



DEPARTAMENTO DE
MICROBiologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Antimicrobianos e Métodos de Susceptibilidade

Dra. Viviane Nakano
Centro Diagnóstico Molecular - SZD
Laboratório de Anaeróbios – ICB II
E-mail: vivinkn@usp.br

* Introdução

Por que é tão importante aprender sobre os antimicrobianos?

Essenciais para uma escolha terapêutica adequada.

Quais são os problemas relacionados à qualidade do uso clínico dos antimicrobianos?

+50% prescrições - feitas de forma inadequada;
Uso excessivo ou má conduta do paciente – elevação da resistência microbiana, dos custos e da mortalidade

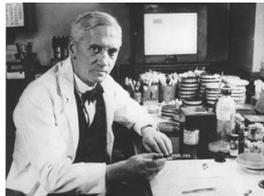
* Histórico

- 1495 – uso de mercúrio para tratamento da sífilis
- 1905 – Paul Ehrlich (Alemanha) “bala mágica” – quimioterapia
- 1928 – Alexander Fleming – substância com ação inibitória contra *Staphylococcus aureus*, produzida pelo fungo:

Penicillium notatum



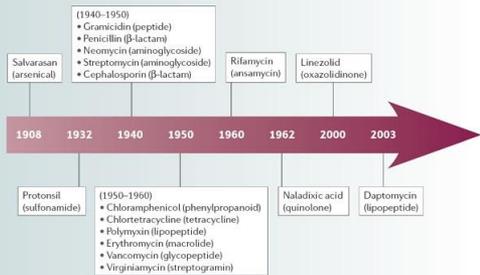
Penicilina



Alexander Fleming (1881-1955)

* Histórico

Timeline | Antibiotic drug discovery



Weight, (2007).

* Conceitos

ANTIMICROBIANOS

Produzidas por microrganismos ou sintetizado em laboratório, capazes de matar ou inibir microrganismos.

ANTIBIÓTICOS

QUIMIOTERÁPICOS



* Conceitos



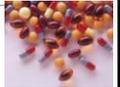
- **TOXICIDADE SELETIVA** – Capacidade de lesar o microrganismo, sem ser tóxica para o hospedeiro.
- **SINERGISMO** – Quando a combinação de duas drogas aumenta a atividade de ambas.
- **ANTAGONISMO** – Quando um antimicrobiano diminui a ação de outro.

* Conceitos



• **PONTO CRÍTICO OU BREAKPOINT** – É a concentração de uma droga que alcança no soro, urina ou líquido cefaloraquidiano, após a administração do agente, com fins terapêuticos.

* Origem de alguns dos principais antibióticos



Bastonetes gram-positivos	Antibióticos
<i>Bacillus subtilis</i>	Bacitracina
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Polimixina
Actinomicetos	Antibióticos
<i>Streptomyces nodosus</i>	Anfotericina B
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Cloranfenicol
<i>Streptomyces griseus</i>	Estreptomicina
Fungos	Antibióticos
<i>Cephalosporium</i> spp.	Cefalosporina
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Griseofulvina

* Classificação dos antimicrobianos

1. Baseada na origem

Naturais
Penicilina G

Semi-Sintéticos
Aminopenicilinas
(amoxicilina e ampicilina)



Sintéticos
Sulfas

* Classificação dos antimicrobianos

2. Atividade no microrganismo

Bacteriostático
Ação reversível



Bactericida
Ação irreversível

* Classificação dos antimicrobianos

3. Quanto ao espectro de ação



• Ampla espectro de ação - ativo contra gram-positivas e gram-negativas, micoplasma, clamídias.

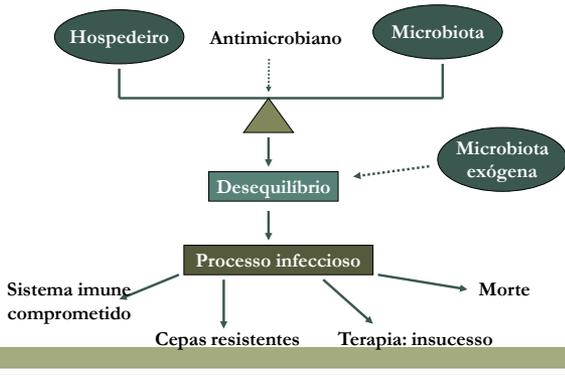
• Pequeno espectro de ação – ativo contra gram-positivas ou gram-negativas.

Propriedades ideais dos antibióticos

1. Toxicidade seletiva;
2. Ampla espectro de ação;
3. Não agir contra microbiota residente;
4. Solubilidade em líquidos corporais;
5. Alcançar altas concentrações nos tecidos e sangue;
6. Não ser afetado pela acidez estomacal ou proteínas do sangue;
7. Não produzir efeitos colaterais;
8. Disponibilidade e baixo custo.



Relação Microbiota-Hospedeiro-Antibiótico

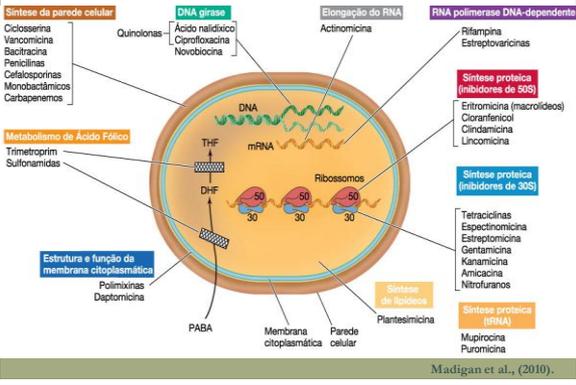


Mecanismos de ação dos antimicrobianos

- * Inibição da síntese de parede celular;
- * Inibição da síntese de proteínas;
- * Alteração da membrana citoplasmática;
- * Inibidores da síntese dos ácidos nucleicos (DNA/RNA);
- * Alteração do metabolismo do ácido fólico (PABA).



