

ENTEROCOCCUS MULTIRRESISTENTE A ANTIMICROBIANOS: UM IMPORTANTE PATÓGENO NOSOCOMIAL

ENTEROCOCCUS MULTIRESISTANT THE ANTIMICROBIAL: AN IMPORTANT PATHOGEN NOSOCOMIAL

MÁRCIA REGINA TERRA^{1*}, MÁRCIA CRISTINA FURLANETO², LUCIANA FURLANETO-MAIA³

1. Discente do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia pela Universidade Estadual de Londrina- UEL Londrina, Paraná, Brasil; 2. Docente do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Universidade Estadual de Londrina; 3. Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.

* Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 km 380, Campus Universitário, Cx. Postal 10.011, Londrina, Paraná, Brasil. CEP 86.057-970.

marciarterra@hotmail.com

Recebido em 20/12/2016. Aceito para publicação em 03/02/2017

RESUMO

Enterococcus é um patógeno oportunista que tem ganho notoriedade ao longo das últimas décadas como importante causa de infecções nosocomiais, tais como, a bacteremia, endocardite, infecções de sítio cirúrgico. A presença de determinantes genéticos que codificam mecanismos de resistência a antimicrobianos empregados na clínica médica é a base para a capacidade de colonização e persistência em ambientes hospitalares. O presente estudo de revisão bibliográfica foi realizado por meio de levantamento bibliográfico em plataformas tais como periódicos CAPES, Lilacs, PubMed, Scielo e Web of Science a cerca da resistência de *Enterococcus* a antimicrobianos com o objetivo de levantar os principais mecanismos de ação dos antimicrobianos empregados para o tratamento de infecções enterocócicas e os mecanismos de resistência de *Enterococcus* a estes fármacos. A sua resistência a uma ampla gama de antimicrobianos pode ser um caractere intrínseco como a resistência às cefalosporinas, β -lactâmicos e sulfonamidas ou adquirida por meio de plasmídeos tal como a resistência aos aminoglicosídeos, cloranfenicol e glicopeptídeos. Em conclusão, em razão ao uso de antimicrobianos de forma rotineira na clínica médica *Enterococcus* desenvolveu uma resposta adaptativa frente a pressão exercida por esses fármacos resultando em resistência a antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVE: *Enterococcus*, *Enterococcus* multirresistente, resistência microbiana a medicamentos.

ABSTRACT

Enterococcus is a opportunistic pathogen that has gained notoriety over the past decades as an important cause of nosocomial infections such as bacteremia, endocarditis, surgical site infections. The presence of genetic determinants encoding antimicrobial resistance mechanisms employed in medical practice is the basis for the colonizing ability and persistence in hospital settings. This study literature review was conducted through literature on platforms such as CAPES, Lilacs, PubMed, SciELO and Web of Science about the resistance of *Enterococcus* antimicrobial in order to raise the main mechanisms of action of antimicrobial agents used for the treatment of enterococcal infections and *Enterococcus* mechanisms of resistance to these drugs. Their resistance to a wide range of antimicrobial may be an intrinsic character such as resistance to

cephalosporins, β -lactams and sulfonamides or acquired by plasmids such as resistance to aminoglycosides, chloramphenicol and glycopeptides. In conclusion, due to the use of routinely antimicrobials in *Enterococcus* medical clinic developed an adaptive front pressure response exerted by these drugs resulting in antimicrobial resistance.

KEYWORDS: *Enterococcus*, *Enterococcus* multidrug, microbial drug resistance.

1. INTRODUÇÃO

Endófitos *Enterococcus* spp., embora considerados microrganismos comensais até recentemente, têm se tornado um importante patógeno de infecções em humanos e em especial entre pacientes hospitalizados na atualidade^{1,2}.

As bactérias pertencentes ao gênero *Enterococcus* (da palavra francesa “*entérocoque*” que enfatiza a origem intestinal destas bactérias)³ são ubíquas, sendo encontradas como comensais^{4,5}.

Ao longo das décadas com o frequente isolamento de *Enterococcus* de infecções urinárias, hematogênicas, endocardites entre outras^{5,6} o gênero emergiu como uma importante agente etiológico de infecções comunitárias e nosocomiais onde as espécies *E. faecalis* e *E. faecium* apresentam maior importância médica devido ao seu isolamento de doenças humanas e por serem responsáveis por um elevado número de infecções, sendo *E. faecalis* a espécie predominante seguido de *E. faecium* que tem sido mais correlacionada a amostras multirresistentes^{7,1,2}.

A habilidade de *Enterococcus* sobreviver em objetos inanimados, de se manter como colonizante sem causar doença em grande parte das situações, os fatores de virulência e a multirresistência contribui para a sobrevivência em ambientes adversos, tais como o ambiente hospitalar onde há intensa

utilização de antimicrobianos⁸. A resistência a antimicrobianos (*Antimicrobial resistance* - AMR) é a maior ameaça para a saúde humana em todo o mundo, prejudicando a nossa capacidade de tratar um número crescente de infecções⁹.

Além de apresentar resistência intrínseca a vários antimicrobianos, o gênero *Enterococcus* possui grande habilidade em adquirir resistência a múltiplos agentes comumente utilizados no tratamento de infecções como penicilinas, aminoglicosídeos, glicopeptídeos e recentemente a linezolida^{10,11}.

Enterococcus spp. possui resistência intrínseca a inúmeros antimicrobianos e a habilidade de adquirir resistência a múltiplos agentes antimicrobianos usualmente ministrados no tratamento de infecções enterocócicas por meio de mecanismos de transferência horizontal de genes ocorre, principalmente, pela obtenção de plasmídeos de resistência via conjugação, que conferem a capacidade de expressar fenótipos de resistência a diversas drogas, tais como, aminoglicosídeos, glicopeptídeos, penicilinas e, atualmente, a linezolida^{12,10}.

