo estas estirpes produtoras de enzimas inativadoras de antibióticos de diferentes famílias, modificadoras dos alvos, com bombas de efluxo ou impermeáveis aos antibióticos (Fauvart *et al.*, 2011).

Para resolver estas resistências, novas moléculas já fazem parte dos novos esquemas terapêuticos, **ceftazidima-avibactam** (cefalosporina anti-pseudomonas + inibidor de β -lactamases), e outras ainda estão em fase clínica, como são os casos da associação **aztreonamo-avibactam** (monobactamo + inibidor de β -lactamases) e **meropenemo-vaborbactam** (carbapenemo + inibidor de β -lactamases, derivado do ácido borónico) (Wright *et al.*, 2017; Petty *et al.*, 2018) (**Figura 38**).

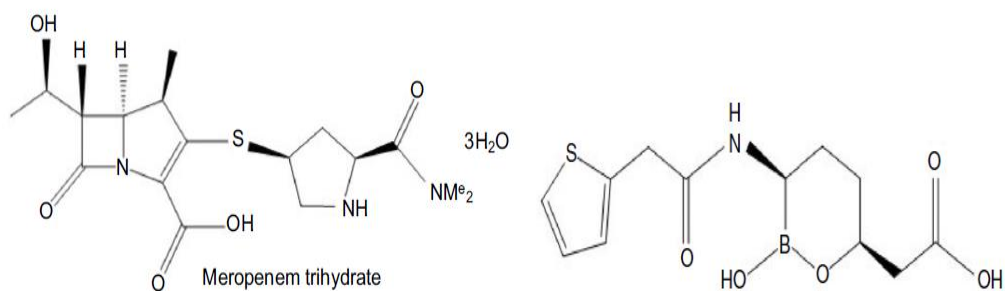


Figura 38. Estrutura química do carbapenemo meropenemo (à esquerda) associado ao inibidor de β -lactamases vaborbactam (à direita) (Petty *et al.*, 2018).

O **Cefiderocol**, cefalosporina siderófora em estudo clínico (**Figura 39**), tem um largo espectro de ação contra bactérias que causam infecções difíceis de tratar, nomeadamente *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, produtoras de carbapenemases da classe A, B e D de Ambler (Koulenti *et al.*, 2019; Zhanel *et al.*, 2019).

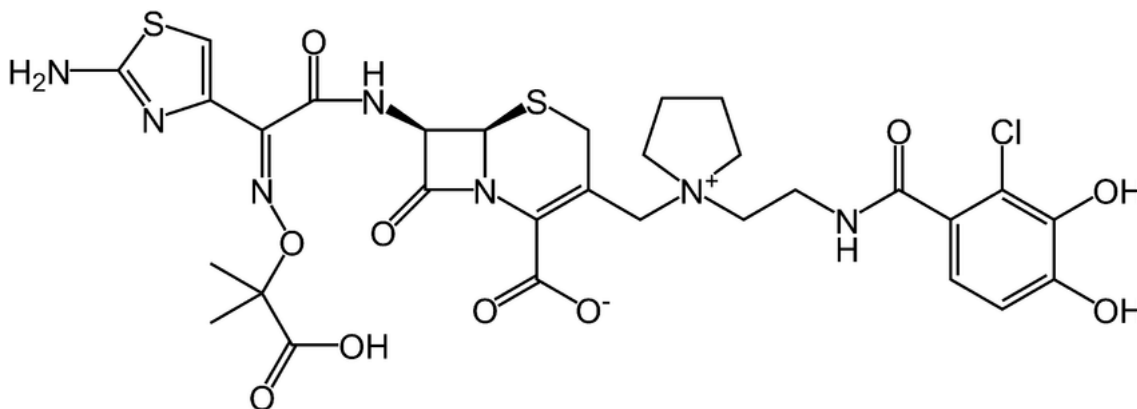


Figura 39. Estrutura química de cefiderocol.

Em casos de infecções causados por estirpes Gram negativo com resistência extrema aos antibióticos (**XDR**), as **polimixinas** (antibióticos membranoativos) são, hoje, a última alternativa (Olaitan *et al.*, 2014).