Mecanismos de ação dos antimicrobianos

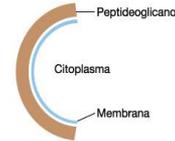


Inibidores da Síntese de Parede Celular

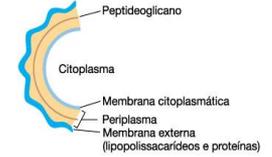
Mecanismo de ação

- Ligam-se as proteínas de ligação de penicilina (PBPs) e enzimas responsáveis pela síntese de peptidoglicano.

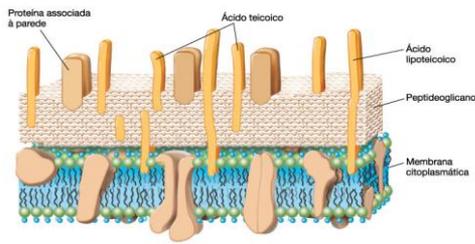
Gram-positivos



Gram-negativos



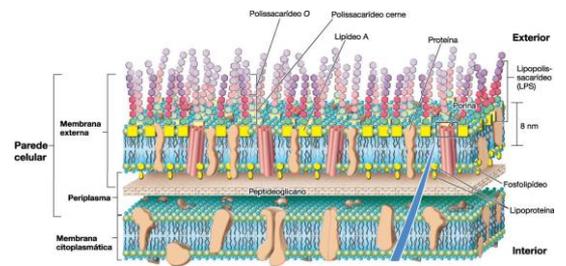
Inibidores da Síntese de Parede Celular



Parede Celular de gram-positivos

Madigan et al., (2010).

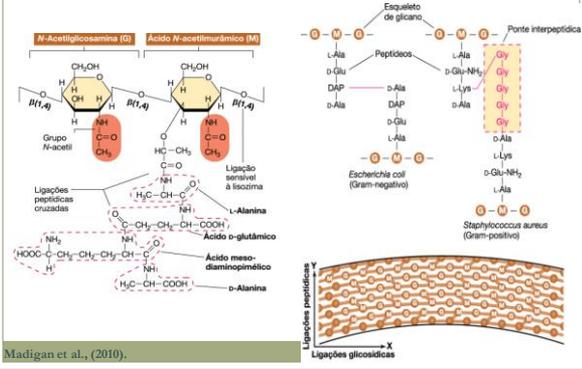
Inibidores da Síntese de Parede Celular



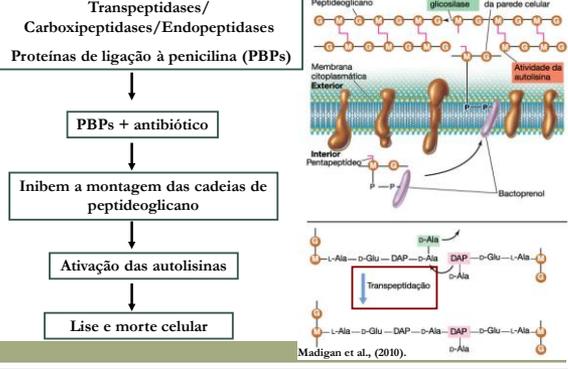
Parede Celular de gram-negativos

Madigan et al., (2010).

Composição do peptidoglicano



Inibidores da Síntese de Parede Celular



Inibidores da Síntese de Parede Celular

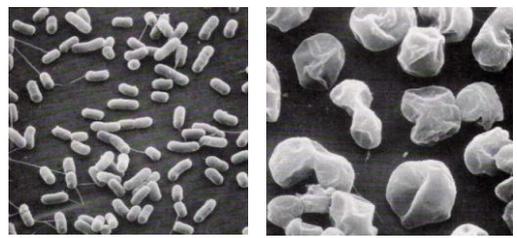
Lise celular causada por penicilina



Tortora et al., (2012).

Inibidores da Síntese de Parede Celular

Efeito da penicilina em *Enterobacter* spp.

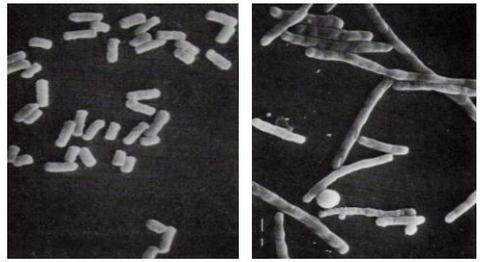


Morfologia normal

Morfologia em cultivo contendo penicilina

Inibidores da Síntese de Parede Celular

Efeito da cefalosporina em *Escherichia coli*



Morfologia normal

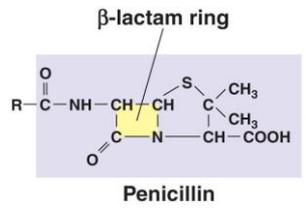
Morfologia em cultivo contendo cefalosporina

Inibidores da Síntese de Parede Celular

Principais Antimicrobianos:

Beta-lactâmicos

- ❖ Penicilinas
- ❖ Cefalosporinas
- ❖ Carbapenêmicos
- ❖ Monobactâmicos
- ❖ Cefamicinas
- ❖ Inibidores de beta-lactamases



Tortora et al., (2012).

Inibidores da Síntese de Parede Celular

Principais Antimicrobianos:

Beta-lactâmicos

- ❖ Penicilinas
- ❖ Cefalosporinas
- ❖ Carbapenêmicos
- ❖ Monobactâmicos
- ❖ Cefamicinas
- ❖ Inibidores de beta-lactamases

Glicopeptídeos

- ❖ Vancomicina
- ❖ Teicoplanina
- Outros
- ❖ Fosfomicina
- ❖ Bacitracina
- ❖ Cicloserina

Inibidores da Síntese de Parede Celular

Penicilinas (Beta-lactâmico)

→ Penicilinas Naturais

Penicilina G, Penicilina V.



→ Penicilinas Semi-Sintéticas

Oxacilina, Ampicilina, Amoxicilina, Piperacilina.

