TÓPICOS SOBRE RESISTÊNCIA BACTERIANA

Alexandre Merlo
MV, MsC
Gerente Técnico de Animais de Companhia
Zoetis

zoetis

O que é resistência bacteriana?

É a capacidade de uma bactéria resistir ao tratamento antimicrobiano em doses terapêuticas. Essa resistência pode ser inata ou adquirida. Na resistência **inata**, existe uma característica bacteriana geneticamente determinada que impede o efeito do antimicrobiano. Por exemplo, sabe-se que antimicrobianos beta-lactâmicos não atuam sobre espécies de *Mycoplasma*, pois tais bactérias não possuem parede celular, o alvo de ação de penicilinas e cefalosporinas. Da mesma forma, antimicrobianos aminoglicosídeos (como gentamicina, estreptomicina, amicacina e canamicina) não atuam contra anaeróbicos, uma vez que a absorção celular desses antimicrobianos depende de oxigênio para ocorrer. Na resistência **adquirida**, pode haver uma mutação cromossômica ou transferência de resistência horizontal.

Como a resistência bacteriana pode ser transmitida?

Bactérias com resistência inata, a qual é determinada geneticamente, transmitem a resistência de **forma vertical**. Ou seja, cada bactéria transfere os genes de resistência aos seus descendentes durante a replicação. Já a resistência adquirida é transmitida de **forma vertical** ou **horizontal**. Nesta forma, os genes que determinam a resistência, de alguma forma, são levados de uma bactéria a outra. Transformação bacteriana (passagem de DNA "naked"), transdução (via bacteriófagos) e conjugação (via plasmídeos) são os mecanismos que permitem a difusão dos genes em uma população bacteriana.[1] (**Figura 1**).