As polimixinas são moléculas de natureza catiónica e anfipáticas, o que justifica a sua afinidade para o lipídeo A da OM, carregado negativamente, desmobilizando os iões bivalentes estabilizadores de LPS adjacentes, desorganizando a sua permeabilidade. A **colistina** tem, agora, acesso aos fosfolipídeos de carga negativa presentes na MC, fosfatidilglicerol e cardiolipina, devido à inserção da parte hidrofóbica da molécula na matriz lipídica da MC, causando uma dissipação da sua carga elétrica, alterando a sua permeabilidade e causando um efluxo do conteúdo celular bacteriano e morte celular (Bialvaei and Samadi Kafil, 2015; Trimble *et al.*, 2016) (**Figura 40**).

Abordagens recentes sugerem o uso de colistina em combinação com outros antibióticos (por exemplo, colistina + tigeciclina e colistina + meropenem) para aumentar a eficácia terapêutica antibacteriana (Biswas *et al.*, 2012).

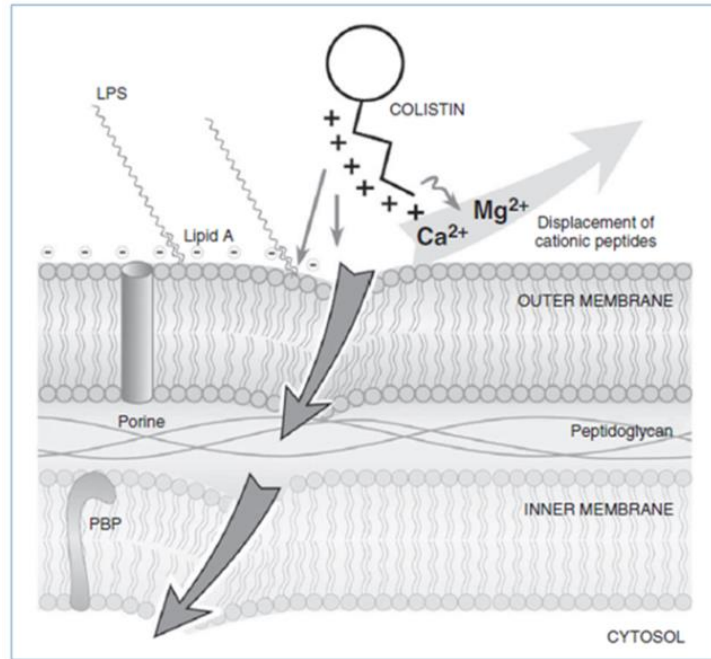


Figura 40. Mecanismo de ação da colistina (polimixina E).

Estudos *in vivo* estão sendo realizados para aumentar a atividade de antibióticos no tratamento de infecções causadas por bactérias de Gram positivo e Gram negativo MDR com peptídeos naturais e sintéticos em combinação com antibióticos convencionais para melhorar a eficácia no tratamento. O tratamento combinado mostrou efeitos sinérgicos que reduziram significativamente a formação de biofilmes bacterianos, a resposta imune natural e a probabilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana, independentemente do modo de ação do antibiótico (Pletzer *et al.*, 2018).

As doenças pulmonares causadas por *Legionella pneumophila*, um parasita intracelular, não são tratadas com β -lactâmicos, sendo geralmente tratadas com antibióticos inibidores da síntese protéica na subunidade 50S (eritromicina), dada a natureza lipófila destas moléculas, conseguindo atingir concentrações terapêuticas elevadas intracelularmente (Sousa *et al.*, 2016).

A tuberculose pulmonar causada por *Mycobacterium* spp ocorre com grande significado em grandes áreas do globo terrestre, caracterizada por elevada resistência aos antibióticos tradicionalmente usados no tratamento desta infecção (estirpes XDR e TDR). Os antibióticos β -lactâmicos não são habitualmente utilizados nesta patologia, como antibióticos de 1ª linha pois não atravessam a parede destes microrganismos (Muller *et al.*, 2013).

7.4. Infecções do trato urinário (UTI)

Os β -lactâmicos são antibióticos indicados para o tratamento da UTI, pois atingem, na urina, concentrações cerca de 3.000 vezes superiores à concentração sérica do antibiótico (Sousa *et al.*, 2016).

No tratamento da infecção urinária baixa, a amoxicilina + ácido clavulânico é uma das opções aconselhadas. No entanto, a cistite, infecção geralmente causada por ascensão para a bexiga de estirpes entéricas de *E. coli* (maioritariamente produtoras de β -lactamases do tipo AmpC plasmídica - frequentemente CMY-2 - e carbapenemases), requer a utilização terapêutica de outras moléculas, já indicadas anteriormente em infecções do trato respiratório inferior (Aslam *et al.*, 2018) .