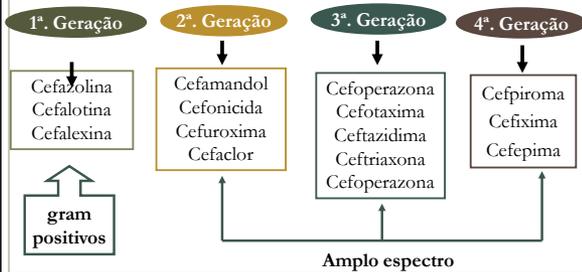
→ Outras Penicilinas

Meticilina, Pirazocilina, Propicilina, Azidocilina, Cloxacilina

Ampla espectro e para bacilos gram negativos

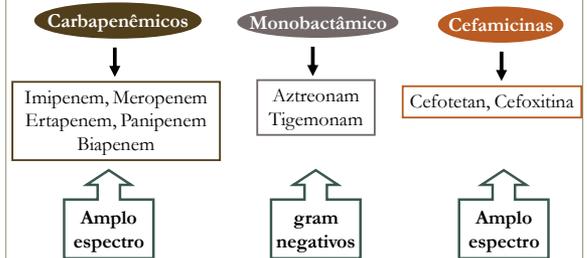
Inibidores da Síntese de Parede Celular

Cefalosporinas (Beta-lactâmico)



Inibidores da Síntese de Parede Celular

Beta-lactâmicos



Inibidores da Síntese de Parede Celular

Inibidores de Beta-lactamases

Inibidores beta-lactamase

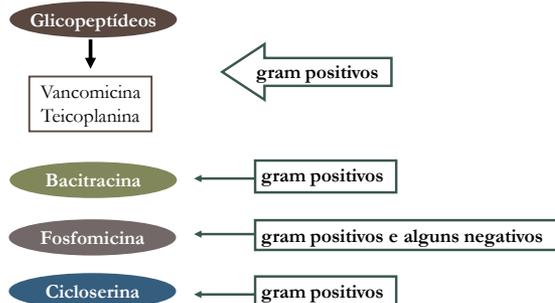
Ampicilina+Sulbactam
Piperacilina+Tazobactam
Ticarcilina+Ác. clavulânico
Amoxicilina + Ác. clavulânico



• São destruídos pela enzima deixando a outra droga íntegra para exercer a ação antimicrobiana;

• Atividade limitada contra alguns gram positivos e gram negativos.

Inibidores da Síntese de Parede Celular



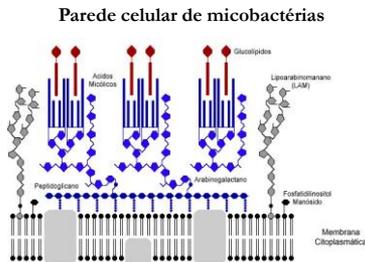
Inibidores da Síntese de Parede Celular

Isoniazida (Piridina)

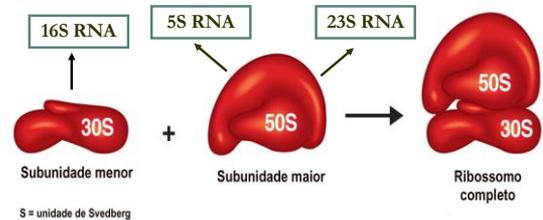
Mecanismo de ação:
Inibidora da síntese de lipídios do ácido micólico.

Etambutol (Butanol)

Mecanismo de ação:
Inibição da síntese de arabinogalactana.



Composição do Ribossomo Bacteriano



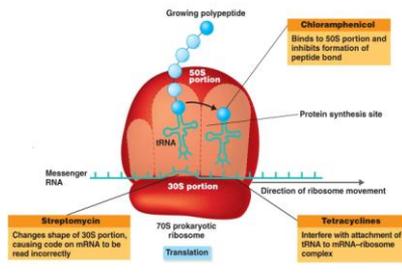
Função: Síntese de Proteínas

Tortora et al., (2012).

Inibição da Síntese de Proteínas

Mecanismo de ação

- Alvos são as subunidades 50S e 30S do ribossomo



Tortora et al., (2012).

Inibição da Síntese de Proteínas

Inibidores da subunidade 50S

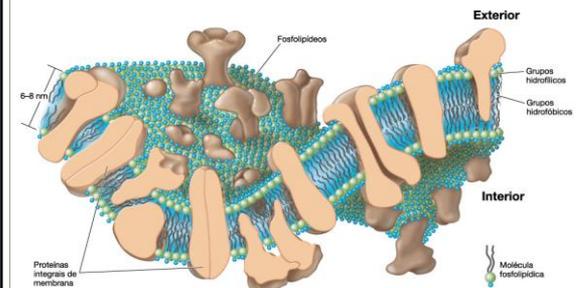
- ✓ **Macrolídeos** Indicação: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.
Eritromicina, Claritromicina, Roxitromicina, Diritromicina, Azitromicina, Telitromicina.
- ✓ **Cloranfenicol** Indicação: *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp.
Cloranfenicol, Tianfenicol.
- ✓ **Lincosamidas** Indicação: *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp.
Lincomicina, Clindamicina.
- ✓ **Oxazolidinonas** Indicação: cocos gram-positivos.
Linezolida.

Inibição da Síntese de Proteínas

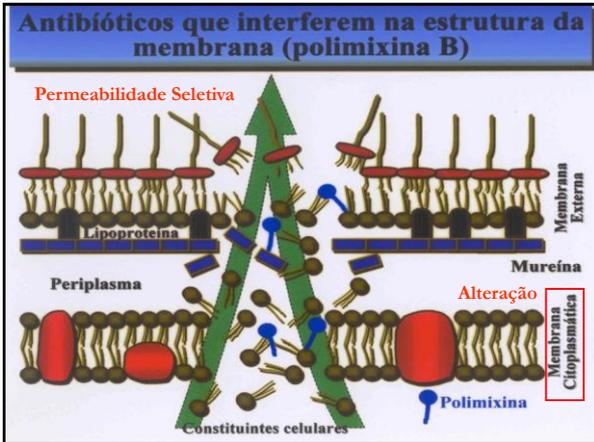
Inibidores da subunidade 30S

- ◆ **Aminoglicosídeos** Indicação: *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*
Estreptomina, Gentamicina, Amicacina, Neomicina, Canamicina.
- ◆ **Tetraciclina** Indicação: *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp.
Tetraciclina, Minociclina, Doxiciclina, Clorotetraciclina, Oxitetraciclina.
- ◆ **Nitrofurano** Indicação: *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp.
Nitrofurazona, Furazolidona, Nitrofurantóina, Nifurtimox.
- ◆ **Glicilciclina** Indicação: *Enterobacteriaceae*, anaeróbios
Tigeciclina

Membrana citoplasmática



Madigan et al., (2010).