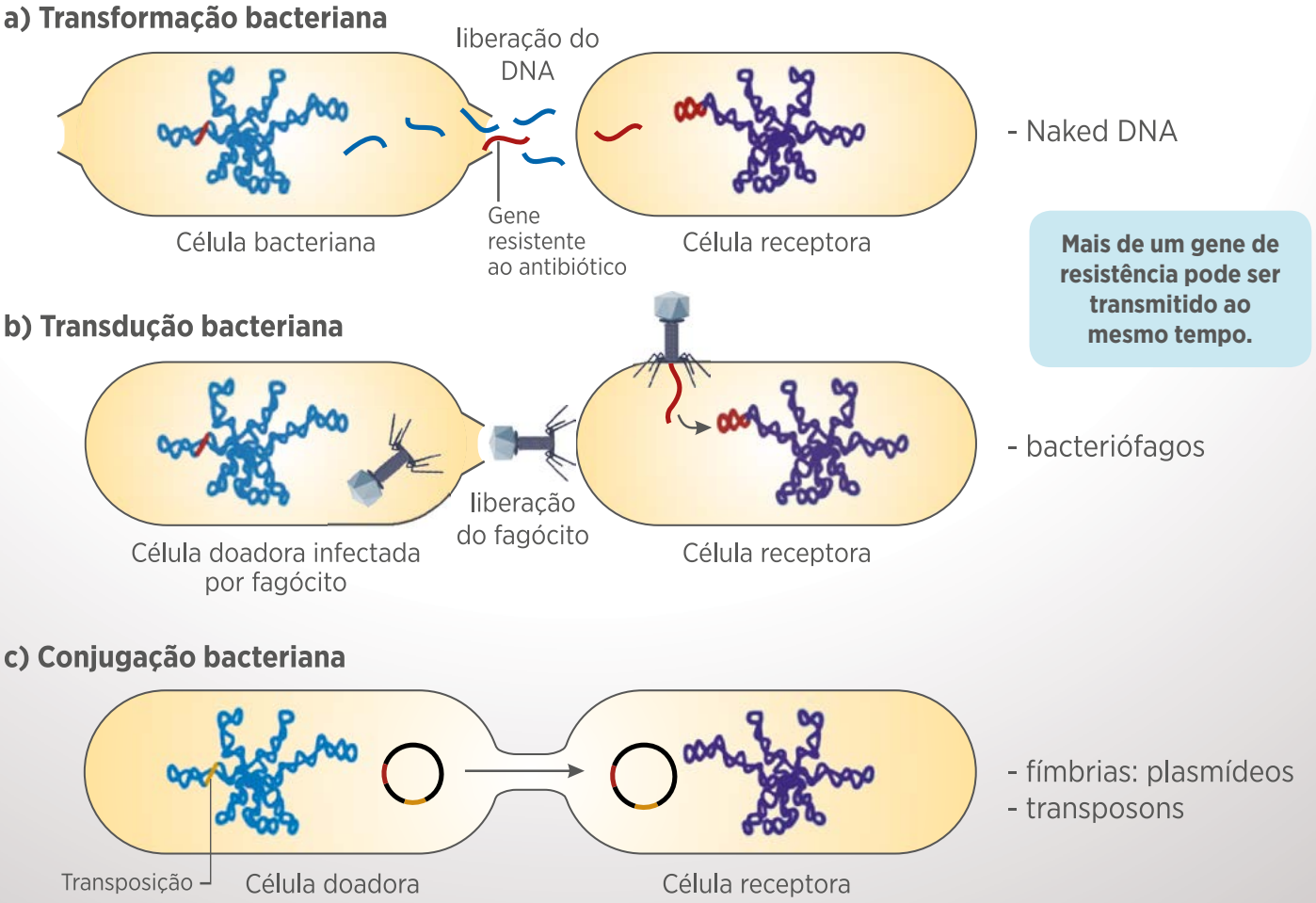

Figura 1 – Mecanismos de transferência horizontal de resistência bacteriana (Adaptado de Furuya e Lowy, 2006, ref. 1).

O que pode causar resistência bacteriana?

Hoje se sabe que um dos principais fatores de desenvolvimento de resistência bacteriana é a **exposição** aos antimicrobianos. Ou seja, quanto mais os antimicrobianos forem utilizados, maior será a chance de haver resistência. Dentro de uma população bacteriana, seja aquela presente em um determinado foco de infecção ou aquela presente em uma microbiota (como a da pele, trato gastrointestinal e trato respiratório superior), existem bactérias com resistência inata. Ao utilizar um antimicrobiano, as bactérias sensíveis são mortas e as resistentes persistem. Em situações normais, as bactérias resistentes são eliminadas pelo sistema imunológico do cão ou gato. Porém, caso as condições imunológicas sejam desfavoráveis ou a quantidade de bactérias infectantes muito grande, a população resistente pode proliferar e perpetuar a infecção, transmitindo a resistência adiante de forma vertical. Esse fenômeno é chamado de **seleção bacteriana**, é uma consequência normal de qualquer terapia com antimicrobianos e figura como o principal fator conhecido para o desenvolvimento de resistência. Eventualmente, alguns antimicrobianos podem deflagrar resistência a despeito da seleção, por um mecanismo adquirido.

Subdoses de um antimicrobiano podem induzir a resistência?

Muito se fala sobre a possibilidade de subdoses de antimicrobianos poderem causar resistência, embora haja pouca evidência científica de que isto realmente ocorra. Na verdade, utilizar doses inferiores de um antimicrobiano (em dose e/ou frequência) pode resultar em falta de eficácia (total ou parcial), advindo necessidade de mais tempo de tratamento. Por consequência, aumentará a exposição e o risco de seleção de bactérias resistentes.

Quais são as principais bactérias envolvidas nos casos de resistência em animais de companhia?

Há 2 grupos de bactérias de particular interesse atualmente: ***Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à meticilina** e ***Escherichia coli* produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL)**.[2] O *S. pseudintermedius* está envolvido nos casos de piodermite canina, sendo a avaliação de resistência feita pelo antibiograma contendo a oxacilina. Cepas de *S. pseudintermedius* resistentes à oxacilina devem ser consideradas resistentes a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), independentemente do resultado do antibiograma. A *E. coli* é uma bactéria pertencente à microbiota gastrointestinal.