É evidente que todas estas considerações têm de ressaltar o valor de clearance da creatinina do paciente. E, em casos de disfunção renal, as doses são diminuídas ou o prazo entre as administrações alargadas. Isto é particularmente relevante para os antibióticos nefrotóxicos, como é o caso das polimixinas.

7.5. Infecções genitais

Os β -lactâmicos são frequentemente utilizados no tratamento destas infecções. Apesar da fraca utilização terapêutica da penicilina G, esta é frequentemente usada sob a forma de depósito, penicilina-benzatínica, numa única dose de 2.400.000 UI no tratamento da sífilis devido a sua atividade sobre *Treponema pallidum, subspp. Pallidum* (Katzung and Trevor, 2017).

No tratamento das uretrites, cervicites ou proctites por *N. gonorrhoeae*, os antibióticos β -lactâmicos são utilizados conforme referido na gonorréia oral (Cole *et al.*, 2019).

As infecções genitais por *N. gonorrhoeae* são frequentemente associadas com *Chlamydia trachomatis*, o que requer o tratamento adicional com tetraciclina ou macrólidos (Lewis, 2014).

7.6. Infecções do sistema nervoso central (SNC)

As infecções bacterianas do SNC podem ser causadas por bactérias, fungos e vírus, sendo frequentemente ocasionadas por *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae e Streptococcus pneumoniae* (Katzung and Trevor, 2017).

Estas infecções foram inicialmente tratadas com penicilina G em altas doses, mas, por mutação ou aquisição de genes de resistência à penicilina, são tratadas geralmente com cefalosporinas da 3ª geração (cefotaxima ou ceftriaxona) (Testa *et al.*, 2015).

A vacinação em crianças instituída no Esquema Nacional de Vacinação contra *Haemophilus influenzae* (serótipo b), *Neisseria meningitidis* (serótipo capsular B e C) e contra *Streptococcus pneumoniae* (com 13 ou 23 serotipos capsulares) fez diminuir a incidência desta infecção (Sousa *et al.*, 2016).

7.7. Infecções do trato gastrointestinal (TGI)

São frequentemente causadas por bactérias, nomeadamente por estirpes enterotoxígenas ou enteroinvasivas de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Yersinia enterocolitica*, por *Aeromonas* sp., *Vibrio Cholerae* e *Campylobacter* spp. (Barroso and Taveira, 2014).

Nas infecções por bactérias enterotoxígenas a terapêutica antibiótica não é a primeira atitude clínica devido ao desequilíbrio eletrolítico eminente, sendo aconselhada a hidratação do paciente com eletrólitos (Rang and Dale, 2012).

Nas infecções invasivas, o tratamento com antibióticos assume um papel primordial, particularmente nos casos de Salmonelose, pois, as estirpes de *Salmonella* spp. exibem elevada resistência aos antibióticos β -lactâmicos (ESBLs, carbapenemas, etc.), bem como a outras famílias de antibióticos (Sousa *et al.*, 2016).

Para o tratamento das infecções entéricas por *V. cholerae* e *Campylobacter* spp. os β -lactâmicos não são utilizados (Barroso and Taveira, 2014).

Na gastrite crónica, geralmente causada por *Helicobacter pylori*, a amoxicilina é normalmente utilizada em associação com antibióticos de outras famílias (Barroso and Taveira, 2014).

7.8. Uso clínico dos β -lactâmicos em pacientes especiais

Insuficiência renal - em pacientes com insuficiência renal deve haver o ajuste da dose da penicilina. Caso contrário, pode provocar crises convulsivas devido a altas concentrações.

A meticilina e a cefaloridina são medicamentos que tiveram seu uso descontinuado na clínica devido a sua nefrotoxicidade (Katzung and Trevor, 2017).

Insuficiência hepática – Em regra, em pacientes com insuficiência hepática não é necessário haver ajuste de doses. Porém, alguns medicamentos β -lactâmicos excretados preferencialmente pela via hépato-biliar (como por exemplo, a cefoperazona, cefalosporina de 3ª geração) devem ser avaliados pois aumentam o seu tempo de semivida (Sousa *et al.*, 2016).

Pediatria - o pH estomacal no recém-nascido é neutro e até os 3 anos de idade diminui gradualmente até chegar num valor aproximado aos adultos (pH 2-3). Durante esta fase, o pH do estômago não favorecerá a absorção dos fármacos, nomeadamente a amoxicilina e ampicilina (ácidos fracos), que estarão na sua forma não ionizada, diminuindo sua atividade. Outros fatores interferem na farmacocinética dos fármacos, como a imaturidade hepática, renal, intestinal e a reduzida quantidade de albumina, que podem aumentar a toxicidade no seu uso em crianças (Fernandez *et al.*, 2011).