Inibidores da Síntese de DNA/RNA

Mecanismo de ação

- Interferem na replicação do DNA (DNA girase e DNA polimerase) e na transcrição (RNA polimerase - síntese de RNA).

5' TTT GTT AAT CAG CAT CTT 3'
3' AAA CAA TTA GTC GTA GAA 5'

5' TTT GTT AAT CAG CAT CTT 3'
3' AAA CAA TTA GTC GTA GAA 5'

↑ REPLICAÇÃO

5' TTT GTT AAT CAG CAT CTT 3'
3' AAA CAA TTA GTC GTA GAA 5'

↓ TRANSCRIÇÃO DA FITA INFERIOR

5' UUU GUU AAU CAG CAU CUU 3'

↓ TRADUÇÃO

Proteína H₂N- Phe - Val - Asn - Gln - His - Leu - COOH

Madigan et al., (2010).

Inibidores da Síntese de DNA/RNA

Principais Antimicrobianos:

- ☼ Rifamicina
- ☼ Nitroimidazol
- ☼ Quinolonas

Inibidores da Síntese de DNA/RNA

→ **Rifamicina** (Inibe a síntese de RNA)

Rifamicina, Rifampicina

cocos gram positivos
micobactérias

→ **Nitroimidazol** (Anaerobiose - Hidroxialamina - dano ao DNA)

Metronidazol, Tinidazol

anaeróbios

Inibidores da Síntese de DNA/RNA

Quinolonas (Atuam na replicação do DNA)

1ª. Geração	2ª. Geração	3ª. Geração
Ácido nalidíxico Ácido pipemídico Rosoxacino	Norfloxacina Ciprofloxacina Ofloxacina Difloxacina Pefloxacina Levofloxacina	Moxifloxacina Gatifloxacina Gemifloxacina Cinafloxacina Trovafloracina
gram negativos	Fluoroquinolonas	

Alteração do Metabolismo do Ácido Fólico

Mecanismo de ação

- Inibidor competitivo que atua na síntese de metabólitos essenciais (ácido fólico).

Principal Antimicrobiano:

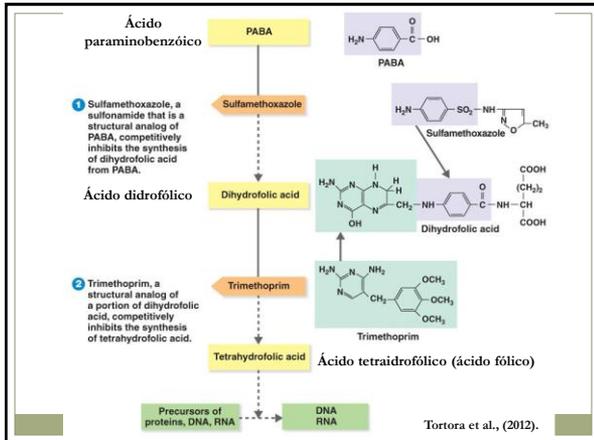
- Sulfonamidas (Sulfadiazina)

Sulfametoxazol *+ Trimetoprim (cotrimoxazol)

Ampla espectro

* Mais utilizado

Tortora et al., (2012).



*Na prática clínica o uso de antimicrobianos

Finalidades

- Profilática
- Terapêutica



Mas como são obtidos esses parâmetros?

Através dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Quais as indicações para o teste de susceptibilidade?

- ↳ Infecções específicas (endocardites, osteomielites, infecções que não respondem ao tratamento empírico, infecções do sistema nervoso central);
- ↳ Avaliação de novas drogas;
- ↳ Determinar o padrão de susceptibilidade de determinada área geográfica.

Teste de Susceptibilidade Preconizado pelo CLSI

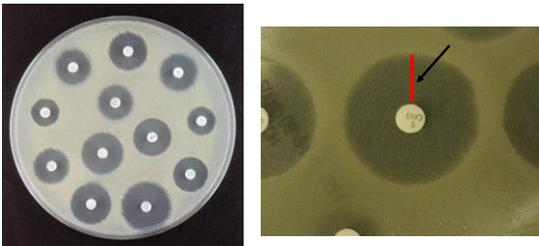
(Clinical and Laboratory Standards Institute)

↳ Avaliação qualitativa:

Classifica a bactéria em S (sensível), I (intermediário) ou R (resistente).

- * Disco Difusão em ágar (método Kirby-Bauer);
- * Eluição do disco em caldo.

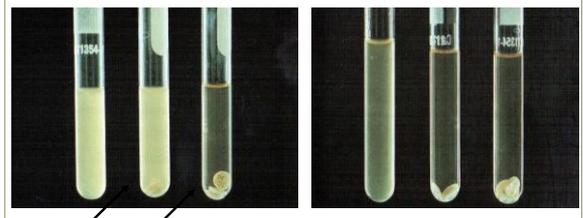
Método de Difusão em ágar



Técnica disco-difusão (Kirby-Bauer)

Halo de inibição em mm: S, I ou R

Método de Eluição do disco em Caldo



Técnica de eluição do disco em caldo

Teste de Susceptibilidade Preconizado pelo CLSI

(Clinical and Laboratory Standards Institute)

↳ Avaliação quantitativa:

* Diluição em caldo:

Macrodiluição;

Microdiluição;

* Etest® (método Epsilométrico)

• Concentração inibitória mínima (CIM): menor concentração da droga que inibe o crescimento microbiano.