A multirresistência de cepas de *Enterococcus* e sua habilidade de transferir estes determinantes genéticos de resistência faz deste gênero bacteriano um dos mais importantes no que diz respeito a agentes etiológicos de infecções nosocomiais, sendo um dos principais gêneros de bactérias Gram-positivas a ser isolado de infecções de origem hospitalar, preocupando os profissionais que atuam na área de infecção hospitalar⁶.

Desta forma, diante do aumento de cepas de *Enterococcus* sp. multirresistentes suscita-se a necessidade de artigos que contribuam para a atualização de informações sobre o tema e motivem o interesse dos discentes e docentes da área de saúde. Nessa abordagem, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento bibliográfico sobre resistência de *Enterococcus* a antimicrobianos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo é do tipo revisão bibliográfica com levantamento bibliográfico em livros, periódicos, bancos de dados, tais como: periódicos CAPES Lilacs, PubMed, Scielo e Web of Science. “Os descritores usados foram: “*Enterococcus*”, “*E.faecalis*”, “*E.faecium*”, “Drug Resistance, Microbial”, “Resistência Microbiana a Medicamentos”, “Drug Resistance, Bacterial”, “Farmacorresistência Bacteriana”, “Drug Resistance Multiple Bacterial”, “Farmacorresistência Bacteriana Múltipla”.

3. DESENVOLVIMENTO

Durante mecanismo de ação dos antimicrobianos

Os antimicrobianos são importantes ferramentas utilizadas para combater infecções bacterianas desde sua

introdução na década de 50¹³. Como podemos observar na Figura 1 no mercado farmacêutico há diversas classes de antimicrobianos que apresentam diferentes mecanismos de ação.

MECANISMO DE AÇÃO	ANTIMICROBIANOS	ESPECTRO DE AÇÃO
Inibição da síntese da parede celular	Penicilinas, carbapenênicos, cefalosporinas e monobactâmicos.	Ampla espectro.
	Glicopeptídeos (vancomicina e teicoplanina).	Bactérias Gram-positivas.
Alteração da Interação com a Membrana celular	Lipopeptídeos (daptomicina)	Bactérias Gram-positivas
Inibição da síntese proteica	Tetraciclínas, aminoglicosídeos, cloranfenicol e macrolídeos.	Ampla espectro.
	Oxazolidinonas e estreptograminas.	Bactérias Gram-positivas.
Inibição da síntese de DNA	Fluoroquinolonas.	Ampla espectro.
Inibição competitiva da síntese de ácido fólico	Sulfonamidas, trimetopim.	Bactérias Gram-positivas
Inibição da síntese de RNA	Rifampicina.	Bactérias Gram-positivas.

Figura 1. Mecanismo de ação dos antimicrobianos^{14,15,16}.

Resistência a Antimicrobianos

Logo após a introdução bem sucedida de antimicrobianos como agentes terapêuticos de doenças infecciosas, foi observado o aparecimento de resistência a cada novo composto antimicrobiano e as bactérias resistentes emergiram (Figura 2)^{13,14}.

Os passos para as pesquisas de antimicrobianos foram lentos, se comparado ao surgimento das inúmeras estratégias desenvolvidas por bactérias patogênicas para adquirirem resistência a antimicrobianos. Onde a introdução de novas classes de medicamentos antimicrobianos foi seguida, muitas vezes rapidamente, pelo surgimento de microrganismos resistentes como demonstrado na figura 2^{18,13, 19}.

O aumento da prevalência de bactérias patogênicas resistentes a antimicrobianos resulta principalmente da pressão seletiva devido à utilização generalizada de antimicrobianos na medicina humana e veterinária, nutrição de animais e agricultura e à capacidade das bactérias serem altamente resistentes a muitos antimicrobianos utilizados^{20,13,14}.

A resistência pode ser classificada como intrínseca, quando a espécie já possui genes de resistência e estes se encontram no cromossomo, ou extrínseca (adquirida) quando a resistência pode advir de uma mutação no DNA original ou à aquisição de material genético¹⁸ por meio de mecanismos de Transferência Horizontal de Genes (THG). Nesse certame, há descrito três mecanismos de THG: i) a transformação que ocorre quando a bactéria capta, incorpora e expressa um DNA que estava livre no ambiente; ii) a transdução que envolve a transferência do DNA de bacteriófagos para bactérias e iii) a conjugação que envolve a célula doadora portadora de plasmídeo, a célula receptora livre de plasmídeo e há a necessidade de contato físico para que ocorra a transferência do material genético²¹.