Gestantes - a concentração plasmática das penicilinas e cefalosporinas em grávidas é inferior ao da mulher não grávida, devido a maior eliminação renal, menor tempo de semivida e maior volume de distribuição no período da gestação. Como regra geral, os antibióticos β -lactâmicos podem ser usados, mas o seu benefício deve ser maior do que o risco ao feto. Sendo as penicilinas as mais seguras do grupo, as cefalosporinas devem ser usadas apenas em infeções graves (Sousa *et al.*, 2016).

Idosos - nesta fase, o pH estomacal é menor, assim como a massa muscular, a concentração da albumina no plasma, a metabolização hepática e a função renal, que podem propiciar um maior aumento de efeitos adversos, principalmente quando existe a coadministração com outros fármacos (Sousa *et al.*, 2016).

7.9. Efeitos secundários

Os efeitos tóxicos diretos ocasionados com o uso das penicilinas não são muito significativos, pelas razões expostas anteriormente descritas. Os principais efeitos adversos estão relacionados com as reações de hipersensibilidade induzidas pelos produtos de degradação da penicilina, que se combinam à proteína do infetado e são reconhecidos como antigénios (Rang and Dale, 2012) (**Figura 41**).

Os efeitos adversos mais frequentes dos β -lactâmicos são as reações de hipersensibilidade como as erupções cutâneas (urticária, edema, prurido intenso). Com menor frequência, pode ocorrer nefrite intersticial (reação autoimune ao complexo penicilina-proteína),

eosinofilia, anemia hemolítica, outros distúrbios hematológicos e vasculite. As reações de hipersensibilidade mais graves são angioedema e o choque anafilático agudo com consequências sérias podendo levar à morte (Katzung and Trevor, 2017).

Pacientes alérgicos aos β -lactâmicos podem ser tratados com outros antibióticos alternativos devido à possibilidade de reações cruzadas de hipersensibilidade com as outras classes dos antibióticos β -lactâmicos (Katzung and Trevor, 2017).

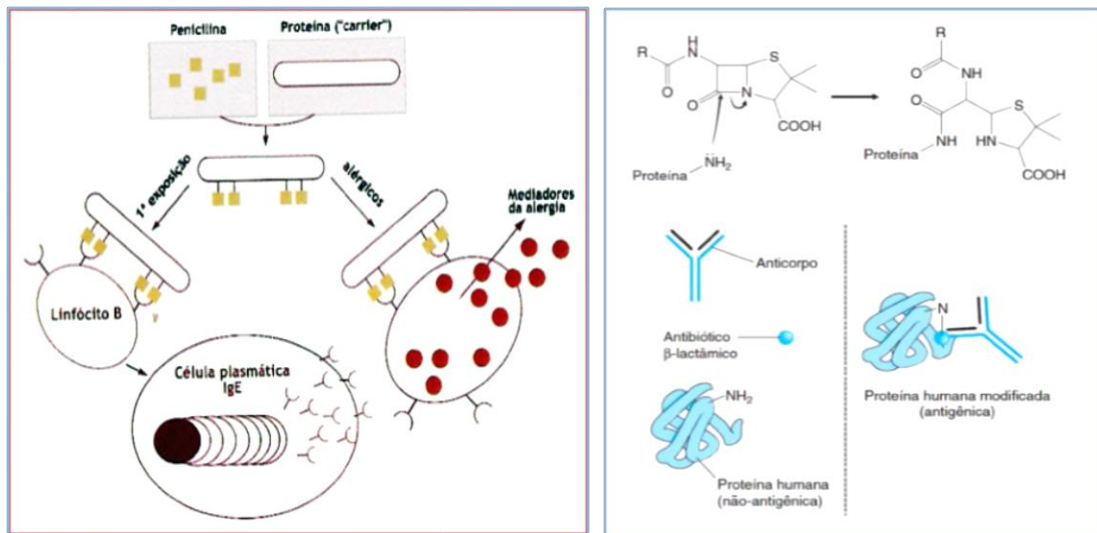


Figura 41. Mecanismo das reações alérgicas dos β -lactâmicos.