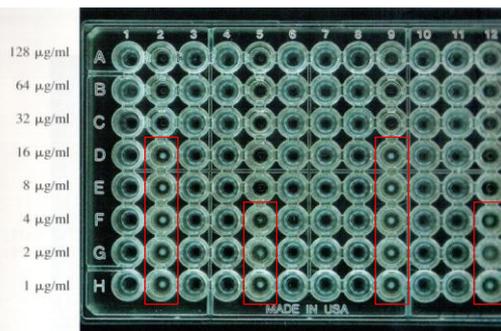
• Concentração bactericida mínima (CBM): menor concentração da droga que mata pelo menos 99,9% do inóculo microbiano.

Macrodiluição em caldo

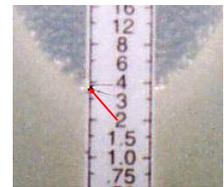


Caldo MH (Mueller-Hinton)

Microdiluição



Método Epsilométrico (E-test)



Determinação do CIM

Teste de Susceptibilidade Preconizado pela CLSI

(Clinical and Laboratory Standards Institute)

↳ Avaliação Semi-quantitativa:

* Vitek (bioMérieux™)

* Microscan WalkAway (Dade Behring™)

* BD Phoenix System (BD)

Estimação da CIM – Sistemas automatizados.

Sistemas Miniaturizados

Identificação e Susceptibilidade



Vitek - bioMérieux



Sistemas Miniaturizados

Identificação e Susceptibilidade



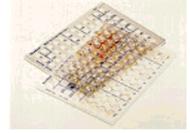
BD Phoenix System - BD

Sistemas Miniaturizados

Identificação e Susceptibilidade



WalkAway- Dade Behring™



Testes de Susceptibilidade de Bactérias Anaeróbias Estritas

Preconizado pela CLSI

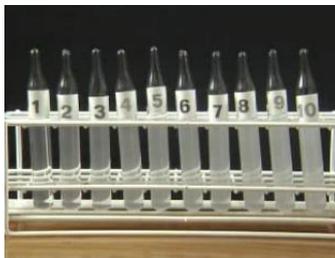
(Clinical and Laboratory Standards Institute)

1. Método de diluição em caldo: macrodiluição e microdiluição;
2. Método de diluição em ágar;
3. SGE (Spiral Gradient Endpoint).

Inóculo Bacteriano



0,5 McFarland
($1,5 \times 10^8$ cél./mL)



Escala McFarland

Inóculo Bacteriano



0,5 McFarland
($1,5 \times 10^8$ cél./mL)

Incubação



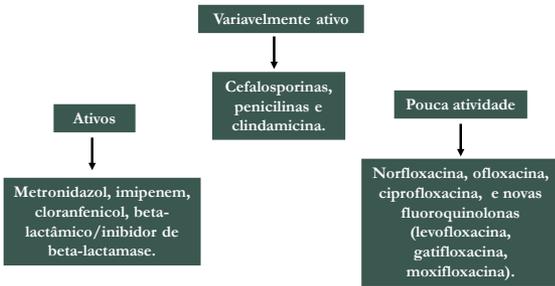
35-37°C por
46-48 horas.

Meios de cultura
utilizados



- Em Caldo: BHI (Brain Heart Infusion);
- Em ágar: Ágar Wilkins & Chalgren, Ágar Sangue, Ágar Brucella.

Agentes a serem testados



Para todos os métodos

- ↳ Preparação da solução estoque (droga) (10 mg/mL);
- ↳ Diluição da droga (0,25 a 512 µg/mL);
- ↳ Controles de viabilidade: Inicial, Final e Aerobiose;
- ↳ Controle do teste: cepas padrão (ATCC).

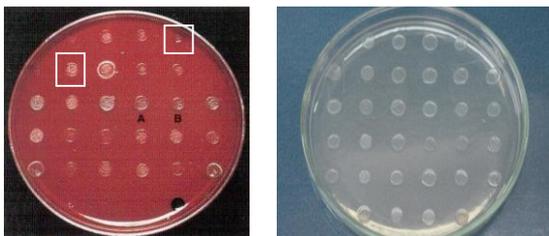
Diluição em ágar

1. Preparação das placas com as concentrações da droga;
2. Secagem das placas;
3. Preparação do inóculo (0,5 McFarland);
4. Aplicação do inóculo no replicador de Steers;
5. Carimbar nas placas;
6. Esperar secar. Incubação em anaerobiose.

Diluição em ágar



Diluição em ágar



Ágar Brucella

Ágar Wilkins & Chalgren

Diluição em ágar

Vantagens

- Várias cepas podem ser testadas ao mesmo tempo;
- Viável para todos os anaeróbios, mesmo os mais exigentes.

Desvantagens

- Não é conveniente para apenas um isolado;
- CBM não pode ser determinado;
- Teste dispendioso e incômodo.

Macrodiluição em caldo

1. Preparação dos tubos com as concentrações da droga;
2. Preparação do inóculo (0,5 McFarland);
3. Aplicação do inóculo nos tubos;
4. Incubação em anaerobiose.

Macrodiluição em caldo



Caldo BHI (Brain Heart Infusion)

Macrodiluição em caldo

Vantagens

- Custo mais efetivo;
- Fácil de ser executado;
- São úteis para isolados único.
- Pode ser determinada a CBM.
- Utilizado para microrganismos como *Clostridium* spp. (swarming).

Desvantagens

- Dificuldade na determinação da CIM em microrganismo que não apresentam turbidez após crescimento (*Dialister*).
- Não é viável para muitos isolados.

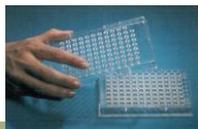
Microdiluição

1. Preparação da placa com as concentrações da droga;
2. Preparação do inóculo (0,5 McFarland);
3. Aplicação do inóculo com carimbador;
4. Incubação em anaerobiose.