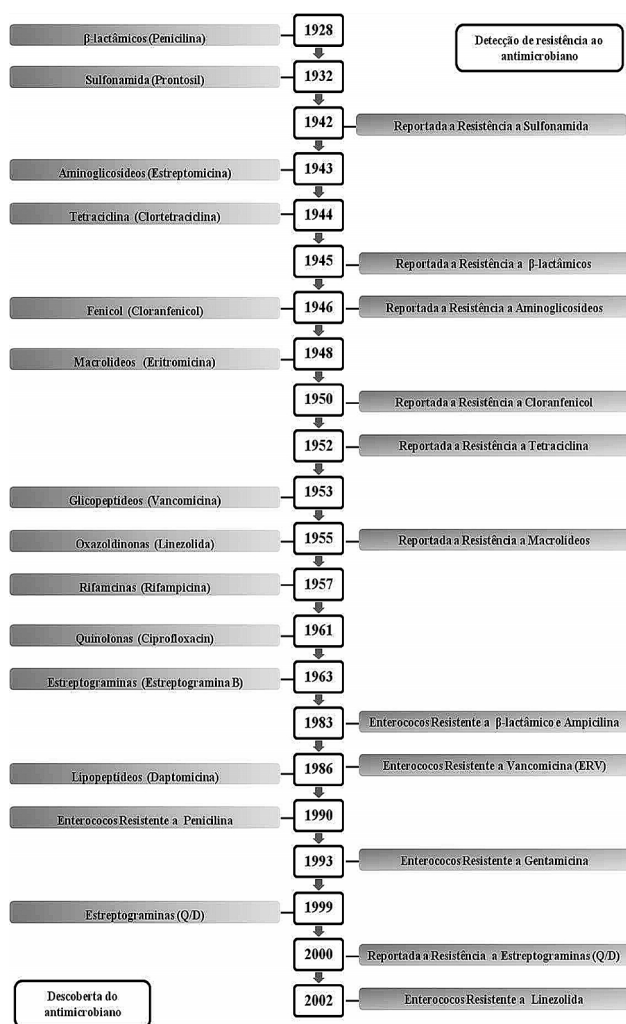


Figura 2. Linha do tempo demonstrando a direita o ano de descoberta do antimicrobiano e a esquerda o ano de detecção de resistência ao antimicrobiano^{16,15,17}.

Enterococcus Sp. resistente a Antimicrobianos

Como podemos observar na figura 3 em contrapartida à ação dos antimicrobianos *Enterococcus* sp. desenvolveu uma ampla variedade de mecanismos de resistência devido à versatilidade de seu repertório genético²².

Resistência a antimicrobianos que atuam na parede celular

Sabe-se que os antimicrobianos que atuam na parede celular bacteriana são: os β-lactâmicos, as cefalosporinas e os glicopeptídeos²³.

Os β-lactâmicos (ampicilinas e penicilinas) atuam na inibição da síntese de peptideoglicano da parede celular que compartilham um componente estrutural característico o anel β-lactâmico. As enzimas transpeptidases

(PBP - penicillin binding proteins) catalisam a reação de transpeptidação que é responsável pela ligação cruzada de duas cadeias peptídicas ao glicano. Os β-lactâmicos ligam-se as PBPs tornando-as incapazes de catalisar a reação de transpeptidação. Assim, não há formação da ligação cruzada na parede celular bacteriana recém-sintetizada, tornando-a mais frágil²³.

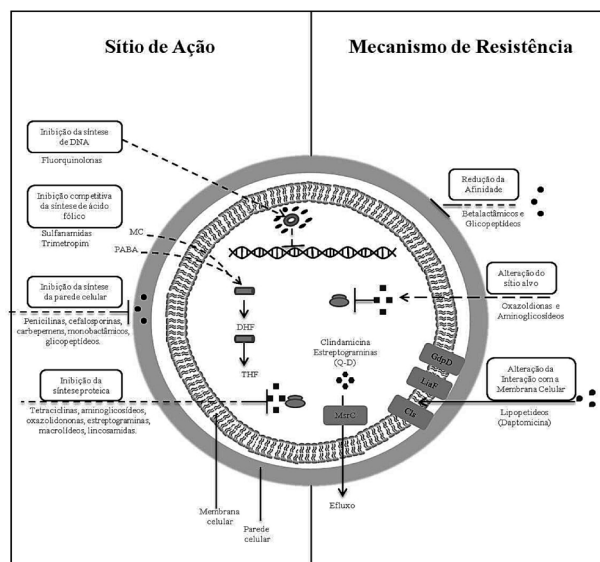


Figura 3. Principais sítios de ação de antimicrobianos e mecanismos de resistência de *Enterococcus* a antimicrobianos^{15,16,23,24}.

O elevado nível de resistência a penicilinas é determinado pela superprodução de proteínas de ligação a penicilina (PBP) de baixa afinidade, ou ainda por mutações nas PBP o que as torna menos suscetíveis a inibição ocorrido por ela. Já foram descritas linhagens de *E. faecalis* produtoras de β-lactamase codificadas pelo gene *blaZ*²⁵.

As PBPs podem ser classificadas como PBP de classe A, que são enzimas bifuncionais que possuem tanto D, D- transpeptidase e atividade transglicosilase e como PBP de classe B, que possuem apenas o domínio transpeptidase e dependem da atividade de outras enzimas transglicosilase²².

Estudos demonstram que os *Enterococcus* podem produzir pelo menos cinco PBPs²⁶, onde *E. faecalis* e *E. faecium* possui seis genes putativos PBP, três dos quais são da classe A (*ponA*, *pbpF*, *pbpZ*) e três da classe B (*pbp5*, *pbpA*, *pbpB*)²⁷.

A estrutura cristalina de PBP5 indica que a diferença em aminoácidos específicos é responsável pela resistência ao interferir na arquitetura do sítio ativo ou interferindo na ligação das β-lactamases²⁸.

Aproximadamente 90% dos *Enterococcus faecium* isolados de amostras hospitalares são resistentes a ampicilina⁴. O mecanismo responsável pela resistência a ampicilina advém da expressão do gene *pbp5R* que comumente encontrado em *E. faecium* isolado de origem

nosocomial e que produz proteínas de ligação à penicilina 5 (PBP5) que apresentam baixa afinidade a β -lactâmicos²⁹. Já em *E. faecalis* a resistência à ampicilina é rara, embora já tenha sido notificado surto de estirpes de *E. faecalis* na década de 90 que possuíam uma β -lactamase idêntica à enzima de estafilococos⁴⁰.

As cefalosporinas tais como, a cefalotina, cefotaxima, cefepima e ceftazolidima possuem mecanismo de ação análogo aos β -lactâmicos. Uma característica bem conhecida de *Enterococcus* é a resistência intrínseca às cefalosporinas, porém a base molecular deste fenótipo não é completamente compreendida. A resistência intrínseca tem sido associada com uma diminuição da afinidade de ligação de cefalosporinas com as PBPs de *Enterococcus*, especificamente PBP5^{30,31}. As cefalosporinas não podem ser utilizadas para o tratamento de infecções enterocócicas devido à resistência intrínseca que se dá em nível elevado³².