A diarreia é um tipo de reação que não está relacionada com a hipersensibilidade, mas sim por alteração da composição da microflora intestinal (mais acentuada quando a administração é feita por via oral) que pode ocasionar em alguns doentes uma superinfecção em decorrência desta alteração na flora. Também podem ocorrer outros efeitos secundários, como candidíase vaginal (Hardman and Limbird, 1996).

VIII. Conclusão

Os antibióticos β -lactâmicos constituem o grupo mais utilizado na clínica, devido às suas propriedades farmacológicas e a sua baixa incidência de efeitos colaterais.

Como a disseminação das resistências bacterianas tem vindo a aumentar por todo o mundo, ocorrem situações cada vez mais frequentes de ineficácia dos β -lactâmicos.

A resistência aos antibióticos nas bactérias de Gram positivo, particularmente em *S. aureus*, é uma das maiores preocupações. As estirpes de *S. aureus* produtoras de penicilinas tornam a penicilina G ineficaz, passando a utilizar as penicilinas resistentes à hidrólise das penicilinas com a introdução das isoxazolilpenicilinas e metilicina.

Com o aparecimento de estirpes resistentes à metilicina (MRSA), a vancomicina foi o antibiótico de eleição. A evolução da resistência em *S. aureus* conduziu ao aparecimento de estirpes hVISA, VISA e VRSA.

A investigação na produção de novas moléculas contra MRSA, VRSA e VRE, nomeadamente, linezolida, quinupristina-dalfopristina, tigeciclina e daptomicina, proporcionou alternativas na terapia antimicrobiana para as bactérias de Gram positivo.

O problema mais preocupante ocorreu nas bactérias de Gram negativo com a presença de β -lactamases de largo espectro, como carbapenemases e AmpC plasmídicas diminuindo as opções terapêuticas.

O desenvolvimento de novas moléculas ou associações com inibidores de β -lactamases tornou-se urgente, pois, o desenvolvimento da resistência era maior que a introdução de novos antibióticos na terapêutica.

No entanto, várias moléculas estão em fase clínica de estudo, como cefalosporinas sideróforas, monobactams e carbapenems associadas com inibidores de β -lactamases para ampliar as alternativas terapêuticas.

Contudo, é reconhecido que grupos bacterianos têm a capacidade de formar biofilmes tornando ineficazes muitos dos esquemas terapêuticos utilizados na clínica.

Embora ainda em estudo, os peptídeos catiónicos de pequeno tamanho, naturais ou sintéticos, revelaram grande atividade bactericida de largo espectro com propriedades antibiofilme e bloqueadores do efeito endotóxico do lipídeo A. Desta forma, apresentam grande vantagem terapêutica e efeito sinérgico em associação com β -lactâmicos,

melhorando a resposta imune natural e diminuindo a probabilidade de resistência bacteriana.

Apesar das descobertas promissoras, é necessário que não haja nenhuma interrupção na procura por novos agentes microbianos, renovando ao máximo as novas compreensões e tecnologias para que os nossos descendentes não sofram com a escassez do armamentário terapêutico antimicrobiano.

IX. Referências

- Abraham, E. P. (1991). A retrospective view of beta-lactamases. *J Chemother*, 3, pp. 67-74.
- Abraham, E. P., Chain, E., Fletcher, C. M., *et al.* (1992). Further observations on penicillin. 1941. *Eur J Clin Pharmacol*, 42, pp. 3-9.
- Aires-de-Sousa, M., Correia, B. and de Lencastre, H. (2008). Changing patterns in frequency of recovery of five methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Portuguese hospitals: surveillance over a 16-year period. *J Clin Microbiol*, 46, pp. 2912-2917.
- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol*, 1, pp. 134.
- Arciola, C. R., Campoccia, D., Ravaoli, S., *et al.* (2015). Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. *Front Cell Infect Microbiol*, 5, pp. 7.
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., *et al.* (2018). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist*, 11, pp. 1645-1658.
- Asli, A., Brouillette, E., Krause, K. M., *et al.* (2016). Distinctive Binding of Avibactam to Penicillin-Binding Proteins of Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 60, pp. 752-756.
- Barroso, H. and Taveira, N. (2014). *Vibrio, Campylobacter e Helicobacter*. In: Duarte, A. and Pereira, F. M. (Eds.) *Microbiologia Médica*. 1ª Ed. Lisboa, Lidel Lda, pp. 358-381.
- Beveridge, T. J. (1999). Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. *J Bacteriol*, 181, pp. 4725-4733.
- Bialvaei, A. Z. and Samadi Kafil, H. (2015). Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*, 31, pp. 707-721.
- Biswas, S., Brunel, J. M., Dubus, J. C., *et al.* (2012). Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 10, pp. 917-934.

