

ARTIGO DE REVISÃO

Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que bla bla bla é esse?*Beta-lactamase-producing gram-negative bacilli: which bla bla bla is this?**¿Bacilos gram-negativos productores de beta-lactamasa: que bla bla bla es ese?*Leonardo Neves Andrade,¹ Ana Lúcia Costa Darini¹¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) / Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Recebido em: 23/11/2016

Aceito em: 17/01/2017

leonardo@fcrp.usp.br

RESUMO

“ESBL”, “Classe molecular de Ambler” e “superbactéria KPC” são termos diretamente relacionados às beta-lactamases e à resistência bacteriana aos antibióticos, comentados entre profissionais da área da saúde, mas nem sempre compreendidos com clareza. Mas afinal, o que é uma beta-lactamase? ...como são classificadas? ...qual sua importância? Para esclarecer aqueles termos e responder essas questões, esta revisão objetivou apresentar conceitos sobre as características das principais beta-lactamases produzidas por bacilos gram-negativos de importância clínica e laboratorial. As informações serão apresentadas em múltiplos níveis de complexidade (utilizando texto e tabelas) para introduzir o conhecimento sobre as beta-lactamases aos profissionais da área da saúde como médicos, biomédicos, farmacêuticos, biólogos e, principalmente, para consolidar conceitos práticos para infectologistas e microbiologistas.

Descritores: Resistência Microbiana a Medicamentos. Resistência a Antibióticos. Antibacterianos. Antibióticos. AmpC. ESBL. Carbapenemase. KPC. NDM. Superbactéria.

ABSTRACT

“ESBL”, “Molecular Class of Ambler” and “KPC superbug” are terms directly related to beta-lactamases and bacterial resistance to antibiotics, commented upon by health professionals but not always clearly understood. But after all, what is a beta-lactamase? ...how are they classified? ...what is its importance? To clarify these terms and answer those questions, this review aimed to present concepts regarding the characteristics of the main beta-lactamases produced by gram-negative bacilli

of clinical and laboratory importance. The information will be presented at multiple levels of complexity (using text and tables) to introduce knowledge about beta-lactamases to health professionals such as physicians, biochemists, pharmacists, biologists and, especially, to consolidate practical concepts for infectologists and microbiologists.

Keywords: Microbial Resistance to Medicines. Resistance to Antibiotics. Antibacterials. Antibiotics. AmpC. ESBL. Carbapenemase. KPC. NDM. Superbug.

RESUMEN

“BLEE”, “Clase molecular de Ambler” y “superbacteria KPC” son términos directamente relacionados a las beta-lactamasas y a la resistencia bacteriana a los antibióticos, comentados entre profesionales del área de la salud, pero no siempre comprendidos claramente. A final de cuentas, ¿Qué es una beta-lactamasa? ... ¿Cómo son clasificadas? ... ¿Cuál es su importancia? Para aclarar estos términos y responder estas preguntas, esta revisión objetivó presentar conceptos sobre las características de las principales beta-lactamasas producidas por bacilos gram-negativos de importancia clínica y laboratorial. Las informaciones serán presentadas en varios niveles de complejidad (utilizando texto y tablas) para introducir el conocimiento sobre las beta-lactamasas a los profesionales del área de la salud como médicos, biomédicos, farmacéuticos, biólogos y, principalmente, para consolidar conceptos prácticos para infectólogos y microbiólogos.

Palabras clave: Resistencia Microbiana a Medicamentos. Resistencia a Antibióticos. Antibacterianos. Antibióticos. AmpC. ESBL. Carbapenemasa. KPC. NDM. Superbacteria.

INTRODUÇÃO

Para compreender melhor as beta-lactamases e a resistência bacteriana aos antibióticos, brevemente, citaremos os principais antibióticos utilizados na prática clínica e testados em laboratório. Didaticamente, podemos dividir esses antibióticos em dois grandes grupos, os “beta-lactâmicos” e os “não beta-lactâmicos”.^{1,2} Todos os antibióticos beta-lactâmicos apresentam na sua estrutura o anel beta-lactâmico, responsável pela ação destes fármacos. Também, didaticamente, os beta-lactâmicos podem ser divididos nas seguintes classes/categorias (e sub classes) de antibióticos:²

- Penicilinas (penicilinas e combinações penicilina/

inibidor de beta-lactamases);

- Cefens (principalmente as sub classes das cefalosporinas e cefamicinas; combinações cefalosporinas/inibidor de beta-lactamases);

- Monobactâmico (aztreonam) e;

- Penens (principalmente a sub classe dos carbapenêmicos).

Todos os beta-lactâmicos (Tabela 1) têm como mecanismo de ação a inibição da formação da parede celular através da ligação do beta-lactâmico às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs, do inglês Penicillin-Binding Proteins), enzimas bacterianas que atuam no processo de transpeptidação durante a biossíntese da parede celular.

Tabela 1 – Classificação dos Antibióticos beta-lactâmicos.

Classe/Categoria	Sub-classes	Exemplo, nome genérico (sigla)
PENICILINAS	Penicilinas naturais (benzilpenicilinas)	Penicilina (PEN): Penicilina cristalina (aquosa), Penicilina G (procaína ou benzatina), Penicilina V
	Aminopenicilinas	Amoxicilina (AMX) Ampicilina (AMP)
	Ureidopenicilinas	Piperacilina (PIP) Mezlocilina (MEZ)
	Carboxipenicilinas	Carbenicilina (BAR) Ticarcilina (TIC)
	Penicilinas estáveis à penicilinase	Oxacilina (OXA) Meticilina (MET) Cloxacilina (CLO)
Combinação Beta-lactâmico (Penicilinas) - Inibidor de beta-lactamase		Amoxicilina-ácido clavulanico (AMC) Ampicilina-sulbactam (AMS) Piperacilina-tazobactam (PTZ) Ticarcilina-ácido clavulanico (TIM)
CEFENS	Cefalosporinas de 1ª geração	Cefazolina (CFZ) Cefalotina (CEP) Cefalexina (LEX)
	Cefalosporinas de 2ª geração	Cefuroxima (CFX) Cefaclor (CEC)
	Cefalosporinas de 3ª geração (amplo espectro)	Cefotaxima (CTX) Ceftriaxona (CRO) Ceftazidima (CAZ) Cefpodoxima (CPD)
	Cefalosporinas de 4ª geração (amplo espectro)	Cefepima (CPM)
	Cefalosporinas com atividade anti-MRSA*	Ceftaroline (CPT) Ceftobiprole (BPR)
	Cefamicinas	Cefoxitina (FOX) Cefotetan (CTT)
	Oxacefens	Moxalactam (MOX)
	Carbacefens	Loracarbef (LOR)
	Combinação beta-lactâmico (Cefalosporinas) - Inibidor de beta-lactamase	Ceftazidime-avibactam (CZA) Ceftaroline-avibactam (CPA)
	MONOBACTÂMICO	Aztreonam (ATM)
PENENS	Carbapenêmicos	Ertapenem (ERT) Imipenem (IPM) Meropenem (MER) Doripenem (DOR)
	Penens	Faropenem (FAR)

*MRSA/ORSA (do inglês *Methicillin/Oxacillin-resistant Staphylococcus aureus*): *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina/oxacilina.