Os glicopeptídeos vancomicina e teicoplanina consistem em um anel peptídico no qual vários açúcares estão covalentemente ligados³³. Tem como sítio-alvo a parede celular bacteriana^{34,35}, onde se liga com elevada afinidade a porção C-terminal do pentapeptídeo D-Ala-D-Ala, bloqueando a adição de precursores por transglicosilação a cadeia nascente de peptideoglicano e prevenindo subsequente ligação por transpeptidação³⁶ inibindo e interrompendo a síntese da parede celular, sendo assim considerados bactericidas por desestabilizar a parede celular provocando a morte da bactéria³⁷.

A resistência à glicopeptídeos é codificada por nove genes que formam o cluster *van* e pode estar contido no transposon *1546* (Tn*1546*) ou em seus derivados que geralmente estão alocados em plasmídeos transferíveis³⁶.

A modificação do aminoácido terminal D-alanina por D-lactato é codificada pelos genes *vanA*, *vanB* e *vanD* a alteração do aminoácido terminal introduz uma interação eletrostática repulsiva no lugar da ligação de hidrogênio. Em consequência, afinidade da vancomicina com a camada de peptideoglicano diminui. Os genótipos *vanA* e *vanD* são responsáveis por alto nível de resistência à vancomicina (Concentração Inibitória Mínima, CIM ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) e resistência de nível moderado a alto à Teicoplanina (CIM $\geq 16\mu\text{g/mL}$, enquanto que *vanB* apresenta nível moderado a alto à vancomicina (CIM 4-1024 $\mu\text{g/mL}$) e sensibilidade à teicoplanina (CIM $< 0,5$ -1 $\mu\text{g/mL}$). Quando a resistência é codificada pelos genes *vanC*, *vanE* e *vanG* o aminoácido terminal D-alanina é substituído por D-serina, que confere baixo nível de resistência à vancomicina, enquanto que a teicoplanina mantém sua atividade. Desta maneira, estes precursores modificados não são reconhecidos pela vancomicina^{35,36,38,39}.

Os genes *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* e *vanN* são adquiridos e o gene *vanC* é intrínseco^{36,40}, espécie-específica, componentes do *E. gallinarum*

(*vanC-1*), *E. casseliflavus* e *E. flavescens* (*vanC-2/vanC-3*, respectivamente)⁴¹.

Na América Latina, América do Norte, Sudeste da Ásia e Leste da Europa os genes *van* mais prevalentes em *E. faecium* são *vanA*, seguido de *vanB* e *vanC*³⁹. A resistência adquirida a glicopeptídeos está associada principalmente com o fenótipo *vanA* que está frequentemente localizado em plasmídeos conjugativos⁴².

Resistência a Antimicrobianos que atuam na membrana celular

A daptomicina é um antimicrobiano peretente à classe dos lipopeptídeos e ainda que não seja aprovado pela FDA para tratar infecções causadas por ERV este antimicrobiano é normalmente utilizado nos Estados Unidos e outros países para essa finalidade⁴³.

Os lipopeptídeos possuem como sítio de ação a membrana celular interagindo com os fosfolípidos. Para tanto, é necessário à presença de íons de cálcio para a incorporação da daptomicina na membrana celular, esses íons parecem se ligar preferencialmente no plano de divisão do septo. Uma vez no interior da membrana, a daptomicina oligomeriza-se no folheto exterior. Enquanto que os complexos de daptomicina atingem o folheto interno da membrana celular originando poros, que descontinuem a integridade e funcionalidade da membrana celular o que leva à morte da célula^{44,45}.

Para a resistência à daptomicina ocorrer em *E. faecalis* parece ser essencial a modificação da interação com a membrana celular o que requer uma proteína de membrana LiaF e enzimas envolvidas no metabolismo do fosfolípido, tal como um membro da família da glicerofosforil diéster fosfodiesterase (GdpD) e cardiolipina sintase (Cls)¹⁷.

Resistência a antimicrobianos que atuam na síntese proteica

Os aminoglicosídeos, os fenicóis, as estreptograminas, os macrolídeos e as tetraciclinas são antimicrobianos que atuam na inibição da síntese proteica, interagindo com o ribossomo e interrompe a tradução²³.

Na classe aminoglicosídeos estão incluídos a estreptomicina que é produzida pelo *Streptomyces griseus* e seus relacionados canamicina, neomicina, gentamicina, amikacina entre outros. Possuem como alvo a subunidade ribossomal 30S, inibindo a síntese e devido à sua toxicidade é utilizado quando outros antimicrobianos falham²³.

Enterococcus apresenta resistência intrínseca a aminoglicosídeos (estreptomicina ou gentamicina) resultando em baixa afinidade por moléculas altamente polares, sendo observado como fenótipo baixo nível de resistência. Já o alto nível de resistência pode advir de modificação da ligação ao alvo devido à expressão de

enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (do inglês *aminoglycoside modifying enzymes* - AMEs) catalisam a modificação dos grupos -OH ou -NH₂ desses antimicrobianos^{17,46}.

As acetiltransferases (AAC) convertem os aminoglicosídeos deslocando um grupo acetil da acetil-coenzima A para um grupo amino deste antimicrobiano⁴⁷. Como o gene bifuncional *aac* (6')-Ie-*aph* (2'')-Ia que codifica a enzima bifuncional AAC (6')-IeAPH (2'')-Ia (possui ambas as atividades de acetilação e fosforilação da molécula do antibiótico)^{47,18} conferindo resistência a todos os aminoglicosídeos exceto a estreptomicina. Sendo o responsável pelo alto nível de resistência a gentamicina adquirida por meio de um transposon⁴⁸.