Bactérias resistentes são necessariamente mais patogênicas?

Não. No caso de infecções por bactérias resistentes, existe tendência a maior demora para a escolha do antimicrobiano apropriado, seja porque um determinado antimicrobiano empírico foi utilizado sem sucesso, seja porque estão se aguardando os resultados dos exames de cultura e antibiograma.[3] Nesse interim, a infecção pode progredir e causar mais prejuízo aos animais simplesmente pelo retardo de acerto na escolha, e não necessariamente por maior patogenicidade. Pode haver casos em que as bactérias resistentes são mais patogênicas, mas isso não parece corresponder à maioria das situações.

Fluorquinolonas e cefalosporinas de terceira geração induzem a mais resistência bacteriana que outras categorias de antimicrobianos?

Historicamente, fluorquinolonas e cefalosporinas de 3ª geração têm sido relacionadas à seleção de bactérias resistentes em seres humanos e animais, em particular os de produção. A razão postulada para isso é o espectro de ação dessas categorias de antimicrobianos, voltado basicamente para **bactérias gram-negativas**, como *E. coli*. Ou seja, pelo seu uso, poderia haver seleção de cepas

resistentes de enterobactérias, as quais passariam dos animais ao ser humano, seja por ingestão de carne (contaminação de carcaças com conteúdo gastrointestinal após o abate) ou contato com as fezes de um animal doméstico tratado. Hoje, porém, tem-se enfatizado extensamente que a seleção de cepas resistentes é um fenômeno universal durante a terapia. Em outras palavras, qualquer antimicrobiano pode selecionar cepas resistentes durante um tratamento. Apenas como exemplo, vários estudos recentes apontaram que tratamentos anteriores com antimicrobianos estiveram relacionados à detecção de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à meticilina em casos de piodermite canina.[4-7] O emprego de um antimicrobiano de forma desnecessária parece ser mais importante que a categoria a que ele pertence em si. Por esse motivo, recomenda-se que o uso de antimicrobianos sistêmicos seja sempre muito cauteloso e apenas quando estritamente necessário.[2,3]

A cefovecina possui o mesmo espectro de ação que as demais cefalosporinas de terceira geração?

A classificação das cefalosporinas em 1ª, 2ª, 3ª e até mesmo 4ª geração possui certo grau de arbitrariedade cronológica e estrutural, havendo diferenças de espectro de ação entre as cefalosporinas de cada categoria.[8] Isso faz com que, dentro de uma mesma geração de cefalosporinas, existam antimicrobianos com espectros distintos. A **Figura 2** ilustra o espectro geral das principais cefalosporinas veterinárias.

1ª geração		2ª geração		3ª geração	
Aeróbicos gram-positivos	Aeróbicos gram-negativos	Aeróbicos gram-positivos	Aeróbicos gram-negativos	Aeróbicos gram-positivos	Aeróbicos gram-negativos
Anaeróbicos obrigatórios	*Staphylococcus* β-lactamase	Anaeróbicos obrigatórios	*Staphylococcus* β-lactamase	Anaeróbicos obrigatórios	*Staphylococcus* β-lactamase
• Cefalexina • Cefalotina • Cefazolina • Cefadroxila		• Cefaclor • Cefotetan • Cefoxitin • Cefuroxime		• Cefovecina • Cefpodoxime • Ceftiofur • Ceftriaxona	• Cefoperazona • Cefotaxime • Cefixime

Espectro de ação

Excelente | Boa | Regular | Ruim

Figura 2 – Classificação e espectro de ação das cefalosporinas veterinárias de acordo com a geração (Adaptado de Madison et. al, ref. 9).