Fonte: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016).²

Todas as outras classes de antimicrobianos pertencem ao grupo dos antibióticos não beta-lactâmicos: aminoglicosídeos, quinolonas, tetraciclina, lipopeptídeos, glicopeptídeos, etc. Para essas classes existem diferentes mecanismos de ação, incluindo a inibição da formação da parede celular por mecanismo diferente dos beta-lactâmicos (ex.: glicopeptídeo vancomicina).

Após citarmos os principais antibióticos, também é importante reconhecer os principais mecanismos de resistência, como: (i) redução ou defeito na permeabilidade da membrana externa, (ii) sistemas de efluxo hiperexpressos, (iii) alteração do sítio alvo, (iv) proteção ou bloqueio do sítio alvo e, (v) produção de enzimas que degradam ou modificam antibióticos.³

As principais enzimas que degradam antibióticos são denominadas beta-lactamases e, como o próprio nome diz, degradam exclusivamente antibióticos beta-lactâmicos pela catálise hidrolítica do anel beta-lactâmico, inativando a propriedade bactericida desses fármacos. Desse modo, ocorre falha no mecanismo de ação desses antibióticos e a bactéria continua a biossíntese normal da parede celular, o que geralmente leva à falha terapêutica.⁴

Desde a descoberta e introdução das penicilinas naturais na prática médica e posterior utilização de sucessivas gerações de beta-lactâmicos, em geral, cada qual com crescente espectro/potencial de atividade antimicrobiana, tem ocorrido seleção de sucessivas gerações de beta-lactamases, também em geral, cada qual com espectro/potencial de hidrólise (degradação) mais potente que a anterior, no entanto, existem exceções. Atualmente existem mais de 32 famílias (ou tipos) de beta-lactamases, constituindo mais de 2400 variantes conhecidas (<http://www.lahey.org/studies/>).⁴

Observação: A produção de beta-lactamases está relacionada especificamente (somente) com a resistência aos antibióticos “beta-lactâmicos”, não inativando assim antibióticos “não beta-lactâmicos”. Por outro lado, outros mecanismos de resistência (como os citados acima), que não a produção de enzimas beta-lactamases, também podem estar envolvidos na resistência aos “beta-lactâmicos”.

As primeiras beta-lactamases foram designadas utilizando critérios como a espécie da bactéria ou plasmídeo nas

quais foram detectadas. Posteriormente, a denominação das enzimas também foi baseada em características isoeletricas, propriedades bioquímicas, substratos, etc. Adicionalmente às características citadas, o local (ex.: cidade) onde a enzima foi detectada, nome do paciente do qual a bactéria produtora da beta-lactamase foi isolada, entre outros dados não bioquímicos ou genéticos, também têm sido a nomenclatura utilizada pelos autores que caracterizam uma beta-lactamase pela primeira vez. Exemplos: CMY: ativa sobre cefamicinas (do inglês *cephamycins*); TEM: nome da paciente grega (*Temoneira*) na qual foi detectada pela primeira vez; SHV: do inglês *Sulphydryl reagent variable*; CTX-M: ativa sobre cefotaxima, pela primeira vez detectada em *Munich*, na Alemanha, e; OXA: ativa sobre oxacilina.^{5,6}

Sob o ponto de vista genético, as beta-lactamases são codificadas por genes designados “*bla*” (representados em minúsculo e itálico) seguidos pela denominação fenotípica da enzima, como por exemplo, CMY, CTX-M e OXA (representadas em maiúsculo e subscritas), sendo assim denominados: *bla*_{CMY}, *bla*_{CTX-M} e *bla*_{OXA}.^{5,6}

Historicamente, as beta-lactamases têm sido classificadas com base nas propostas de Ambler e de Bush, Jacoby e Medeiros.^{7,8}

Ambler dividiu as beta-lactamases em classes moleculares (A, B, C e D), de acordo com a estrutura molecular da enzima (proteína), sendo assim, conhecida como Classe molecular de Ambler, provavelmente a classificação mais utilizada e conhecida. As enzimas pertencentes às classes A, C e D, são serina-beta-lactamases, as quais possuem um aminoácido serina no centro ativo da enzima. As enzimas da classe B são metalo-beta-lactamases (MBL), as quais são dependentes de um metal (geralmente zinco) como cofator para a atividade enzimática.⁷

Bush, Jacoby e Medeiros dividiram as beta-lactamases em diferentes Grupos (grupos de 1 a 4, com subdivisões), segundo o substrato da enzima e o perfil de inibição por inibidores de beta-lactamases, conhecidos como grupos de Bush, Jacoby e Medeiros.^{4,8}

Os esquemas de classificação baseados na associação da Classe molecular de Ambler e Grupos de Bush, Jacoby e Medeiros foram revisados e atualizados por Bush e Jacoby em 2010, apresentados na tabela 2 de forma resumida e adaptada.⁴

Tabela 2 – Classificação das beta-lactamases segundo Bush e Jacoby (2010), resumida e adaptada.⁴

Grupo Bush e Jacoby	Classe Molecular ¹	Enzimas representativas	Grupo de enzimas ² (espectro/potencial de hidrólise#)	Substratos ³	Inibição por: ⁴				
					CLOXA	CLA	NaCl*	AFB	EDTA
1	C	CMY-2	AmpC	Cfs 1 ^a - 2 ^a ger., cefamicinas	Sim	Não	Não	Variável	Não
1e	C	CMY-37	AmpC	Cfs 1 ^a -3 ^a ger., cefamicinas e monobactâmico	Sim	Não	Não	Variável	Não
2be	A	TEM-3, SHV-2, CTX-M-2, 14, 15	ESBL	Cfs 1 ^a -4 ^a ger., e monobactâmico	Não	Sim	Não	Não	Não
2bre	A	TEM-50	IRT-ESBL	Cfs 1 ^a -4 ^a ger., e monobactâmico	Não	Não	Não	Não	Não
2de	D	OXA-11, 15;	ESBL	Cfs 1 ^a -4 ^a ger.	Não	Variável	Variável	Não	Não
2df	D	OXA-23, 48	Carbapenemase	Carbapenêmicos	Não	Variável	Variável	Não	Não
2f	A	KPC-2, 3	Carbapenemase	Cfs 1 ^a -4 ^a ger., cefamicinas, monobactâmico e carbapenêmicos	Não	Variável	Não	Sim (KPC)	Não
3a	B (MBL)	SPM-1, IMP-1, VIM-1, NDM-1	Carbapenemase	Cfs 1 ^a -4 ^a ger., cefamicinas e carbapenêmicos	Não	Não	Não	Não	Sim

¹ MBL, Metallo-Beta-Lactamases; #Detalhes sobre a produção de beta-lactamases, “espectro/potencial de hidrólise versus substratos”, veja na tabela 3.

² ESBL (do inglês, Extended Spectrum Beta-Lactamase): Beta-lactamase de espectro estendido; IRT (do inglês Inhibitor-Resistant TEM): TEM resistente a inibidor;

³ Cfs: Cefalosporinas de 1^a, 2^a, 3^a e 4^a gerações;

⁴ CLOXA: cloxacilina; CLA: clavulanato (ácido clavulânico); NaCl: cloreto de sódio (*possui potencial de inibição de OXA, no entanto, sua especificidade e sensibilidade não foram otimizadas e, geralmente, não é utilizado in vitro); AFB: ácido fenil borônico; EDTA (do inglês, ethylenediamine tetraacetic acid): ácido etilenediamino tetra-acético.

No contexto clínico e laboratorial, o espectro/potencial de degradação das beta-lactamases talvez seja o critério mais ilustrativo (Tabela 3). Desse modo, alguns antibióticos podem ser utilizados como marcadores de resistência/sensibilidade, geralmente observados em bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases (Tabela 4).