As fosfotransferases (APHs) convertem um grupo fosfato da Adenosina Trifosfato (ATP) ou Guanosina Trifosfato (GTP), na presença de Mg²⁺, para um grupo hidroxila do aminoglicosídeo⁴⁹. O gene *aph* (2'')-Ic foi descrito pela primeira vez em 1997 alocado em plasmídeos conjugativos de *E. gallinarum* e posteriormente foi identificado em *E. faecalis* e *E. faecium*. A expressão deste gene gera fenótipos de resistência clínica à canamicina, dibecacina, gentamicina e tobramicina, também sendo associado à eliminação do sinergismo ampicilina/gentamicina. O elevado nível de resistência à canamicina, dibecacina, gentamicina, netilmicina e tobramicina é codificado pelos genes *aph* (2'')-Ib e *aph* (2'')-Id (detectado somente em isolados clínicos de *E. faecium* resistente à vancomicina). A expressão do gene O gene *aph* (3')-IIIa confere alto nível de resistência canamicina, amicacina e neomicina^{18,50}.

As nucleotíldiltransferases (ANT) adicionam grupo adenilato do ATP ao grupo hidroxila do aminoglicosídeo. O gene *ant* (4')-Ia codifica a enzima nucleotíldiltransferases ANT (4')-Ia conferindo resistência a tobramicina, amicacina e canamicina^{48,32}. O gene *ant* (6')-Ia codifica a enzima ANT (6')-Ia que confere resistência apenas à estreptomicina.

Os genes que codificam a expressão destas enzimas em *Enterococcus* spp podem estar alocados em transposons e plasmídeos que possuem grande capacidade de disseminação³².

Mais de 90% dos isolados clínicos que possuem alto nível de resistência à gentamicina possuem o gene *aac* (6')-Ie-*aph* (2'')-Ia, e menos de 10% possuem *aph* (2'')-Ic; *aph* (2'')-Id; *aph* (2'')-Ib⁵⁰.

São ministrados de forma confiável na prática clínica quando associados a β-lactâmicos apenas a gentamicina e a estreptomicina, pois as enzimas produzidas por *Enterococcus* não afetam facilmente estes aminoglicosídeos. Entretanto, é observada a supressão do efeito sinérgico desses compostos quando detectada alto nível de resistência pelo método de diluição em ágar frente à estreptomicina e gentamicina definidos por uma CIM > 2000 µg / ml e de 500 µg / mL, respectivamente³².

O cloranfenicol é um antimicrobiano que pertence à classe dos fenícolos e que possui amplo espectro de atividade antimicrobiana. Seu mecanismo de ação decorre de sua ligação reversível à subunidade ribossômica 50S. A resistência a cloranfenicol em *Enterococcus* é mediada pela presença do gene plasmidial ou cromossomal *cat*, que codifica uma acetiltransferase, a qual tem função de alterar a estrutura do antimicrobiano, ao fazer com que esse perca a capacidade de ligação à porção ribossomal. Alguns hospitais têm empregado o cloranfenicol no tratamento de processos infecciosos ocasionados por cepas enterocócicas multirresistentes, entretanto cerca de 50% das linhagens pertencentes a este gênero são resistentes⁵⁰.

A classe das estreptograminas inclui as micamicinas, oestreomicinas, pristamicinas e as virginamicinas e atuam inibindo a síntese de proteínas por interferir com a subunidade 50S do ribossomo bacteriano⁵¹.

A partir da combinação de dois compostos de estreptogramina A (70% dalfopristina) e B (30% quinupristina) especialmente ativas contra isolados de *E. faecium* desenvolveu-se os antimicrobianos semissintéticos quinupristina/dalfopristina que agem em sinergismo provocando a morte de seus principais alvos que são os microrganismos resistentes e que possuem opções terapêuticas limitadas. Estudos prospectivos multicêntricos demonstraram altas taxas de sucesso alcançando 66% de eficácia de quinupristina / dalfopristina no tratamento de infecções ERV^{52,51}.

A resistência de *Enterococcus* spp. as estreptograminas quinupristina-dalfopristina (Q-D) envolve vários mecanismos, como a modificação das drogas (por virginamicina acetiltransferase (Vat), inativação de drogas (através da virginamicina B lysase (Vgb) e efluxo de drogas (via ATP-binding cassette protein macrolídeo-estreptogramina proteína de resistência (MsrC))¹⁷.

Quinupristina/dalfopristina apresenta ação inibitória em *E. faecium* inclusive em ERV, onde a resistência advém da expressão dos genes *vatD* e *vatE* que codificam acetiltransferases a estreptograminas⁵⁰.

A resistência a quinupristina / dalfopristina é observada em grande parte dos isolados de *E. faecalis* está espécie apresenta resistência intrínseca a clindamicina e quinupristina/dalfopristina que é codificada pelo gene *lsa*. Em isolados clínicos de *E. faecium* a resistência a quinupristina / dalfopristina (CIM ≥ 4 µg ml⁻¹) é raramente observada, devido à necessidade de múltiplos mecanismos para atingir esse nível de resistência⁵¹.

Os macrolídeos têm como alvo a subunidade 50S do ribossomo bacteriano, onde a eritromicina produzida por *Streptomyces erythreus* é o antimicrobiano mais conhecido e ainda inclui a azitromicina, a diritromicina e a claritromicina, possuindo largo espectro, sendo utilizados em substituição aos antimicrobianos da classe dos

β -lactâmicos em caso de alergia²³.