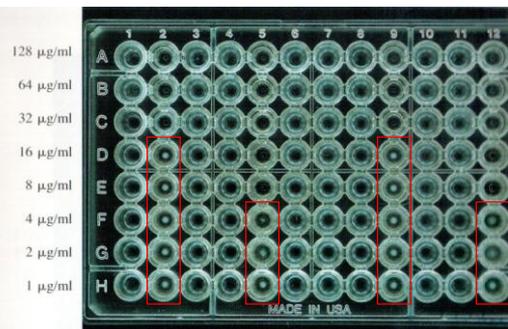
Microdiluição



Caldo BHI (Brain Heart Infusion)



Microdiluição



Microdiluição

Vantagens

→ Placas podem ser preparadas antecipadamente e congeladas ou serem compradas prontas;
→ Viável para um único isolado ou vários.

Desvantagens

→ Não é favorável para crescimento de muitos anaeróbios (*Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*);
→ Dificuldade na determinação da CIM.

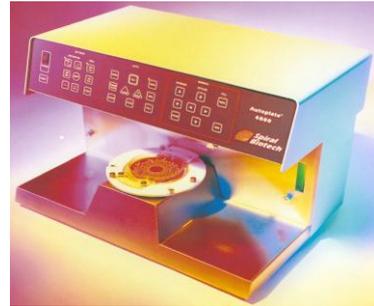
SGE (Spiral Gradient Endpoint)



SGE (Spiral Gradient Endpoint)

1. Preparação das placas com as concentrações da droga;

SGE (Spiral Gradient Endpoint)



SGE (Spiral Gradient Endpoint)



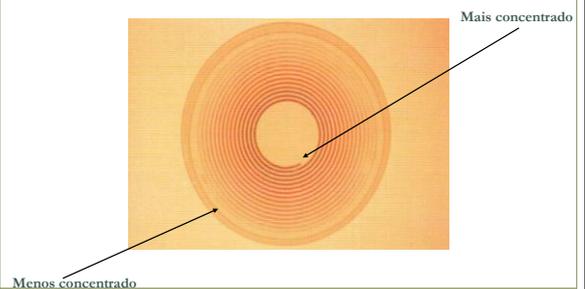
Aplicação de droga



Lavagem do dispositivo

SGE (Spiral Gradient Endpoint)

Aplicação da droga em espiral

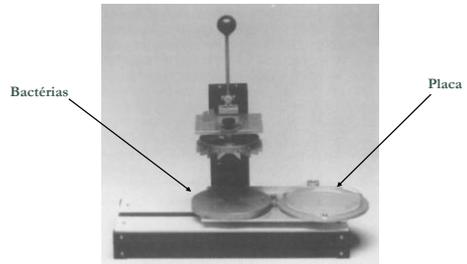


SGE (Spiral Gradient Endpoint)

1. Preparação das placas com as concentrações da droga;
2. Secagem das placas;
3. Preparação do inóculo (0,5 McFarland);
4. Aplicação do inóculo no replicador radial;
5. Carimbar nas placas;
6. Esperar secar. Incubação em anaerobiose.

SGE (Spiral Gradient Endpoint)

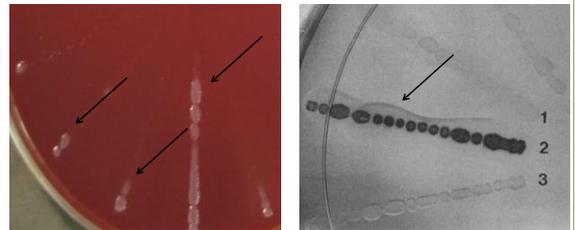
Replicador radial: 15 cepas



Como interpretar os resultados do SGE?

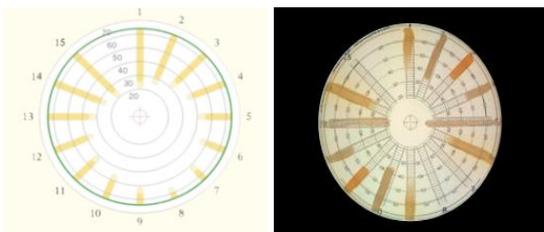
SGE (Spiral Gradient Endpoint)

Crescimento bacteriano



SGE (Spiral Gradient Endpoint)

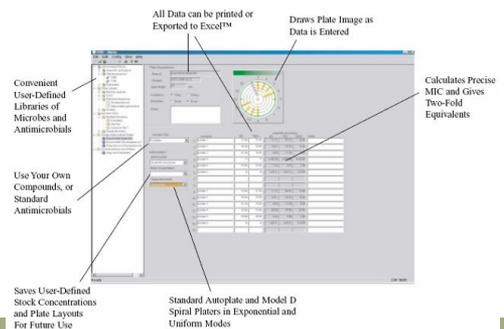
Diagrama para cálculo da CIM



Distância em mm

SGE (Spiral Gradient Endpoint)

Intuitive Windows™ Interface



SGE (Spiral Gradient Endpoint)

Vantagens

- Crescimento de microrganismos exigentes;
- Sistema rápido e prático;
- Diminuição no número de placas.

Desvantagens

- Equipamento requerido tem custo elevado.

Qual método utilizar?

- ✓ Variação dos testes permitir confusão no padrão de resistência;
- ✓ A CIM de algumas drogas para anaeróbios são método dependentes;
- ✓ As técnicas de macro e microdiluição apresentam a CIM uma concentração menor do que a diluição em agar.