- Bonomo, R. A. (2017). beta-Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 7, pp.
- Brown, E. E. F., Cooper, A., Carrillo, C., *et al.* (2019). Selection of Multidrug-Resistant Bacteria in Medicated Animal Feeds. *Front Microbiol*, 10, pp. 456.
- Brown, L., Wolf, J. M., Prados-Rosales, R., *et al.* (2015a). Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nat Rev Microbiol*, 13, pp. 620-630.
- Brown, L., Wolf, J. M., Prados-Rosales, R., *et al.* (2015b). Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *NATURE REVIEWS MICROBIOLOGY*, 13, pp. 620-620-630.
- Bush, K. (2018). Past and Present Perspectives on beta-Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 62, pp.
- Chang, S., Sievert, D. M., Hageman, J. C., *et al.* (2003). Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med*, 348, pp. 1342-1347.
- Chaudhry, S. B., Veve, M. P. and Wagner, J. L. (2019). Cephalosporins: A Focus on Side Chains and β -Lactam Cross-Reactivity. *Pharmacy*, 7, pp. 103.
- Cole, M. J., Quaye, N., Jacobsson, S., *et al.* (2019). Ten years of external quality assessment (EQA) of *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility testing in Europe elucidate high reliability of data. *BMC Infect Dis*, 19, pp. 281.
- de Kraker, M. E., Stewardson, A. J. and Harbarth, S. (2016). Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Med*, 13, pp. e1002184.
- Dhand, A. and Sakoulas, G. (2014). Daptomycin in combination with other antibiotics for the treatment of complicated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Ther*, 36, pp. 1303-1316.
- Dhanda, G., Sarkar, P., Samaddar, S., *et al.* (2019). Battle against Vancomycin-Resistant Bacteria: Recent Developments in Chemical Strategies. *J Med Chem*, 62, pp. 3184-3205.
- Drawz, S. M. and Bonomo, R. A. (2010). Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev*, 23, pp. 160-201.

Elghaieb, H., Freitas, A. R., Abbassi, M. S., *et al.* (2019). Dispersal of linezolid-resistant enterococci carrying *poxtA* or *optrA* in retail meat and food-producing animals from Tunisia. *J Antimicrob Chemother*, 74, pp. 2865-2869.

Fauvart, M., De Groote, V. N. and Michiels, J. (2011). Role of persister cells in chronic infections: clinical relevance and perspectives on anti-persister therapies. *J Med Microbiol*, 60, pp. 699-709.

Fernandez, E., Perez, R., Hernandez, A., *et al.* (2011). Factors and Mechanisms for Pharmacokinetic Differences between Pediatric Population and Adults. *Pharmaceutics*, 3, pp. 53-72.

Foster, T. J. (2019). Can beta-Lactam Antibiotics Be Resurrected to Combat MRSA? *Trends Microbiol*, 27, pp. 26-38.

Gajdacs, M. (2019). The Continuing Threat of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*, 8, pp.

Garrett, J. and Guimarães, S. (2001). Antibióticos lactâmicos β . In: Osswald, W. and Guimarães, S. (Eds.) *Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas*. Portugal, Porto Editora, pp. 822-852.

Gordon, R. J. and Lowy, F. D. (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*, 46 Suppl 5, pp. S350-359.

Gould, K. (2016). Antibiotics: from prehistory to the present day. *J Antimicrob Chemother*, 71, pp. 572-575.

Grebe, T. and Hakenbeck, R. (1996). Penicillin-binding proteins 2b and 2x of *Streptococcus pneumoniae* are primary resistance determinants for different classes of beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*, 40, pp. 829-834.

Hardman, J. G. and Limbird, E. L. (1996). Fármacos Antimicrobianos : Penicilinas, Cefalosporinas e outros antibióticos beta-lactâmicos. In: Molinoff, P. B. and Ruddon, R. W. (Eds.) *Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 9ª Ed. Rio de Janeiro, McGraw-Hill Interamericana Editores,S.A de C.V., pp. 790-811.

Holmes, A. H., Moore, L. S., Sundsfjord, A., *et al.* (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*, 387, pp. 176-187.