A resistência aos macrolídeos está relacionado aos genes *erm* (eritromicina ribossomo metilase) em maior frequência pelo gene *erm(B)* e raramente pelo gene *erm(A)* que codificam a expressão da metilação na região 23S do RNA ribossomal resultando em resistência cruzada aos antimicrobianos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B (MLS_B). Já o gene *mefA* transferível codifica o mecanismo de bomba de efluxo para expulsar bombear macrolídeos para fora da célula conferindo um nível mais baixo de resistência do que *ermB*⁵³. Em bactérias Gram-positivas frequentemente o gene *erm(B)* está contíguo ao gene *tet(M)* no transposon conjugativo Tn1545, que tem grande importância clínica por albergar genes de resistência o que contribui para a dispersão do fenótipo de resistência⁵⁴.

As tetraciclina são antimicrobianos bacteriostáticos que possuem um anel naftaceno básico e a substituição desse anel originam novos análogos de tetraciclina. São antimicrobianos produzidos por espécies de *Streptomyces* e possuem um amplo espectro de ação apresentando como sítio-alvo a subunidade ribossomal 30S de uma variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas inibindo a síntese proteica. Foi um dos primeiros antimicrobianos de largo espectro que inibem praticamente todas as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas²³.

A resistência à tetraciclina é codificada por cerca de 40 genes distintos que frequentemente estão alocados em elementos genéticos móveis. Os mecanismos associados com a resistência ocorrem devido a mutações na região 16S do rRNA e inativação química do antimicrobiano em menor frequência, e mais comumente por meio do mecanismo de efluxo que expulsa a tetraciclina da célula e da síntese de proteção ribossomal que previne a ligação da tetraciclina com o ribossomo^{55,56}.

Os genes *tet(K)*, *tet(L)*, *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(S)*, *tet(U)* foram observados em *Enterococcus*. Os genes *tet(M)*, *tet(O)* e *tet(S)* estão relacionados ao mecanismo de proteção ribossomal. Já os genes *tet(K)* e *tet(L)* estão associados ao efluxo. Grande parte dos genes *tet* está associado a elementos conjugativos ou móveis^{11,57}.

A oxazolidinona linezolida é um antimicrobiano com efeito bacteriostático que atua inibindo a síntese proteica ao adicionar uma aminoacil tRNA no sítio A do ribossomo bacteriano. A linezolida é empregada mundialmente como sendo a segunda droga aprovada pelo FDA para o tratamento de ERV^{58,59}.

Eventualmente, tem-se isolado cepas de *Enterococcus* resistentes a linezolida. O mecanismo mais comumente observado compreende uma mutação no RNA ribossomal 23S que é o sítio de ligação ao ribossomo¹⁷. Em *Enterococcus* a resistência envolve mutações em genes que codificam para o domínio V de 23S que interfere no posicionamento de nucleotídeos cruciais no sítio

de ligação da linezolida no rRNA⁵⁸.

Resistência a Antimicrobianos que atuam na inibição da síntese de DNA

A inibição da atividade da DNA girase ou topoisomerase IV, enzima essencial à sobrevivência bacteriana é promovido pelos antimicrobianos da classe das quinolonas e fluoquinolonas como o ácido nalidíxico, o norfloxacin e o ciprofloxacina. A DNA girase e a topoisomerase torna a molécula de DNA compacta e biologicamente ativa^{23,22}. Tais enzimas são tetrâmeros compostos por duas subunidades, a DNA girase é composta por GyrA e GyrB e a topoisomerase IV é composta de ParC e ParE⁶⁰.

Ao inibir essa enzima, impedindo o superenovelamento do DNA que é uma etapa necessária para o empacotamento do DNA na célula bacteriana a molécula de DNA passa a ocupar grande espaço no interior da bactéria e suas extremidades livres determinam síntese descontrolada de RNA mensageiro e de proteínas, determinando a morte das bactérias²³.

Tem sido observado baixo nível de resistência intrínseca de *Enterococcus* às quinolonas. No entanto, por meio de diversos mecanismos pode ocorrer a expressão que resulte num fenótipo de alto nível resistência. Em *E. gallinarum* e *E. casseliflavus* os genes alvo *gyrA* e *parC* estão ausentes já em *E. faecium* e *E. faecalis* foi detectado mutações nestes resultando em fenótipos de resistência a quinolonas⁶¹.

Resistência a Antimicrobianos que atuam na inibição competitiva da síntese de ácido fólico

O mecanismo de inibição competitiva da síntese de ácido fólico é apresentado pelas sulfonamidas que possuem um efeito bacteriostático⁶² e como representante da classe tem-se o sulfametazol que associado ao trimetoprima. Quando testados *in vitro* *Enterococcus* mostram susceptibilidade a estes antimicrobianos, porém quando *in vivo*, ou seja, na clínica estes compostos são ineficazes⁶³. Tal comportamento deve-se à capacidade de *Enterococcus* utilizar fontes exógenas de folato⁶⁴.

Resistência a Antimicrobianos que atuam na inibição da síntese de RNA

A inibição da síntese de RNA é promovida pelo antimicrobiano da classe ansamicinas a rifampicina. Ela age durante a fase de crescimento da bactéria unindo-se a RNA polimerase em sua subunidade beta (proteínas RpoB), bloqueando a síntese de RNA mensageiro e consequentemente a síntese de proteínas⁶⁵.

A resistência rifampicina comumente advém de mutações em sítios específicos no gene que codifica a subunidade beta da RNA polimerase, atenuando a afinidade da rifampicina para a RNA polimerase. Em diversas

espécies de bactérias inclusive em *E. faecalis* e *E. faecium* foram detectadas mutações no gene *rpoB* que afetam a expressão das proteínas RpoB, sendo observada em vários casos a inativação enzimática da rifampicina²⁴.

O rápido desenvolvimento da resistência contra a rifampicina é de grande preocupação quando se utiliza esta droga, mas em *E. faecalis* resistência à rifampicina pode ser limitada *in vitro* através da combinação rifampicina com uma fluoroquinolona ou linezolida⁶⁶.