Baseado nos conceitos apresentados, as principais beta-lactamases produzidas por bacilos gram-negativos podem ser agrupadas em:

- Cefamicinases (AmpCs);
- Cefalosporinases;
- Beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) e;
- Carbapenemases.

Nessa revisão, não será abordada a produção de penicilinas, relevantes beta-lactamases produzidas por bactérias como *S. aureus* (cocos gram-positivos) e *H. influenzae* (coco-bacilos gram-negativos), no entanto, enzimas menos importantes em bacilos gram-negativos devido à disseminação e prevalência/incidência de beta-lactamases mais potentes.

A produção de AmpCs, Cefalosporinases, ESBLs e Carbapenemases tem sido destaque na resistência de enterobactérias (como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., etc) assim como importante na resistência em bacilos gram-negativos não fermentadores da glicose (como *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.).^{9,10}

Cefamicinases (AmpCs):

Cefamicinases (também chamadas beta-lactamases AmpCs) têm como característica primária a degradação de cefamicinas (ex.: cefoxitina), variável degradação de cefalosporinas de 1ª e 2ª gerações, sendo assim, de certa forma também “Cefalosporinases”. AmpCs degradam melhor cefalosporinas que penicilinas naturais, no entanto, em geral, não degradam cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações (Tabelas 3 e 4).¹¹

AmpCs são classificadas na classe molecular C de Ambler e no grupo funcional 1 de Bush, Jacoby e Medeiros, como por exemplo CMY-2 (Tabela 2). O novo subgrupo 1e (“e” de

espectro estendido de hidrólise) de Bush, Jacoby e Medeiros tem sido denominado “ESAC” (do inglês *Extended-Spectrum AmpC*), como por exemplo CMY-37, devido à capacidade de degradação de cefalosporinas de 3ª geração e até mesmo carbapenêmicos. Entretanto, ESAC é um termo pouco utilizado, pouco relatado e o fenótipo observado não é característico das AmpCs clássicas.⁴

AmpCs são enzimas geralmente codificadas por genes cromossômicos, denominados *bla*_{AmpC} (ex.: CMY, LAT, ACT, MIR, FOX, MOX, DHA, AAC). Para AmpCs a nomenclatura dos genes nem sempre utiliza “*bla*”, sendo denominados também genes *ampCs* (ex.: *cmy*, *lat*, *act*, *mir*, *fox*, *mox*, *dha*, *aac*).¹¹

AmpCs são produzidas pela maioria dos bacilos gram-negativos, com destaque para os gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Providencia* (o denominado grupo “CESP”), *Morganella*, *Hafnia*, *Pseudomonas*, etc. Exceções são os gêneros *Klebsiella* e *Salmonella* que não possuem genes *bla*_{AmpC} cromossômicos, no entanto, genes *bla*_{AmpC} em plasmídeos (pAmpC) têm sido encontrados nessas bactérias.^{12,13} Adicionalmente, também tem sido relatado pAmpC (ex.: *bla*_{DHA}, de origem cromossômica em *Morganella*) em outra bactéria que possui *bla*_{AmpC} cromossômico (ex.: *bla*_{ACT}; *bla*_{MIR}, de origem cromossômica em *Enterobacter*).

Bactérias que possuem genes *bla*_{AmpC} cromossômicos, produzem AmpC (ex.: CMY) em um nível basal, “fisiologicamente” relacionada com a reciclagem da parede celular destas espécies e, como evento colateral, geralmente conferem resistência intrínseca constitutiva às penicilinas, cefalosporinas de 1ª e 2ª geração e cefamicinas (ex.: cefoxitina), como citado acima. AmpCs não são inibidas pelas associações de beta-lactâmicos com inibidores de beta-lactamases clássicos. Em outras palavras, AmpCs não são beta-lactamases de origem, são enzimas comuns da biologia celular de muitos bacilos gram-negativos, no entanto, como evento colateral, também têm potencial para degradar beta-lactâmicos.

A produção de AmpC ocorre devido à percepção bacteriana de parede celular “envelhecendo” ou “degradando (lisando)”. Desse modo, quando existe envelhecimento, ocorre

Tabela 3 – Espectro/potencial de degradação das principais beta-lactamases produzidas por bacilos gram-negativos.

Principais beta-lactamases (Exemplos)	Classe/subclasse de antibiótico beta-lactâmico#						
	Penicilinas		Cefens			Monobactâmico	Penens
	Cefamicinas	Cefalosporinas 1ª e 2ª gerações	Cefalosporinas 3ª geração	Cefalosporinas 4ª geração			Carbapenêmicos
AMP, AMX	FOX	CFZ, CFX	CTX*, CAZ	CPM	ATM	ERT, IPM, MER	
AmpC (CMY)							
Hiperprodução de AmpC (CMY)				Não degrada CPM			
Cefalosporinase (TEM, SHV)							
ESBL (variantes TEM e SHV; CTX-M)		Não degrada FOX					
Carbapenemase-MBL (IMP, VIM, SPM, NDM)					Não degrada ATM		
Carbapenemase-serina (KPC)							

Antibióticos escritos em negrito são marcadores de resistência/sensibilidade geralmente observados em bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases.

As interpretações são baseadas em bactérias que produzem uma única beta-lactamase, como apresentado na tabela. A produção de duas ou mais beta-lactamases compromete a interpretação, pois alguns marcadores de resistência/sensibilidade poderão estar sobrepostos. Beta-lactamases OXAs não apresentam fenótipos típicos de ESBLs e carbapenemases, veja detalhes o texto. #AMP, ampicilina; AMX, amoxicilina; **FOX, cefoxitina**, CFZ, cefazolina, CFX, cefuroxima, **CTX, cefotaxima** (*CTX, tão bem como **ceftriaxona**, desempenham o mesmo papel como marcadores de resistência/sensibilidade); **CAZ, ceftazidima**; **CPM, cefepime**; **ATM, aztreonam**; ERT, ertapenem; **IPM, imipenem**; **MER, meropenem**. Espaços preenchidos em cinza representam o espectro/potencial de degradação das principais beta-lactamases produzidas por bacilos gram-negativos.

Para mais informações, detalhes e exceções, veja: “Updated functional classification of beta-lactamases. Bush K, Jacoby GA. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Mar;54(3):969-76”.⁴

Tabela 4 – Marcadores de resistência/sensibilidade geralmente observados em bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases.