- Hu, J., Ma, X. X., Tian, Y., *et al.* (2013). Reduced vancomycin susceptibility found in methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Northeast China. *PLoS One*, 8, pp. e73300.
- Katzung, B. G. and Trevor, A. J. (2017). Antibióticos β -lactâmicos e outros antibióticos ativos na parede e membrana celular *In: Deck, D. H. and Winston, L. G. (Eds.) Farmacologia Básica e Clínica*. 13ª Ed. Porto Alegre, Mc-Gram Hill Education, pp. 769-787.
- Kourenti, D., Song, A., Ellingboe, A., *et al.* (2019). Infections by multidrug-resistant Gram-negative Bacteria: What's new in our arsenal and what's in the pipeline? *Int J Antimicrob Agents*, 53, pp. 211-211-224.
- Kulp, A. and Kuehn, M. J. (2010). Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annu Rev Microbiol*, 64, pp. 163-184.
- Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., *et al.* (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*, 4, pp. 18033.
- Lewis, D. A. (2014). Global resistance of *Neisseria gonorrhoeae*: when theory becomes reality. *Curr Opin Infect Dis*, 27, pp. 62-67.
- Liu, Y., Li, R., Xiao, X., *et al.* (2018). Molecules that Inhibit Bacterial Resistance Enzymes. *Molecules*, 24, pp.
- Livermore, D. M. (2011). Discovery research: the scientific challenge of finding new antibiotics. *J Antimicrob Chemother*, 66, pp. 1941-1944.
- Llarrull, L. I., Fisher, J. F. and Mobashery, S. (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, pp. 4051-4063.
- Lobanovska, M. and Pilla, G. (2017). Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? *Yale J Biol Med*, 90, pp. 135-145.
- Marinho, A. and Taveira, N. (2014). Princípios gerais de bacteriologia. *In: Barroso, H., Meliço-Silvestre, A. and Taveira, N. (Eds.) Microbiologia Médica*. Lisboa, Portugal, Lidel, pp. 3-36.

- McCarthy, H., Rudkin, J. K., Black, N. S., *et al.* (2015). Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol*, 5, pp. 1.
- McGuinness, W. A., Malachowa, N. and DeLeo, F. R. (2017). Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med*, 90, pp. 269-281.
- Miller, W. R., Munita, J. M. and Arias, C. A. (2014). Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 12, pp. 1221-1236.
- Mosqueda, N., Gato, E., Roca, I., *et al.* (2014). Characterization of plasmids carrying the blaOXA-24/40 carbapenemase gene and the genes encoding the AbkA/AbkB proteins of a toxin/antitoxin system. *J Antimicrob Chemother*, 69, pp. 2629-2633.
- Muller, B., Borrell, S., Rose, G., *et al.* (2013). The heterogeneous evolution of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Genet*, 29, pp. 160-169.
- Okado, J. B., Avaca-Crusca, J. S., Oliveira, A. L., *et al.* (2018). Daptomycin and vancomycin heteroresistance revealed among CC5-SCCmecII MRSA clone and in vitro evaluation of treatment alternatives. *J Glob Antimicrob Resist*, 14, pp. 209-216.
- Olaitan, A. O., Morand, S. and Rolain, J. M. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol*, 5, pp. 643.
- Oliver, R. A., Li, R. and Townsend, C. A. (2018). Monobactam formation in sulfazecin by a nonribosomal peptide synthetase thioesterase. *Nat Chem Biol*, 14, pp. 5-7.
- Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., *et al.* (2011). Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrob Agents Chemother*, 55, pp. 4943-4960.
- Park, J. T. and Uehara, T. (2008). How bacteria consume their own exoskeletons (turnover and recycling of cell wall peptidoglycan). *Microbiol Mol Biol Rev*, 72, pp. 211-227, table of contents.
- Paterson, D. L. and Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, 18, pp. 657-686.
- Peschel, A. (2002). How do bacteria resist human antimicrobial peptides? *Trends Microbiol*, 10, pp. 179-186.