REVIEWS OF INFECTIOUS DISEASES • VOL. 12, SUPPLEMENT 2 • JANUARY-FEBRUARY 1990
© 1990 by The University of Chicago. All rights reserved. 0950-0888/90/1201-0062\$02.00

SUSCEPTIBILITY TESTING OF ANTIMICROBIAL AGENTS

Development and Evaluation of the Spiral Gradient Endpoint Method for Susceptibility Testing of Anaerobic Gram-Negative Bacilli

Gale B. Hill and Samuel Schalkowsky

From the Departments of Obstetrics and Gynecology and of Microbiology and Immunology and the Anaerobe Section, Clinical Microbiology Laboratory, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina; and Spiral Systems Instruments, Bethesda, Maryland

200 cepas testadas e comparadas SGE e SAD (Standard Agar Dilution)

8 drogas testadas (clindamicina, metronidazol, imipenem, ceftioxina, ampicilina, ampicilina/sulbactam, mezlocilina, penicilina)

SGE apresentou CIM menor em comparação com SAD.

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 1996, p. 170-174
0095-1137/96/340100-05
Copyright © 1996, American Society for Microbiology

Vol. 34, No. 1

Comparison of Spiral Gradient Endpoint and Agar Dilution Methods for Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria: a Multilaboratory Collaborative Evaluation

HANNAH M. WEXLER,^{1,2*} ERIC MOLITORIS,² PATRICK R. MURRAY,¹ JOHN WASHINGTON,⁴ RONALD J. ZABRANSKY,³ PAUL H. EDELSTEIN,⁵ and SYDNEY M. FINEGOLD^{1,2,3*}
Medical¹ and Research³ Services, Veterans Affairs Medical Center West Los Angeles, and Departments of Medicine² and Microbiology and Immunology,⁴ School of Medicine, University of California, Los Angeles, Los Angeles, California; Department of Pathology, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri³; Department of Clinical Pathology, The Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, Ohio²; Department of Clinical Microbiology and Immunology, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas²; and Department of Pathology and Laboratory Medicine and Department of Medicine, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania⁴

2 cepas ATCC testadas e comparadas SGE e SAD (Standard Agar Dilution) em 5 laboratórios diferentes;

Resultados discrepantes, mas devido a técnica.

Controle de Qualidade dos Testes de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

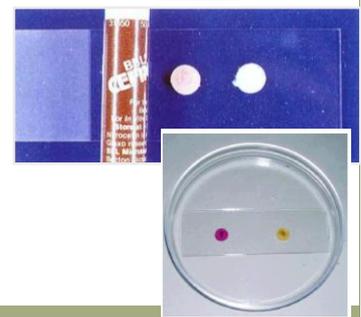
- ✓ Validade das drogas e preparação das soluções estoques;
- ✓ Filtração das drogas e evitar a inativação pela luz;
- ✓ Escolha do meio de cultura (suplementos, pH, espessura);
- ✓ Tamanho do inóculo (10^4 - 10^6 céls./mL);
- ✓ Pureza do inóculo (gram, teste respiratório);
- ✓ Viabilidade do organismo-teste (início e fim);
- ✓ Controle de esterilidade de aerobiose do teste;
- ✓ Cepas de referência (ATCC, NCTC).

Teste de Beta-lactamase

Nitrocefin

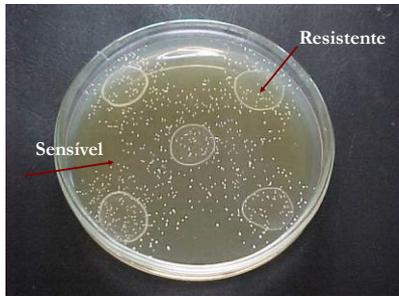


Cefinase

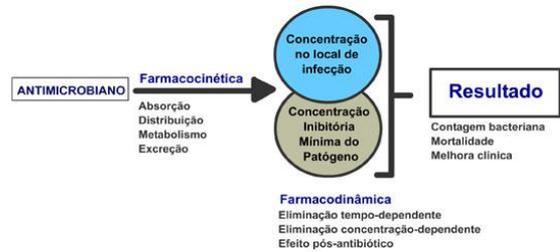


Teste de Beta-lactamase

Método Biológico



*Fatores relacionados a ação dos antimicrobianos

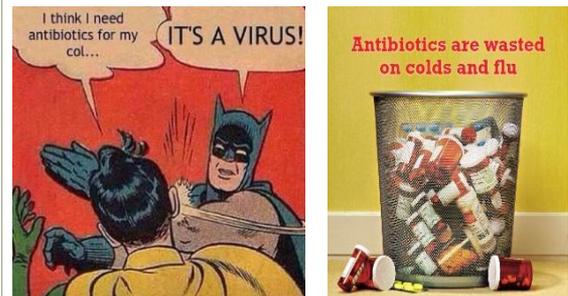


ANVISA

* Fatores que influenciam na escolha do antimicrobiano

- Características do paciente – idade, gravidez/lactação, função renal e hepática, sensibilidade do paciente;
- Agente etiológico – análise do antibiograma e mecanismos de resistências;
- Propriedades dos antimicrobianos – mecanismo de ação, toxicidade, sinergismo ou antagonismo, interação medicamentosa.

*Fatores que influenciam na escolha do antimicrobiano



ANTIBIÓTICOS

Não transforme um aliado de sua saúde em inimigo

Help Your Antibiotics Do Their Job

- Take as directed
- Finish the full prescription even if you are feeling better
- Help prevent antibiotic resistance

Por que?



Tipos de resistência



Natural ou intrínseca

Decorrente de características inerentes à célula bacteriana e que já existe antes da exposição a um determinado antimicrobiano.

Exemplos:

Anaeróbios – aminoglicosídeos; Aeróbios – metronidazol;
gram positivos – polimixina; gram negativos – antimicrobianos hidrofóbicos (rifampicina e ácido fusídico).

Tipos de resistência



Resistência adquirida

Surge quando cepas resistentes emergem de populações bacterianas originalmente sensíveis em geral, após exposição.

Resulta de uma alteração genética que se expressa bioquimicamente em resposta a ação dos antimicrobianos.