Beta-lactamase ^a (exemplo)	Resistência (marcadores ^b)	Sensibilidade (marcadores ^b)
AmpC (CMY)	Penicilinas, Cefalosporinas de 1 ^a e 2 ^a gerações, Cefamicinas (cefotaxima, cefotetan)	Cefalosporinas de 3 ^a e 4 ^a gerações (cefotaxima ^d , ceftazidima cefepime), Carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e meropenem)
Hiperprodução de AmpC (CMY)	Penicilinas, Cefalosporinas de 1 ^a a 3 ^a gerações (cefotaxima ^d , ceftazidima), Cefamicinas (cefotaxima, cefotetan), Monobactâmico (aztreonam)	Cefalosporinas de 4 ^a geração (cefepime), Carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e meropenem)
Cefalosporinase (TEM, SHV)	Penicilinas Cefalosporinas de 1 ^a e 2 ^a gerações, Cefamicinas (cefotaxima, cefotetan)	Cefalosporinas de 3 ^a e 4 ^a gerações (cefotaxima ^d , ceftazidima cefepime), Carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e meropenem)
ESBL (variantes TEM e SHV; CTX-M)	Penicilinas, Cefalosporinas de 1 ^a a 4 ^a gerações (cefotaxima ^d , ceftazidima, cefepime), Monobactâmico (aztreonam)	Cefamicinas (cefotaxima, cefotetan), Carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e meropenem)
Carbapenemase-MBL (IMP, VIM, SPM, NDM)	Penicilinas, Cefalosporinas de 1 ^a a 4 ^a gerações (cefotaxima ^d , ceftazidima, cefepime), Cefamicinas (cefotaxima, cefotetan), Carbapenêmicos (ertapenem ^e , imipenem e meropenem)	Monobactâmico (aztreonam)
Carbapenemase-serina (KPC)	Penicilinas, Cefalosporinas de 1 ^a a 4 ^a gerações (cefotaxima ^d , ceftazidima, cefepime), Cefamicinas (cefotaxima, cefotetan), Monobactâmico (aztreonam), Carbapenêmicos (ertapenem ^e , imipenem e meropenem)	-

a) As interpretações são baseadas em bactérias que produzem uma única beta-lactamase, como apresentado na tabela. A produção de duas ou mais beta-lactamases compromete a interpretação, pois alguns marcadores de resistência (e sensibilidade) poderão estar sobrepostos, veja na Tabela 3.

b) Basta apenas um marcador de resistência para a suspeita da produção de uma determinada beta-lactamase. Beta-lactamases OXAs não apresentam fenótipos típicos de ESBLs e carbapenemases, veja detalhes o texto.

c) Para a suspeita da hiperprodução de AmpC, além da resistência às cefamicinas, também é necessária a resistência à alguma cefalosporinas de 3^a geração e/ou aztreonam.

d) Cefotaxima, tão bem como ceftazidima, desempenham o mesmo papel como marcadores de resistência/sensibilidade.

e) A associação de mecanismos de resistência também dificulta a análise e a sugestão da possível beta-lactamase produzida e fenótipo de resistência observado. Ex.: A resistência ao ertapenem em *E. coli* também pode ocorrer devido a produção de ESBL (ex.: CTX-M) associada à perda de porina OmpC (do inglês Outer membrane protein "C"), ou seja, produção de enzima associada a redução ou defeito na permeabilidade da membrana externa. Por isso, ertapenem (isoladamente como carbapenêmico) não é um bom marcador para sugestão da produção de carbapenemase.

produção basal de AmpC para reciclar a parede celular e, quando existe processo de degradação (lise) (ex.: provocada por antibióticos beta-lactâmicos), ocorre hiperprodução de AmpC para tentar reparar o processo brutal de quebra da parede celular bacteriana.

A hiperprodução de AmpC pode ocorrer por indução genética devido à presença de beta-lactâmicos (resistência intrínseca induzida), principalmente por cefalosporinas, podendo ser considerado um efeito colateral, geralmente voltando ao nível basal após a retirada do beta-lactâmico. A hiperprodução de AmpC também pode ocorrer devido a alterações/problemas na regulação da expressão gênica que controla a produção basal da enzima (desrepressão gênica), desse modo, ocorre constante hiperprodução de AmpC, independente da presença de beta-lactâmico.

Clinicamente, o problema existe quando ocorre hiperprodução de AmpC, capaz então de degradar também cefalosporinas de 3^a geração e monobactâmico (aztreonam), porém a sensibilidade às cefalosporinas de 4^a geração e aos carbapenêmicos geralmente é preservada (Tabelas 3 e 4).

Um exemplo clássico é a hiperprodução de AmpC induzida por cefotaxima ou cefalotina (Cefens, respectivamente, Cefamicina e Cefalosporina de 1^a geração) que são degradadas por essa AmpC. Por outro lado, a hiperprodução de AmpC também pode ser induzida por imipenem (Penem, Carbapenêmico), no entanto, o imipenem não é degradado por essa AmpC. Cefalosporinas em geral, cefotaxima e imipenem são indutores da hiperprodução de AmpC, sendo os dois últimos

considerados forte indutores. Inibidores de beta-lactamases também são indutores e, ao invés de inibirem, podem estimular a hiperprodução da AmpC.

E. coli, *Shigella* spp. e *Acinetobacter* spp. também possuem *bla*_{AmpC} cromossômico, no entanto, a expressão gênica de AmpC nesses gêneros é diferente de bactérias do grupo CESP, assim a hiperprodução cromossômica de AmpC nessas bactérias é incomum e não é induzida. pAmpC (ex.: *bla*_{CMY} em plasmídeos) têm sido detectada em *E. coli* e, nesse caso, pode representar um problema clínico porque pode ocorrer hiperprodução de AmpC.¹¹

Alerta: Durante terapia prolongada com cefalosporinas para tratamento de infecções causadas por bactérias do grupo CESP, principalmente *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Serratia*, pode ocorrer indução da hiperprodução de AmpC e bactérias inicialmente sensíveis podem expressar resistência no intervalo de 3 a 4 dias após o início da antibioticoterapia, resultando em falha terapêutica.^{2,11}

Cefalosporinases:

Cefalosporinases são beta-lactamases de espectro restrito, enzimas capazes de degradar penicilinas e cefalosporinas de 1^a e 2^a gerações (Tabelas 3 e 4). Cefalosporinases são produzidas pela maioria dos bacilos gram-negativos e podem ser mediadas por genes cromossômicos (resistência intrínseca) e genes mutados, tão bem como por genes plasmidiais (resistência adquirida), sendo amplamente disseminadas, como

TEM-1, TEM-2 e SHV-1. Geralmente são enzimas inibidas *in vitro* pelas associações de beta-lactâmicos com inibidores de beta-lactamases clássicos.

As Cefalosporinas pertencem à classe molecular A de Ambler e ao grupo funcional 2b de Bush, Jacoby e Medeiros (Tabela 2).^{4,14-16} Porém existem exceções, como as cefalosporinas que não são inibidas pelos inibidores de beta-lactamases clássicos, descobertas no início da década de 90. Estas enzimas são variantes das cefalosporinas TEM-1 (ex.: TEM-30 e SHV-10) e foram as primeiras a receber a designação TEM resistente a inibidor (IRT, do inglês *Inhibitor-Resistant TEM*). IRTs são cefalosporinas classificadas na classe molecular A de Ambler, porém, no subgrupo funcional 2br ("r" de resistentes a inibidor) de Bush, Jacoby e Medeiros (Tabela 2). No entanto, as IRTs são inibidas por tazobactam e, consequentemente, à combinação piperacilina-tazobactam.^{4,14} As IRTs são encontradas principalmente em *E. coli*, mas também foram detectadas em outras espécies como *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis* e *C. freundii*.^{4,14}

Beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs):

No início da década de 80 as cefalosporinas de 3ª geração, como a ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima e cefepodoxima, foram instituídas como alternativas terapêuticas para infecções graves causadas principalmente por bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases de espectro restrito (cefalosporinas), enzimas capazes de degradar penicilinas e cefalosporinas de 1ª e 2ª gerações. Os principais exemplos de cefalosporinas são as enzimas TEM-1, TEM-2 e SHV-1, como citado acima. Estáveis à hidrólise pelas cefalosporinas, as cefalosporinas de 3ª geração ainda possuíam amplo espectro de atividade antibacteriana e eram menos nefrotóxicas comparadas com não beta-lactâmicos, como aminoglicosídeos e polimixinas.