Observando a **Figura 2**, podemos inferir que as cefalosporinas de 1ª geração, de forma geral, possuem espectro mais voltado para bactérias gram-positivas e *Staphylococcus* produtores de β-lactamase. Por outro lado, as cefalosporinas de 3ª geração atuam mais bem contra gram-negativas. Essa seria a tendência geral de espectro entre as categorias. No entanto, nos estudos realizados até o momento, tem-se observado que a cefovecina:

- possui eficácia similar às cefalosporinas de 1ª geração nas infecções causadas por *Staphylococcus pseudintermedius*
- não é tão ativa contra algumas bactérias gram-negativas (como *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus*) quanto outras cefalosporinas de 3ª geração de uso humano[10]
- não é mais eficaz que as cefalosporinas de 1ª geração no tratamento de infecções causadas por cepas de *Staphylococcus* resistentes à meticilina[10]

Isso faz com que a cefovecina, apesar da classificação como cefalosporina de 3ª geração, tenha um espectro semelhante às cefalosporinas de 1ª ou 2ª gerações.

Deve-se reservar a cefovecina apenas para situações em que as cefalosporinas de 1ª ou 2ª geração não funcionaram, infecções por bactérias multirresistentes ou quando o antibiograma indicar suscetibilidade?

Em vista de o espectro da cefovecina ser similar ao das cefalosporinas de 1ª e 2ª gerações, espera-se que a sua ação sobre bactérias gram-negativas seja restrita, salvo no caso das infecções urinárias causadas por *Escherichia coli*, em que se observa maior concentração do fármaco na urina após excreção renal. Por essa razão, a cefovecina deve ser utilizada como primeira escolha nas enfermidades com indicação em bula, tais como infecções de pele e dos tecidos moles, urinárias e periodontais. Uma vantagem adicional da cefovecina é que ela otimiza o efeito dependente de tempo, pois os níveis teciduais são mantidos constantes ao longo dos 14 dias de tratamento.

Por outro lado, a cefovecina não tem demonstrado ser mais eficaz no tratamento de infecções por bactérias gram-negativas que as cefalosporinas de 3ª geração de uso humano ou antimicrobianos conhecidamente reconhecidos como eficazes nessas situações, de que são exemplos os aminoglicosídeos e as fluorquinolonas. Da mesma forma, os *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à meticilina observados em casos de piodermite canina e que carreiam o gene mecA são considerados resistentes a todos os beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), razão pela qual a cefovecina também não é recomendada. Evidentemente, a realização de cultura bacteriana e antibiograma para identificar a bactéria causadora de uma infecção, bem como o seu perfil de suscetibilidade, é sempre recomendável. Todavia, tal procedimento é aplicável a qualquer tratamento antimicrobiano, e não apenas à cefovecina.

Como a resistência bacteriana pode ser determinada?

Uma vez que a resistência bacteriana é geneticamente definida, haveria, em princípio, 2 maneiras de determiná-la. A primeira seria por meio da identificação de genes que codificam resistência (genótipo), algo viável em ambiente de pesquisa, mas complicado no âmbito da clínica veterinária. A segunda envolve o fenótipo, ou seja, os testes de suscetibilidade bacteriana. Em linhas gerais, o grau de suscetibilidade de uma bactéria a um antimicrobiano correlaciona-se com a concentração inibitória mínima (CIM), que é a menor concentração de um antimicrobiano capaz de impedir o crescimento de uma bactéria *in vitro*. Os métodos de diluição seriada (macro ou microdiluição em caldo) possibilitam atribuir um valor numérico preciso à CIM, o que facilita a interpolação com os pontos de quebra de cada um dos antimicrobianos e uma melhor orientação clínica quanto à terapia. Outra opção é o Etest (Epsilometer test), em que fitas com concentrações decrescentes e definidas do antimicrobiano são aplicadas a uma placa de Petri contendo as culturas. Nesse teste, um valor numérico bastante aproximado de CIM pode ser obtido. Por fim, existe o teste de difusão em disco (Kirby-Bauer), no qual o halo de inibição do crescimento bacteriano é relacionado com faixas determinadas de CIM (**Figura 3**). Evidentemente, o teste de difusão em disco apresenta limitações, pois não permite estabelecer de forma precisa a CIM.