- Petty, L. A., Henig, O., Patel, T. S., *et al.* (2018). Overview of meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Infect Drug Resist*, 11, pp. 1461-1472.
- Pizzolato-Cezar, L. R., Okuda-Shinagawa, N. M. and Machini, M. T. (2019). Combinatory Therapy Antimicrobial Peptide-Antibiotic to Minimize the Ongoing Rise of Resistance. *Front Microbiol*, 10, pp. 1703.
- Pletzer, D., Mansour, S. C. and Hancock, R. E. W. (2018). Synergy between conventional antibiotics and anti-biofilm peptides in a murine, sub-cutaneous abscess model caused by recalcitrant ESKAPE pathogens. *PLoS Pathog*, 14, pp. e1007084.
- Rang, H. P. and Dale, M. M. (2012). Fármacos Antibacterianos. *In*: Rang, H. P. and Dale, M. M. (Eds.) *Farmacologia*. 7ª Ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda, pp. 622-636.
- Ros-Vivancos, C., Gonzalez-Hernandez, M., Navarro-Gracia, J. F., *et al.* (2018). [Evolution of treatment of syphilis through history]. *Rev Esp Quimioter*, 31, pp. 485-492.
- Santajit, S. and Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int*, 2016, pp. 2475067.
- Saravolatz, L. D. and Stein, G. E. (2015). Oritavancin: A Long-Half-Life Lipoglycopeptide. *Clin Infect Dis*, 61, pp. 627-632.
- Shigemura, K., Osawa, K., Miura, M., *et al.* (2015). Azithromycin resistance and its mechanism in *Neisseria gonorrhoeae* strains in Hyogo, Japan. *Antimicrob Agents Chemother*, 59, pp. 2695-2699.
- Shrivastava, S., Shrivastava, P. and Ramasamy, J. (2018). World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *Journal of Medical Society*, 32, pp. 76-77.
- Silva, M. T. and Sousa, J. C. (1972). Ultrastructural alterations induced by moist heat in *Bacillus cereus*. *Appl Microbiol*, 24, pp. 463-476.
- Silva, M. T. and Sousa, J. C. (1973). Ultrastructure of the cell wall and cytoplasmic membrane of gram-negative bacteria with different fixation techniques. *J Bacteriol*, 113, pp. 953-962.

- Silva, V., Almeida, F., Carvalho, J. A., *et al.* (2019). Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* EMRSA-15 clone as the predominant cause of diabetic foot ulcer infections in Portugal. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, pp.
- Silverman, J. A., Mortin, L. I., Vanpraagh, A. D., *et al.* (2005). Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact. *J Infect Dis*, 191, pp. 2149-2152.
- Skaare, D., Lia, A., Hannisdal, A., *et al.* (2015). Haemophilus influenzae with Non-Beta-Lactamase-Mediated Beta-Lactam Resistance: Easy To Find but Hard To Categorize. *J Clin Microbiol*, 53, pp. 3589-3595.
- Sousa, J. S., Machado, E., Novais, C., *et al.* (2016). *Antibióticos*. Porto, Universidade Fernando Pessoa.
- Suarez, C. and Gudiol, F. (2009). [Beta-lactam antibiotics]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 27, pp. 116-129.
- Tan, S. Y. and Tatsumura, Y. (2015). Alexander Fleming (1881-1955): Discoverer of penicillin. *Singapore Med J*, 56, pp. 366-367.
- Tang, S. S., Apisarnthanarak, A. and Hsu, L. Y. (2014). Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 78, pp. 3-3-13.
- Testa, R., Canton, R., Giani, T., *et al.* (2015). In vitro activity of ceftazidime, ceftaroline and aztreonam alone and in combination with avibactam against European Gram-negative and Gram-positive clinical isolates. *Int J Antimicrob Agents*, 45, pp. 641-646.
- Thakuria, B. and Lahon, K. (2013). The Beta Lactam Antibiotics as an Empirical Therapy in a Developing Country: An Update on Their Current Status and Recommendations to Counter the Resistance against Them. *J Clin Diagn Res*, 7, pp. 1207-1214.
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., *et al.* (2019). beta-Lactamases and beta-Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol*, pp.
- Trimble, M. J., Mlynarcik, P., Kolar, M., *et al.* (2016). Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6, pp.

Unemo, M. and Shafer, W. M. (2014). Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev*, 27, pp. 587-613.

Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., *et al.* (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112, pp. 5649-5654.

Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., *et al.* (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 5, pp. 751-762.

Wright, H., Bonomo, R. A. and Paterson, D. L. (2017). New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn? *Clin Microbiol Infect*, 23, pp. 704-712.

Zhanel, G. G., Golden, A. R., Zelenitsky, S., *et al.* (2019). Cefiderocol: A Siderophore Cephalosporin with Activity Against Carbapenem-Resistant and Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. *Drugs*, 79, pp. 271-289.

Zhanel, G. G., Schweizer, F. and Karlowsky, J. A. (2012). Oritavancin: mechanism of action. *Clin Infect Dis*, 54 Suppl 3, pp. S214-219.