Com a pressão seletiva do uso (e abuso) de cefalosporinas de 3ª geração (amplo espectro), não surpreendentemente, a resistência a esses antibióticos emergiu rapidamente. Mutações em genes como *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-2} e *bla*_{SHV-1} promoveram amplificação e divergência nesses genes (ex.: *bla*_{TEM-3} e *bla*_{SHV-2}) e as enzimas codificadas passaram a conferir espectro de hidrólise estendido às cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações (chamadas de cefalosporinas de "amplo espectro" ou "espectro estendido"), sendo então denominadas beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs, do inglês *Extended Spectrum Beta-Lactamases*) (Tabelas 3 e 4) e conhecidas como variantes de TEM e SHV com atividade de ESBL.^{14,15}

Em 1989, na Alemanha, foi relatado um isolado clínico de *E. coli* que produzia uma nova ESBL, denominada na época de CTX-M-1, que caracterizava-se pela maior capacidade de hidrolisar cefotaxima à ceftazidima. Também, no final da década de 80 houve uma epidemia de *Salmonella* spp. resistente a altos níveis de cefotaxima na Argentina e esta característica foi devido a uma nova ESBL, posteriormente denominada CTX-M-2. Várias outras ESBLs com esta característica foram relatadas nos anos seguintes e em várias partes do mundo, caracterizando disseminação pandêmica dessas enzimas. Ao contrário de outras ESBLs, a família CTX-M constitui um grupo complexo e não homogêneo de enzimas, sendo divididas mais comumente nos grupos CTX-M-1 (ex.: CTX-M-15), CTX-M-2, CTX-M-9 (ex.: CTX-M-14), CTX-M-8 e CTX-M-25.¹⁷⁻¹⁹

As enzimas ESBLs CTX-M hidrolisam cefalosporinas de amplo espectro como característica intrínseca da enzima e tem origem em genes *bla*_{CTX-M} cromossômicos de espécies de *Kluyvera* spp., não sendo assim originadas por mutações em genes prévios. Característica particular da família CTX-M é

que, ao contrário das famílias TEM e SHV (variantes TEM e SHV com atividade de ESBL), as enzimas CTX-M geralmente hidrolisam de forma mais eficiente cefotaxima à ceftazidima. Além disso, essas enzimas são inibidas *in vitro* quase dez vezes mais pelo inibidor de beta-lactamase tazobactam do que pelo ácido clavulânico.

A maioria das ESBLs pertence à classe molecular A de Ambler e ao subgrupo funcional 2be ("e" de potencial de ESBL) de Bush, Jacoby e Medeiros (Tabela 2), porém, existem exceções:⁴

Posteriormente à detecção das IRTs cefalosporinas, foram detectadas também IRTs com potencial de ESBL (ex.: TEM-50) e, assim, classificadas no subgrupo funcional 2bre ("re" de resistentes a inibidor e potencial de ESBL) de Bush, Jacoby e Medeiros (Tabela 2).

Outra exceção são as beta-lactamases OXAs com potencial de hidrólise muito mais rápido de oxacilina que de outras penicilinas (ex.: penicilinas naturais), assim classificadas na classe molecular D de Ambler e no subgrupo funcional 2d de Bush, Jacoby e Medeiros (Tabela 2). A maioria das OXAs não hidrolisa cefalosporinas de amplo espectro, entretanto, algumas enzimas derivadas de OXA-10 (ex.: OXA-11 e OXA-15) hidrolisam fracamente cefotaxima, ceftiaxona e aztreonam, conferindo diminuição de sensibilidade ou mesmo resistência a esses antibióticos (fenótipo de ESBL). ESBLs OXAs pertencem à classe molecular D de Ambler e ao grupo funcional 2de ("e" de potencial de ESBL) de Bush, Jacoby e Medeiros e são pobremente inibidas por ácido clavulânico (Tabela 2). OXA são encontradas principalmente em *P. aeruginosa* e menos frequentemente em enterobactérias.^{4,14,15}

Outras ESBLs, menos frequentes, já foram relatadas, como PER, VEB, GES e BES (*Brazilian Extended Spectrum*).^{4,20}

Em geral, as ESBLs mais frequentes são enzimas que possuem potencial para degradar todas as penicilinas, todas as cefalosporinas e monobactâmico (aztreonam), porém a sensibilidade às cefamicinas e aos carbapenêmicos geralmente é preservada (Tabelas 3 e 4). As ESBLs mais frequentes pertencem às famílias TEM, SHV e CTX-M, são codificadas por genes cromossômicos e, principalmente, plasmidiais.^{21,22}

Importante: ESBLs são enzimas inibidas *in vitro* pelos inibidores de beta-lactamases, entretanto, em infecções por bactérias produtoras de ESBL o tratamento com associações de beta-lactâmicos com inibidores de beta-lactamases, geralmente piperacilina-tazobactam, é pouco utilizado pois a atividade *in vivo* dos inibidores depende de uma série de variáveis relacionadas com a bactéria (espécie, enzima produzida, etc) e com o paciente (sítio da infecção, quadro clínico, etc).

Observação: Os inibidores de beta-lactamases clássicos (ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam) também são antibióticos beta-lactâmicos, no entanto, com potencial bactericida muito fraco, assim não são utilizados isoladamente na prática médica. O que torna esses beta-lactâmicos "inibidores" é a sua afinidade muito maior pelas beta-lactamases em comparação com outros beta-lactâmicos (ex.: amoxicilina, ampicilina, piperacilina). Por isso, quando em associação "penicilina/inibidor" (ex.: amoxicilina/ácido clavulânico, piperacilina/tazobactam, ampicilina/sulbactam), os inibidores são degradados mais rapidamente que as penicilinas e formam um complexo irreversível "inibidor-beta-lactamase", deixando as penicilinas livres para exercerem sua atividade bactericida. Desse modo, esses beta-lactâmicos são chamados "inibidores suicidas".

A associação ampicilina/sulbactam possui uma particularidade, pois, no tratamento de infecções por *Acinetobacter* spp. o fármaco de interesse é o sulbactam. Nesse caso, o sulbactam atua como antibiótico com potente atividade bactericida específica contra *Acinetobacter* spp. sensível a essa combinação (nesse caso o sulbactam não atua como inibidor, e sim é o

antibiótico).

Comentário: Até 2010, quando o laboratório de microbiologia detectava a produção de ESBL por testes fenotípicos (e/ou moleculares), o resultado do antibiograma era liberado como bactéria resistente a todas as penicilinas, todas as cefalosporinas e monobactâmico (aztreonam), pois esse é o espectro/potencial de degradação da maioria das ESBLS, mesmo que houvesse sensibilidade a alguma cefalosporina no antibiograma. Essa era a recomendação dos comitês internacionais de teste de sensibilidade aos antibióticos naquela época.

Ex.: *K. pneumoniae* resistente à cefotaxima (CTX) e ao cefepime (CPM) e sensível à ceftazidima (CAZ) e ao aztreonam (ATM), no entanto, detectada como produtora de ESBL. Dessa forma o laboratório editava, mudava o resultado de sensível à ceftazidima (CAZ) e ao aztreonam (ATM) para ambos também resistentes. Lembrando que a detecção de ESBL (e edição de resultados) era sugerida somente para *K. pneumoniae*, *E. coli* e *Proteus mirabilis*, pois, em bactérias do grupo CESP a produção de AmpC dificulta e interfere na análise dos resultados para diagnóstico laboratorial.