Figura 3 – Um exemplo de teste de difusão em disco. Quanto maior o halo de inibição ao redor do disco contendo o antimicrobiano, maior é a suscetibilidade da bactéria testada (Fonte: CDC – Center for Diseases Control, Melissa Dankel, 2014).

Um isolado bacteriano resistente de acordo com o antibiograma sempre será resistente in vivo?

Não necessariamente. Os testes de suscetibilidade bacteriana, apesar de extremamente recomendáveis, possuem algumas limitações. A principal delas é que se trata de um teste *in vitro*, que não pode prever fenômenos que ocorrem apenas no organismo dos animais. Por exemplo, o teste não avalia a função de leucócitos, do complemento e anticorpos, bem como a atividade de enzimas que inativam antimicrobianos *in vivo*. Além disso, a padronização da técnica (qualidade do meio de cultura, qualidade dos discos com antimicrobianos, inóculo bacteriano, condições de incubação e pontos de quebra dos antimicrobianos, entre muitos outros) pode interferir com os resultados enormemente. Por fim, a farmacocinética particular do antimicrobiano em um determinado animal pode determinar o maior ou menor efeito do fármaco.

A falta de congruência entre resultados *in vitro* e *in vivo* (bactéria suscetível *in vitro* e resistente *in vivo* ou vice-versa) é conhecida há tempos em medicina humana. Em 2002, foi cunhada a regra do 90-60 para pacientes humanos imunocompetentes com infecções monomicrobianas e farmacocinética dentro dos parâmetros de normalidade da população.[11] De acordo com essa regra, apenas 90% dos isolados bacterianos considerados sensíveis *in vitro* de fato o são *in vivo*. Por outro lado, 60% dos isolados resistentes *in vivo* responderão ao tratamento e 40% serão, na verdade, resistentes. Embora não se saiba em medicina veterinária em que proporção a regra do 90-60 é verdadeira, é de se imaginar que fenômenos semelhantes também ocorram. Em outras palavras, sensibilidade ao teste não significa 100% de êxito clínico; ao mesmo tempo, resistência ao teste não necessariamente indica chance nula de sucesso.

Como podemos minimizar a resistência bacteriana?

Atualmente, discutem-se várias formas de minimizar a resistência bacteriana. Prevenir a recorrência de doenças, reduzir o uso de antimicrobianos e otimizar o tratamento figuram como as medidas principais.[3]

Prevenir a recorrência de doenças é um assunto complexo. Neste ponto, identificar possíveis causas de base para uma determinada infecção bacteriana é crucial. Apenas como exemplo, tratar uma infecção bacteriana de pele ou orelha sem pensar em possíveis causas de base (como as doenças alérgicas) possivelmente resultará em sucesso terapêutico provisório, uma vez que a infecção tenderá a voltar. A **redução do uso de antimicrobianos** por via sistêmica é uma tendência. Recomendações como não tratar infecções autolimitantes ou para as quais não se identificou um componente bacteriano, confirmar as infecções por exame citológico ou cultura e fazer tratamentos tópicos sempre que possível são importantes, pois limitam a utilização dos antimicrobianos sistêmicos e exposição desnecessárias das bactérias a eles. Por outro lado, uma vez que a necessidade do antimicrobiano sistêmico seja realmente identificada, a **otimização do tratamento** é fundamental. Isso significa eliminar as bactérias o mais rapidamente possível, o que implica em maximizar o seu efeito. Os antimicrobianos podem ser divididos em dependentes de concentração e dependentes de tempo (**Figura 4**). Os antimicrobianos **dependentes de concentração**, cujos principais representantes são os aminoglicosídeos e as fluorquinolonas, exigem que as concentrações plasmáticas e/ou teciduais máximas superem a CIM em muitas vezes, cerca de 10 a 12 pelo menos, para serem efetivos contra as bactérias. Já os antimicrobianos **dependentes de tempo** (penicilinas e cefalosporinas) são bactericidas lentos, que requerem que as concentrações plasmáticas e/ou teciduais mantenham-se acima das CIM pelo maior tempo possível, em geral pelo menos 40 a 60% do intervalo entre doses.