5. CONCLUSÃO

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Enterococcus* há pouco tempo eram considerados comensais da microbiota de mamíferos. Contudo, têm emergido como importantes agentes etiológicos de infecções em humanos.

Esta emergência está associada à sua capacidade de apresentar resistência intrínseca a vários antimicrobianos, além de possuir ampla capacidade em adquirir resistência a múltiplos fármacos tais como os aminoglicosídeos, glicopeptídeos, penicilinas e recentemente a linezolida que são usualmente ministrados no tratamento de infecções enterocócicas.

A transferência dos genes responsáveis pela expressão de fenótipos de resistência está amplamente relacionada a plasmídeos conjugativos que são de fácil disseminação inter e intraespecífica. Desta forma, suscita-se a necessidade de estudos que se dediquem a avaliar não somente o perfil de resistência deste gênero, mas também a pesquisa e desenvolvimento de novos antimicrobianos e novas estratégias terapêuticas além de formas de mitigar a perpetuação de cepas resistentes.

REFERÊNCIAS

- [01] Leclercq R. Epidemiological and resistance issues in multidrug-resistant staphylococci and enterococci. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(3): 224-231.
- [02] Rosenthal VD, Maki DG, Mehta Y, et al. International nosocomial infection control consortium (INICC) report, data summary of 43 countries for 2007-2012. Device-associated module. *Am J Infect Control* 2014; 42(9): 942-56.
- [03] Stiles ME, Holzapfel WH. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* 1997; 36(1): 1-29.
- [04] 4 BE. The life and times of the *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3(1): 46-65.
- [05] Giraffa G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiol Rev* 2002; 26(2):163-171.
- [06] Furtado GHC, Martins ST, Coutinho AP, et al. Incidence of vancomycin-resistant *Enterococcus* at a university hospital in Brazil. *Rev Saúde Pública* 2005; 39(1): 1-5.
- [07] Huycke MM, Sahn DF, Gilmore MS. Multiply resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* 1998; 4(2):239-249.
- [08] Lautenbach E, Bilker WB, Brennan PJ. Enterococcal bacteremia: risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20(5): 318-323.
- [09] World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance global report on surveillance 2014; summary. [acesso 26 out. 2016] disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112647/1/WHO_HSE_PED_AIP_2014.2_eng.pdf
- [10] Almeida LMD, Araújo MR, Iwasaki MF, et al. Linezolid resistance in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates in a Brazilian hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, Bethesda 2014; 58(5): 2993-2994.
- [11] Jones Clive S, Osborne DJ, Stanley J. Enterobacterial tetracycline resistance in relation to plasmid incompatibility. *Mol Cell Probes* 1992; 6(4): 313-317.
- [12] Maietti L, Bonvini B, Huys G, Giraffa G. Incidence of antibiotic resistance and virulence determinants among *Enterococcus italicus* isolates from dairy products. *Syst Appl Microbiol* 2007; 30(6): 509-517.
- [13] Grohmann E, Muth G, Espinosa M. Conjugative Plasmid Transfer In Gram-Positive. *Bacteria microbiology and molecular biology*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003; 67(2): 277-301.
- [14] Levy SB. The Antibiotic Paradox: How Misuse of Antibiotics Destroys their Curative Powers. 2ª ed. Cambridge: Perseus; 2002.
- [15] Lewis Kim. Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2013; 12(5): 371-387.
- [16] Martín-Rodríguez AJ, Quezada H, Becerril G et al. Recent Advances in Novel Antibacterial Development. *Frontiers in Clinical Drug Research: Anti-Infectives* 2016; 2: 3-61.
- [17] Arias CA, Contreras GA, 4 BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 266-278.
- [18] Zarrilli R, Tripodi MF, Popolo AD, et al. Molecular epidemiology of high-level aminoglycoside-resistant enterococci isolated from patients in a university hospital in southern Italy. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56(5): 827-835.
- [19] Knobler SL, Lemon SM, Najafi M, Burroughs T. The Resistance Phenomenon in Microbes and Infectious Disease Vectors: Implications for Human Health and Strategies for Containment--Workshop Summary. 1ª Ed. Washington, DC: National Academies Press; 2003.
- [20] Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria – a review. *Int J Food Microbiol* 2005; 105(3): 281-295.
- [21] Stecher B, Maier L, Hardt WD. 'Blooming' in the gut: how dysbiosis might contribute to pathogen evolution. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11(4): 277-284.
- [22] Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014; 12(10): 1221-1236.
- [23] Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. *Microbiologia de Brock*. 12. Ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.
- [24] Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal infection—Treatment and antibiotic resistance. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N. *Enterococci: From*

- Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection, [s.n], Boston: [s.ed]; 2014.
- [25] Fontana R, Ligozzi M, Pittaluga F, *et al.* Intrinsic penicillin resistance in enterococci. *Microb Drug Resist* 1996; 2(2):209-213.
 - [26] Williamson R, Gutmann L, Horaud T, *et al.* Use of penicillin-binding proteins for the identification of enterococci. *Microbiol* 1986; 132(7): 1929-1937.
 - [27] Duez C, Hallut S, Rhazi N, *et al.* The ponA gene of *Enterococcus faecalis* JH2-2 codes for a low-affinity class A penicillin-binding protein. *J Bacteriol.* 2004; 186:4412-4416.
 - [28] Sauvage E, Kerff F, Fonce E, *et al.* The 2.4-Å crystal structure of the penicillin-resistant penicillin-binding protein PBP5fm from *Enterococcus faecium* in complex with benzylpenicillin. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59(7): 1223-1232.
 - [29] Galloway-Pena JR, Rice LB, 4 BE. Analysis of PBP5 of early U.S. isolates of *Enterococcus faecium*: sequence variation alone does not explain increasing ampicillin resistance over time. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3272-3277.
 - [30] Rice LB, Carias LL, Rudin S, *et al.* Role of class A penicillin-binding proteins in the expression of beta-lactam resistance in *Enterococcus faecium*. *J Bacteriol* 2009; 191(11): 3649-3656.
 - [31] Arbeloa A, Segal H, Hugonnet JE, *et al.* Role of class A penicillin-binding proteins in PBP5-mediated beta-lactam resistance in *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol.* 2004; 186:1221-1228.
 - [32] Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000, 31(2):586-589.
 - [33] Werner Guido. Current trends of emergence and spread of vancomycin-resistant enterococci. In: Pana Marina. Antibiotic resistant bacteria – a continuous challenge in the new millennium. 1 ed. Croácia: InTech; 2012.
 - [34] Reynolds PE. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8(11): 943-950.
 - [35] Silveira GP, Nome F, Gesser JC, *et al.* Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. *Quim Nova* 2006; 29(4): 844.
 - [36] Courvalin PM. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. *Clin Infect Dis* 2006, 42 Suppl, 1: S25-34.
 - [37] Hicks RW, Hernandez J. Perioperative Pharmacology: a focus on vancomycin. *AORN Journal* 2011; 93(5):593-596.
 - [38] Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000; 33(3): 281-301.
 - [39] Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microb* 2009, 155: 1749-1757.
 - [40] Cetinkaya Y, Falk P, Mayhal CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(4):686-707.
 - [41] Clark NC, Teixeira LM, Facklam RR, Tenover FC. Detection and differentiation of vanC-1, vanC-2, and vanC-3 glycopeptide resistance genes in enterococci. *J Clin Microbiol* 1998; 36(8): 2294-2297.
 - [42] Noble WC, Virani Z, Cree RGA. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 1992, 93(2): 195-198.
 - [43] Fantin B, Leclercq R, Garry L, *et al.* Influence of inducible cross-resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin B-type antibiotics in *Enterococcus faecium* on activity of quinupristin-dalfopristin *in vitro* and in rabbits with experimental endocarditis. *Antimicrob. Agents Chemother* 1997; 41:931-935.
 - [44] Steenbergen JN, Alder J, Thorne GM, *et al.* Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55(3): 283-288.
 - [45] Arias CA, Panesso D, McGrath DM, *et al.* Genetic basis for *in vivo* daptomycin resistance in enterococci. *N Engl J Med* 2011; 365: 892-900.
 - [46] Wachino J, Arakawa Y. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resist Updat* 2012; 15(3): 133-48.
 - [47] Caldwell S J, Berghuis AM. Small-angle x-ray scattering analysis of the bifunctional antibiotic resistance enzyme aminoglycoside (6') acetyltransferase-Ie aminoglycoside (2') phosphotransferase-Ia reveals a rigid solution structure. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(4): 1899-1906.
 - [48] Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43(4): 727-737.
 - [49] Wright GD, Thompson PR. Aminoglycoside Phosphotransferases: Proteins, Structure, And Mechanism. *Front Biosci* 1999; 4:D9-21.
 - [50] Kak V, Chow JW. Acquired Antibiotic Resistances in Enterococci. In: Gilmore MS. The Enterococci – Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance. Washington, D. C. ASM PRESS; 2002.
 - [51] Thal LA, Zervos MJ. Occurrence and epidemiology of resistance to virginiamycin and streptogramins. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43(2): 171-176.
 - [52] Linden PK, Moellering RC, Wood CA, *et al.* Treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infections with quinupristin/dalfopristin. *Clin Infect Dis* 200; 33(11): 1816-1823.
 - [53] Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, *et al.* Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, mefA, from *Streptococcus pyogenes*. *Mol microbiol* 1996; 22(5): 867-879.
 - [54] De Leener E, Martel A, Decostere A, *et al.* Distribution of the erm (B) Gene, tet racycline Resistance Genes, and Tn 1545-like Transposons in Macrolide-and Lincosamide-Resistant Enterococci from Pigs and Humans. *Microb Drug Resist* 2004; 10(4): 341-345.
 - [55] Bolhuis H, van Veen HW, Poolman B, *et al.* Mechanisms of multidrug transporters. *FEMS Microbiol Rev* 1997; 21(1): 55-84.
 - [56] Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; 65(2): 232-260.
 - [57] Recchia GD, Hall RM. Gene cassettes: a new class of mobile element. *Microbiol* 1995, 141(12): 3015-3027.

- [58] Leach KL, Swaney SM, Colca JR, *et al.* The site of action of oxazolidinone antibiotics in living bacteria and in human mitochondria. *Mol cell* 2007; 26(3):393-402.
- [59] Wilson DN, Schlunzen F, Harms JM, *et al.* The oxazolidinone antibiotics perturb the ribosomal peptidyl-transferase center and effect tRNA positioning. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105(36): 13339-13344.
- [60] Hawkey, Peter M. Mechanisms of quinolone action and microbial response. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(suppl 1):29-35.
- [61] Moreno MF, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E *et al.* The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol* 2006; 106(1):1-24.
- [62] Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*, 10 ed. Porto Alegre: Artmed; 2012.
- [63] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI/NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S21, 2011.
- [64] Grayson ML, Thauvin-Eliopoulos C, Eliopoulos GM, *et al.* Failure of trimethoprim-sulfamethoxazole therapy in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34(9):1792-1794.
- [65] Floss HG, Yu Tw. Rifamycin - Mode of action, resistance and biosynthesis. *Chem Rev* 2005; 105:621-632.
- [66] Holmberg A, Rasmussen M. Antibiotic regimens with rifampicin for treatment of *Enterococcus faecium* in biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44(1): 78-80.