Nos anos seguintes houve atualização nos pontos de corte (na interpretação) para a sensibilidade às cefalosporinas, baseada, entre outros fatores, em ensaios/dados clínicos e laboratoriais e na otimização da antibioticoterapia. Dessa forma, mesmo que fosse detectada a produção de ESBL, o resultado do antibiograma deveria ser liberado tal qual fosse observado. Essa nova recomendação indicava que, com os novos pontos de corte, os resultados de sensibilidade (*in vitro*) poderiam ser validados (*in vivo*). Em outras palavras, mesmo detectada ESBL, se o resultado do antibiograma for *K. pneumoniae* resistente à cefotaxima (CTX) e ao cefepime (CPM) e sensível à ceftazidima (CAZ) e ao aztreonam (ATM), é assim que o microbiologista deve liberar o resultado. A recomendação para não mais editar o antibiograma foi sugerida porque ensaios clínicos corroboravam com essa recomendação. Outra justificativa baseava-se na tentativa de diminuir a utilização de carbapenêmicos (ertapenem, imipenem e meropenem), pois são as últimas opções de beta-lactâmicos e, por sua vez, também para diminuir a pressão seletiva de antibióticos (em geral) de última escolha. Entretanto, essa mudança causou polêmica entre alguns microbiologistas, clínicos e pesquisadores em geral, que por motivos diversos questionam a nova recomendação.

O fato é que, atualmente, continua sendo essa a recomendação sobre a detecção de ESBL, “não editar antibiograma”. Entretanto é uma recomendação que (ainda) não tem poder de lei, cabendo a cada serviço de microbiologia, serviço de saúde, comissão de controle de infecção hospitalar (CCIH), microbiologista e clínico decidirem em comum acordo o que será recomendado para o resultado do antibiograma e da antibioticoterapia. Testes de detecção de ESBL podem (e devem) ser realizados para fins epidemiológicos, como atualmente é o recomendado.

Carbapenemases:

A partir do final da década de 80, os antibióticos beta-lactâmicos da classe dos Penens, sub classe dos Carbapenêmicos, como imipenem, meropenem e ertapenem, foram instituídos como alternativas terapêuticas de última escolha para tratamento de infecções graves provocadas principalmente por bacilos gram-negativos produtores de ESBL, como também pelos hiperprodutores de AmpC.

Estáveis à hidrólise por ESBLS e AmpCs, os carbapenêmicos ainda apresentavam o mais potente espectro de atividade antibacteriana entre os beta-lactâmicos, agindo contra a maioria das bactérias gram-negativas e gram-positivas, aeróbias e

anaeróbias.²³ A dependência da utilização de carbapenêmicos tem crescido pelo fato de muitas bactérias gram-negativas produtoras de ESBL, como também hiperprodutoras de AmpC, também serem resistentes a antibióticos não beta-lactâmicos, como aminoglicosídeos, sulfametoxazol-trimetoprima, tetraciclina e fluoroquinolonas.

Da mesma forma que ocorreu com as cefalosporinas de amplo espectro, com o uso (e abuso) de carbapenêmicos, não surpreendentemente, a seleção e disseminação de bactérias resistentes a estes antibióticos têm ocorrido de modo alarmante. Entre outros mecanismos, a resistência aos carbapenêmicos é devida à produção de beta-lactamases, denominadas então “carbapenemases”, enzimas com o maior espectro/potencial de degradação de beta-lactâmicos. Embora conhecidas como carbapenemases, esse grupo de enzimas tem potencial para hidrolisar praticamente todos os beta-lactâmicos.^{24,25}

Inicialmente, as carbapenemases foram descritas como beta-lactamases codificadas somente por genes cromossômicos em algumas espécies bacterianas, como L1 em *Stenotrophomonas maltophilia* e BcII em *Bacillus cereus*. No entanto, na década de 90, foram relatados genes codificadores de carbapenemases em plasmídeos. Atualmente, as carbapenemases adquiridas têm sido frequentemente reportadas em bactérias gram-negativas, possuindo papel importante na disseminação da resistência aos carbapenêmicos.²⁵

As carbapenemases podem ser divididas em dois grupos:

Serina-carbapenemases

Em 2001, Yigit e colaboradores relataram na Carolina do Norte, Estados Unidos, um isolado de *K. pneumoniae* com moderado a alto nível de resistência ao imipenem e meropenem. Após estudos fenotípicos e moleculares, os pesquisadores concluíram que a resistência era devida à produção de uma nova beta-lactamase, com atividade de serina-carbapenemase, pois não era inibida por EDTA (assim, não era uma MBL), era fracamente inibida por ácido clavulânico e, desse modo, essa beta-lactamase pertenceria à classe molecular A de Ambler e ao grupo funcional 2f de Bush, Jacoby e Medeiros.⁴ Como a primeira detecção da enzima foi em *K. pneumoniae* e o potencial de hidrólise era de carbapenemase, a nova beta-lactamase foi nomeada como KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase).²⁶ Embora alterações na expressão de porinas pudessem contribuir com o fenótipo encontrado pelos pesquisadores, a produção de KPC foi determinante para a resistência aos carbapenêmicos no isolado estudado. KPC foi detectada posteriormente em diversos gêneros de bacilos gram-negativos (enterobactérias e não fermentadores), não sendo exclusiva, como pode sugerir o nome, de *K. pneumoniae*. KPC (ex.: KPC-2 e KPC-3) tem potencial para hidrolisar todos os beta-lactâmicos, é pouco inibida pelos inibidores clássicos (Tabelas 2, 3 e 4) e é a serina-carbapenemase mais detectada no mundo, sendo grande problema em infecções hospitalares. A produção de KPC é o mecanismo de resistência mais frequente em *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos no Brasil.^{22,27}

Existem outras serina-carbapenemases, entre as quais se destacam as beta-lactamases GES e OXA.^{4,28} Assim como para as ESBLS OXA, as carbapenemases OXA também são exceção à classificação da maioria das serina-carbapenemases. Carbapenemases OXA pertencem à classe D de Ambler e ao grupo funcional 2df (“d” refere-se à classe D de Ambler) de Bush, Jacoby e Medeiros.⁴ O potencial de hidrólise das carbapenemases OXA (ex.: OXA-23 e OXA-48) é diverso, mas geralmente essas enzimas hidrolisam melhor Penicilinas (ex.: penicilina, ampicilina, piperacilina e ticarcilina) e Cefalosporinas de espectro restrito (ex.: cefalotina e cefaloridina) que Cefalosporinas de amplo espec-

tro (ex.: ceftazidima e cefotaxima) ou Monobactâmico (aztreonam). Carbapenemases OXA são mais frequentes na Europa, mas também têm sido detectadas em outras partes do mundo.²⁹

Mais recentemente, uma nova carbapenemase foi caracterizada no Brasil, BKC (Brazilian *Klebsiella* Carbapenemase), no entanto, essa enzima não demonstrou potencial para degradar cefamicinas (ex.: cefoxitina), como ocorre para as carbapenemases KPC.³⁰

Metalo-carbapenemases (MBLs: metalo-beta-lactamases)

MBLs adquiridas pertencem à classe molecular B de Ambler, ao subgrupo funcional 3a de Bush, Jacoby e Medeiros e tem potencial para hidrolisar todos os beta-lactâmicos, exceto os monobactâmicos (aztreonam) (Tabelas 2, 3 e 4).²⁵ Como são enzimas dependentes de um metal (geralmente zinco) como cofator para a atividade enzimática, são inibidas *in vitro* por EDTA, que é um quelante de metal. Entretanto, EDTA não pode ser utilizado em associações com beta-lactâmicos para tratamento de pacientes com infecção bacteriana porque é incompatível com a fisiologia do sangue/fluidos e tecidos corporais.