Isso equivale a dizer que resultados melhores são obtidos quando os antimicrobianos dependentes de concentração são empregados em doses mais altas, ainda que poucas vezes ao dia (em geral, 1

vez ao dia). Por outro lado, os antimicrobianos dependentes de tempo exibem melhor resposta se os níveis plasmáticos e/ou teciduais forem constantemente superiores à CIM. A estabilidade de nível pode ser obtida com administrações a intervalos entre doses mais curtos ou então com produtos com tecnologia de formulação que permita efeito prolongado.

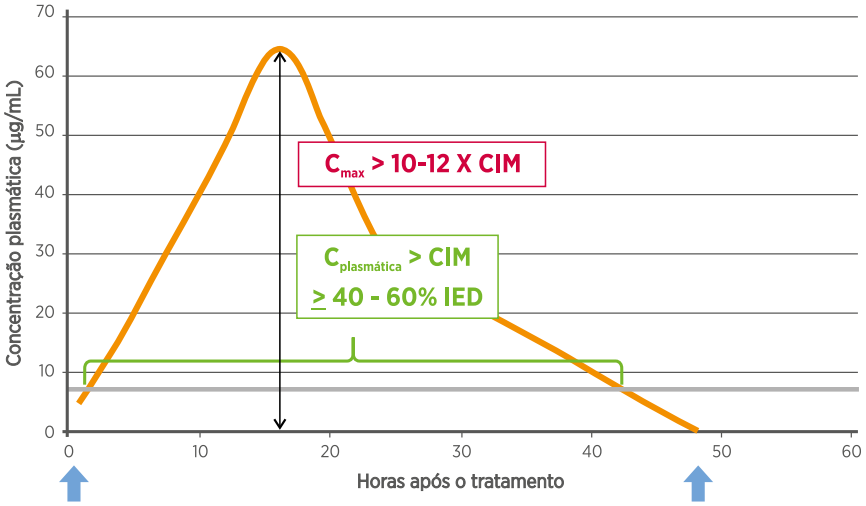

Figura 4 – Classificação dos antimicrobianos conforme o tipo de ação biológica. Neste exemplo hipotético, mostra-se a curva de biodisponibilidade de um antimicrobiano administrado a cada 48 h. Se o antimicrobiano ilustrado for dependente de concentração, a razão Cmax/CIM deverá ser superior a 10-12 para assegurar a eficácia. Se for dependente de tempo, o tempo acima da CIM (T>CIM) deverá ser de pelo menos 40 a 60% do intervalo entre doses.

Como a cefovecina maximiza o efeito dependente de tempo?

A **Figura 5** ilustra as curvas de biodisponibilidade da cefovecina e cefalexina por via subcutânea e oral, respectivamente. Na Figura também são vistas as CIM de cefovecina e cefalexina para *Staphylococcus intermedius* (atualmente *S. pseudintermedius*) e *Pasteurella multocida*. Verifica-se que as curvas de concentração plasmáticas de cefalexina ora estão acima, ora abaixo das CIM destas bactérias, resultando em tempos acima da CIM inferiores a 100% do intervalo entre doses. Por outro lado, a curva de biodisponibilidade da cefovecina mostra-se acima das CIM bacterianas durante todo o período de 14 dias de avaliação. A consequência é a elevação do tempo acima da CIM para 100% do intervalo entre doses, favorecendo a morte bacteriana. Evidentemente, o tempo acima da CIM dependerá da CIM da bactéria a ser tratada, daí a relevância da utilização do produto conforme as indicações de bula.

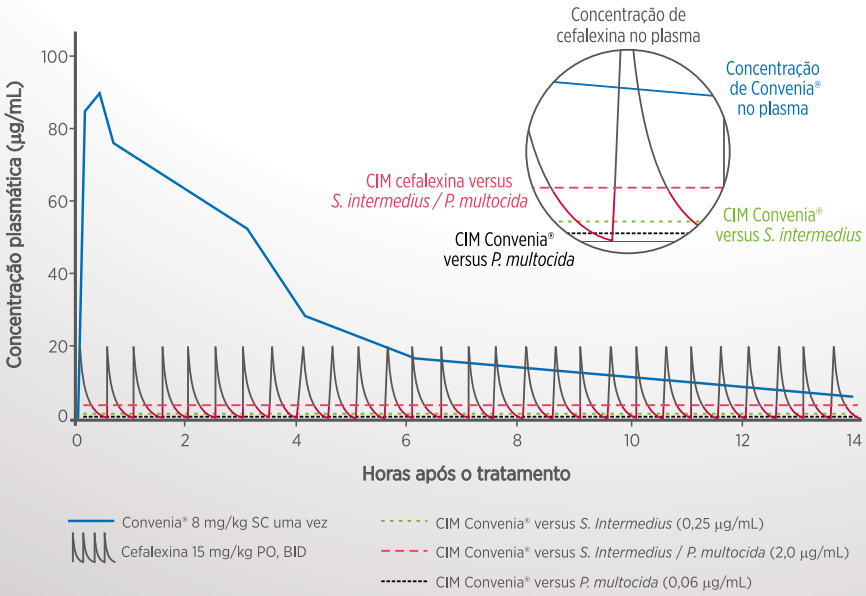

Figura 5 – Biodisponibilidade da cefovecina e cefalexina e interpolação com as concentrações inibitórias mínimas (CIM) de *Staphylococcus intermedius* (atual *S. pseudintermedius*) e *Pasteurella multocida* (dados de cefovecina extraídos de Stegemann et al, ref. 12; dados de cefalexina extraídos de Ehinger e Kletzmann, ref. 13)

Uma única aplicação para combater as infecções

Copyright Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda. Todos os direitos reservados. Material produzido em junho/2016.

Referências

1. Furuya EY, Lowy FD. Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. **Nature Reviews Microbiology**, 4:36-45, 2006.
2. Guardabassi L, Prescott JF. Antimicrobial stewardship in small animal veterinary practice: from theory to practice. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, 45:361-376, 2015.
3. Weese JS, Giguère S, Guardabassi L, Morkey OS, Papich M, Ricciuto DR, Sykes JE. ACVIM consensus statement on therapeutic antimicrobial use in animals and antimicrobial resistance. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 29:487-498, 2015.
4. Weese JS, Faires MC, Frank LA, Reynolds LM, Battisti A. Factors associated with methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* infection in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 240:1450-1455, 2012.
5. Beck KM, Waisglass SE, Dick HL, Weese JS. Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their meticillin-resistant or meticillin-sensitive staphylococcal pyoderma. **Veterinary Dermatology**, 23:369-375, e366-367, 2012.
6. Huerta B, Maldonado A, Ginel PJ, Tarradas C, Gómez-Gascón L, Astorga RJ, Luque I. Risk factors associated with the antimicrobial resistance of staphylococci in canine pyoderma. **Veterinary Microbiology**, 150:302-308, 2011.
7. Hensel N, Zabel S, Hensel P. Prior antibacteral exposure in dogs with meticillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. **Veterinary Dermatology**, 27:72-e20, 2016.
8. Papich MG, Riviere JE. β-lactam antibiotics: penicillins, cephalosporins, and related drugs. In: Papich MG. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. Iowa, Wiley-Blackwell, 9th ed., p. 865-894, 2009.
9. Maddison JE, Watson AD, Elliott J. Antibacterial drugs. In: Maddison JE, Page SW, Church DB. In: **Small Animal Clinical Pharmacology**. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2ª ed., 2008.
10. Papich MG. Antibiotic treatment of resistant infections in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 43:1091-1107, 2013.
11. Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age?. **Clinical Infectious Diseases**, 35(8):982-989, 2002.
12. Stegemann MR, Sherington J, Blanchflower S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefovecin in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, 29:501-511, 2006.
13. Ehinger AM, Kletzmann M. Pharmacokinetics of cephalexin from two oral formulations in dogs. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr**, 115 (1-2): 57-61, 2002

zoetis