Até 2009, as principais MBLs adquiridas eram IMP (Imipenemase) e VIM (Verona Imipenemase), encontradas principalmente em bacilos gram-negativos não fermentadores e com diferente prevalência em vários países do mundo. No Brasil, SPM (São Paulo Metallo-b-lactamase) é destaque, uma vez que por motivos ainda não muito bem conhecidos, essa enzima é quase restrita (endêmica) ao território brasileiro, sendo *P. aeruginosa* produtora de SPM problema em hospitais brasileiros.^{31,32-34}

Em 2009, Yong e colaboradores relataram em Nova Deli, Índia, um isolado de *K. pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos. Após estudos fenotípicos e moleculares, os pesquisadores concluíram que a resistência era dividida à produção de uma nova beta-lactamase, com atividade de metalo-carbapenemase (pois era inibida por EDTA).³⁵ Como a primeira detecção da enzima foi em Nova Deli e era uma MBL, a nova beta-lactamase foi nomeada como NDM (New Delhi Metallo-Beta-Lactamase). Existiu uma relação muito estreita do chamado “turismo médico” na Índia, infecção/colonização dos pacientes com bactérias produtoras de NDM e disseminação dessas nos países de origem. Em seguida houve rápida disseminação global, incluindo o Brasil, com crescente detecção do gene *bla*_{NDM} em enterobactérias e bacilos gram-negativos não fermentadores causando infecções hospitalares e também na comunidade, assim como contaminando o ambiente (ex.: águas de rios), sendo assim considerada a principal MBL adquirida.^{36,37}

Importante: Existem diferenças entre serina-carbapenemases e metalo-carbapenemases (MBLs), por exemplo, a sensibilidade da bactéria ao aztreonam, no entanto, o fenótipo de resistência pode não ser tão sugestivo, principalmente quando também ocorre a co-produção de ESBL ou expressão de outro mecanismo de resistência associado (Tabelas 3 e 4).

Observação: Bactérias produtoras de outras beta-lactamases (não carbapenemases) como ESBLs CTX-M e hiperprodutoras de AmpC CMY, podem apresentar diminuição de sensibilidade ou resistência aos carbapenêmicos quando ocorrer associação com outros mecanismos, como sistemas de efluxo hiperexpressos e/ou redução/defeito na permeabilidade da membrana externa.^{11,12,15}

Comentário: Da mesma forma que ocorreu com as ESBLs, por um tempo, a detecção laboratorial das carbapenemases também era recomendada para a edição do antibiograma (carbapenêmicos e outros beta-lactâmicos em geral), pois carbapenemases têm espectro/potencial para degradar praticamente de todos os beta-lactâmicos.

Posteriormente houve atualização nos pontos de corte (na interpretação) para a sensibilidade aos carbapenêmicos, baseada nos mesmos princípios citados para as cefalosporinas. Assim, os resultados de sensibilidade (*in vitro*) não deveriam ser editados. Em outras palavras, mesmo se for detectada carbapenemase, se o resultado do antibiograma for *K. pneumoniae* resistente ao ertapenem (ERT) e ao imipenem (IPM) e sensível ao meropenem (MER) e doripenem (DOR), é assim que o microbiologista deve liberar o resultado. Da mesma forma que para ESBL, testes de detecção de carbapenemases podem (e devem) ser realizados para fins epidemiológicos, como atualmente também é o recomendado. Os principais testes fenotípicos de detecção de carbapenemases visam especificamente KPC (o que não significa alta especificidade para KPC) e MBLs em geral (não diferenciando fenotipicamente SPM, NDM, etc).

Alerta: Recentemente, um novo inibidor de beta-lactamases denominado avibactam em associação com ceftazidime (ceftazidime-avibactam) ou ceftaroline (ceftaroline-avibactam) tem apresentado atividade clínica contra bactérias produtoras de beta-lactamases da Classe Molecular de Ambler A (ESBLs e KPC), Classe C (AmpCs) e variável inibição de Classe D (ex.: OXA-48).^{38,39}

Avibactam é um inibidor de beta-lactamase semi-sintético, não beta-lactâmico, reversível e que atua inibindo as beta-lactamases sensíveis pela acetilação covalente do resíduo serina do sítio ativo da enzima, ou seja, inibindo somente serina-beta-lactamases. Desse modo, avibactam não tem atividade em metalo-carbapenemases (MBLs: metalo-beta-lactamases). Avibactam também não tem demonstrado inibição de carbapenemases OXA produzidas por *Acinetobacter*.^{38,39}

Assim, detectar a produção de carbapenemase e diferenciar KPC de MBLs passa a ser clinicamente relevante, pois orientará a utilização dessas mais novas opções de antibióticoterapia.

Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (CRE, do inglês *Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae*) tão bem como *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos (CRAB, do inglês *Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii*) têm sido exponencialmente detectadas em todo o mundo. Estes termos são usados para referenciar enterobactérias e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos, no entanto, não são sinônimos de resistência aos carbapenêmicos devido à produção de carbapenemase.^{40,41}

Enterobactéria produtora de carbapenemase (CPE, do inglês *Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*) é o termo utilizado para referenciar diretamente a produção de carbapenemases KPC, MBLs, etc, por enterobactérias.⁴²

A resistência aos carbapenêmicos (ertapenem, imipenem, meropenem e doripenem) pode ocorrer devido a diferentes mecanismos ou combinações de mecanismos (como citado acima), incluindo ou não a produção de carbapenemase.

Super bactérias:

De forma corriqueira, desde 2010, a mídia brasileira tem utilizado o termo “superbactéria KPC” (assim como “superbactéria NDM”). No contexto leigo refere-se às bactérias que tem causado mortes de pacientes acima da média de outras infecções hospitalares bacterianas, associadas ou não a surtos. Cientificamente, no contexto clínico e microbiológico, como foi apresentado, KPC e NDM são carbapenemases (enzimas beta-lactamases) que tem potencial de hidrólise (degradação) de praticamente todos os antibióticos beta-lactâmicos.

Os genes *bla*_{KPC} e *bla*_{NDM} têm apresentado grande potencial de disseminação, característica associada a elementos genéticos móveis (ex.: plasmídeos) e clones bacterianos de alto

risco, fatores que têm contribuído para o aumento da prevalência de bacilos gram-negativos produtores de KPC e NDM.^{36,43,44}

Desse modo, essas bactérias não são super microrganismos ou novos microrganismos e, talvez, o adjetivo “super” seria mais adequado ao termo “super resistente”, pois além da resistência a todos os antibióticos beta-lactâmicos, essas bactérias frequentemente também são resistentes a quase todos os antibióticos não beta-lactâmicos (aminoglicosídeos, tetraciclina, fluoroquinolonas, etc) pela presença de múltiplos mecanismos de resistência, outros que a produção de beta-lactamases.

Infecções por bactérias “super resistentes” têm limitado drasticamente as opções terapêuticas, consequentemente, ocorre aumento no tempo de hospitalização do paciente e na utilização de fármacos de última escolha (aumentando a morbidade e/ou mortalidade), contribuindo para a seleção de bactérias resistentes aos antibióticos.

Métodos e testes de detecção de beta-lactamases

As informações dessa revisão não visam detalhes sobre testes de detecção de beta-lactamases e sim subsídios e conhecimentos para a melhor aplicabilidade dos testes e principalmente interpretação dos resultados.

Vários métodos e testes de detecção de beta-lactamases têm sido apresentados em artigos publicados em revistas científicas, assim como resumidos em documentos de comitês que padronizam e recomendam testes de sensibilidade aos antibióticos tão bem como a interpretação dos resultados:

- *Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI* (<http://clsi.org/>);
- *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST* (<http://www.eucast.org/>) e, recentemente;
- *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, BrCAST* (<http://brcast.org.br/>), que é o comitê brasileiro de teste de sensibilidade aos antibióticos, implementando as padronizações e recomendações do EUCAST, no entanto, adaptando e atualizando documentos à realidade das bactérias isoladas no Brasil assim como dos antibióticos disponíveis e comercializados no país. Além disso, todos os documentos são gratuitos e traduzidos para a língua portuguesa brasileira.

Nota técnica nº 01/2013 medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. (<http://portal.anvisa.gov.br/>)

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Declaramos que não existem conflitos de interesse.

APOIO FINANCEIRO

Nossa atuação no estudo da resistência bacteriana aos antimicrobianos tem sido suportada pelas agências de fomento à pesquisa, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através de financiamentos a projetos de pesquisa e bolsas de estudo. Em especial, atualmente nosso trabalho tem sido financiado por Auxílio à Pesquisa - Projeto de Pesquisa Temático FAPESP, Proc.: 2014/14494-8. Leonardo Neves Andrade atua com Bolsa de Pós-Doutorado PNPd/CAPES 2015.

AGRADECIMENTOS

Com esta revisão, nós agradecemos a colaboração de todos os institutos de pesquisa, universidades, faculdades, hospitais, serviços e profissionais de saúde, em especial nossos colegas microbiologistas e infectologistas, que têm contribuído com nosso trabalho durante toda nossa trajetória de pesquisa. Gostaríamos de agradecer também a atenção e gentileza na leitura crítica do manuscrito realizada pelo Prof. Dr. Afonso Barth, professor titular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e, pela aluna Natália Columbaro Moreira, aluna de graduação em ciências farmacêuticas da UNAERP e iniciação científica (IC) do LEBEM-FCFRP-USP. NCM é bolsista de IC da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), 2016/09150-3.

REFERÊNCIAS

1. Bush K, Bradford PA. beta-Lactams and beta-Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Review]. 2016 Aug 01;6(8).
2. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Clinical Lab Standards Institute. 2016;M100S(26th Edition).
3. Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2015 Jan;13(1):42-51.
4. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Mar;54(3):969-76.
5. Jacoby GA. Beta-lactamase nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Apr;50(4):1123-9.
6. Jacoby GA, Bonomo RA, Bradford PA, Bush K, Doi Y, Feldgarden M, et al. Comment on: Resistance gene naming and numbering: is it a new gene or not? *J Antimicrob Chemother* [Letter]. 2016 Sep;71(9):2677-8.
7. Ambler RP. The Structure of β -Lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*. 1980;289(1036):321-331.
8. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* [Review]. 1995 Jun;39(6):1211-33.
9. Thomson KS. Extended-spectrum-beta-lactamase, AmpC, and Carbapenemase issues. *J Clin Microbiol* [Review]. 2010 Apr;48(4):1019-25.
10. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care* [Review]. 2010;14(3):224.
11. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2009 Jan;22(1):161-82, Table of Contents.
12. Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. *Trends Microbiol*. 2006 Sep;14(9):413-20.
13. Carattoli A. Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Jun;53(6):2227-38.
14. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* [Review]. 2001 Oct;14(4):933-51, table of contents.
15. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 2005 Oct;18(4):657-86.
16. Bush K. beta-Lactamases of increasing clinical importance. *Curr Pharm Des* [Review]. 1999 Nov;5(11):839-45.
17. Bonnet R. Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases:

- the CTX-M Enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;48(1):1-14.
18. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2006 Oct;9(5):466-75.
19. Canton R, Gonzalez-Alba JM, Galan JC. CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion. *Front Microbiol*. 2012;3:110.
20. Bonnet R, Sampaio JL, Chanal C, Sirot D, De Champs C, Viallard JL, et al. A novel class A extended-spectrum beta-lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Nov;44(11):3061-8.
21. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol*. 2010 Aug;300(6):371-9.
22. Sampaio JL, Gales AC. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on beta-lactams and polymyxins. *Braz J Microbiol* [Review]. 2016 Oct 25.
23. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ, et al. Comparative review of the carbapenems. *Drugs* [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2007;67(7):1027-52.
24. Gniadek TJ, Carroll KC, Simner PJ. Carbapenem-Resistant Non-Glucose-Fermenting Gram-Negative Bacilli: the Missing Piece to the Puzzle. *J Clin Microbiol* [Review]. 2016 Jul;54(7):1700-10.
25. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Jul;20(3):440-58, table of contents.
26. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Apr;45(4):1151-61.
27. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013;13(9):785-796.
28. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. Class A carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* [Review]. 2007 Sep;60(3):470-82.
29. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* [Review]. 2006 Mar;57(3):373-83.
30. Nicoletti AG, Marcondes MF, Martins WM, Almeida LG, Nicolas MF, Vasconcelos AT, et al. Characterization of BKC-1 class A carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2015 Sep;59(9):5159-64.
31. Toleman MA, Simm AM, Murphy TA, Gales AC, Biedenbach DJ, Jones RN, et al. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-beta-lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Antimicrob Chemother* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Nov;50(5):673-9.
32. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *The Lancet Infectious Diseases*. 2011;11(5):381-393.
33. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*. 2005 Apr;18(2):306-+.
34. Andrade LN, Woodford N, Darini AL. International gatherings and potential for global dissemination of Sao Paulo metallo-beta-lactamase (SPM) from Brazil. *Int J Antimicrob Agents* [Letter Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2014 Feb;43(2):196-7.
35. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Dec;53(12):5046-54.
36. Johnson AP, Woodford N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. *J Med Microbiol*. 2013 Apr;62(Pt 4):499-513.
37. Andrade LN, Darini AL. Response to detection of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing bacteria, Brazil. *Emerg Infect Dis* [Letter Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2015 Jun;21(6):1069-71.
38. Falcone M, Paterson D. Spotlight on ceftazidime/avibactam: a new option for MDR Gram-negative infections. *J Antimicrob Chemother* [Review]. 2016 Oct;71(10):2713-22.
39. Sharma R, Eun Park T, Moy S. Ceftazidime-Avibactam: A Novel Cephalosporin/beta-Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Resistant Gram-negative Organisms. *Clin Ther* [Review]. 2016 Mar;38(3):431-44.
40. Bowers DR, Huang V. Emerging Issues and Treatment Strategies in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE). *Curr Infect Dis Rep* [Review]. 2016 Dec;18(12):48.
41. Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2013 Apr;11(4):383-393.
42. French CE, Coope C, Conway L, Higgins JP, McCulloch J, Okoli G, et al. Control of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae outbreaks in acute settings: an evidence review. *J Hosp Infect* [Review]. 2017 Jan;95(1):3-45.
43. Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol* [Review]. 2013 Aug;303(6-7):298-304.
44. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2011 Sep;35(5):736-55.