Tipos de resistência

Resistência adquirida

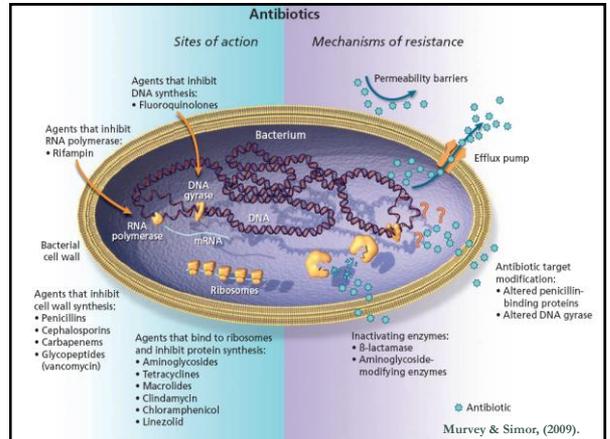


Cromossômica

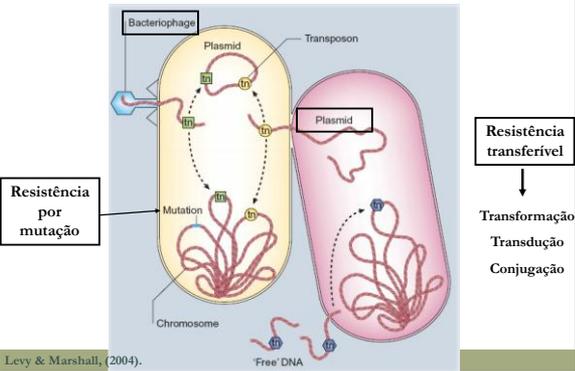
Aquisição de genes
Mutações
Modifica a permeabilidade da membrana

Plasmidial

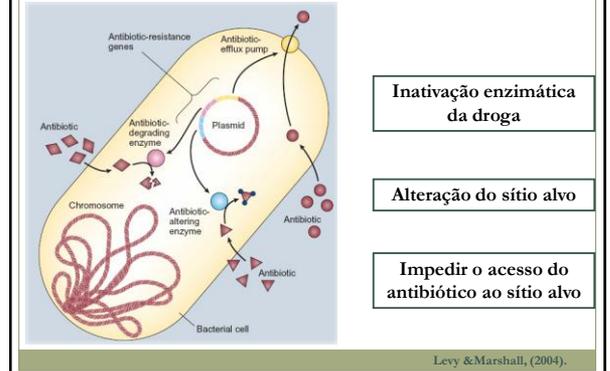
Plasmídios de resistência (Plasmídio R)
Produção de enzimas (beta-lactamases, fosfotransferase)



Mecanismos de aquisição da resistência



Mecanismos de resistência



Mecanismos de resistência

Inativação enzimática da droga

- ✓ Produção de beta-lactamases (penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos);
- ✓ Genes (cromossomo, plasmidial e transposons);
- ✓ ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase); *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter*.



Mecanismos de resistência

Inativação enzimática da droga

- ✓ Beta-lactamases de amplo espectro (carbapenemases) principalmente em *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (KPC);
- ✓ (KPC) são encontrados em plasmídios que carregam genes de outras classes de antimicrobianos;
- ✓ As carbapenemases inativam todos os beta-lactâmicos;
- ✓ Encontrado em outros membros *Enterobacteriaceae* principalmente *E. coli*.

Mecanismos de resistência

Alteração do sítio alvo

- ✓ Alteração das PBP (proteínas ligadoras de penicilina);
- ✓ Alteração da DNA girase e topoisomerase.



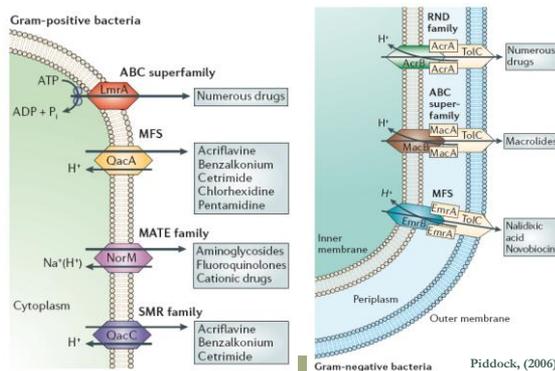
Mecanismos de resistência

Impedir o acesso do antibiótico ao sítio alvo

- ✓ Mutações que causam alteração na permeabilidade da membrana;
- ✓ Efluxo da droga pelo sistema de bombas (principalmente MDR).



Bombas de Efluxo

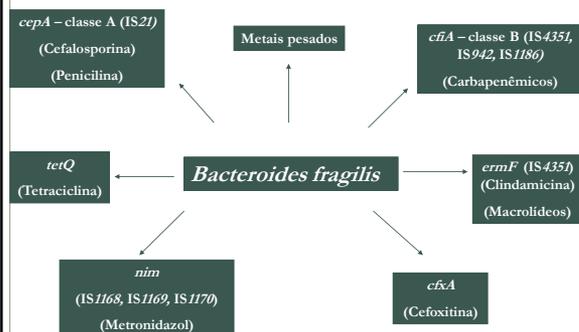


Resistência aos antimicrobianos em anaeróbios

Resistência aos antimicrobianos em anaeróbios

- Resistência aumentando = área geográfica, conduta terapêutica e auto-medicação
- Resistência intrínseca e adquirida (plasmídios e transposons)
- Produção de enzimas beta-lactamases- estrutura primária (classe A a D); características funcionais e bioquímicas (grupo I a IV).

Genes relacionados com resistência aos antibióticos



Transferência horizontal de genes com dois tipos de elementos conjugativos

Plasmídeos

ermF

Transposons

tetQ
*ermF**
*ermB***
*ermG***

*genes *ermF* inicialmente descritos em gram-positivos e foram transferidos para gram-negativos.

**genes *ermB* e *ermG* parecem ser transferidos só entre *Bacteroides* spp.

Salyers et al. (2004)

Transferência de genes entre organismos gram positivos e negativos no cólon e outros ambientes intestinais

gram-positivos

Genes

gram-negativos

Staphylococcus spp.
Enterococcus spp.
Streptococcus spp.
Actinomyces spp.
Bifidobacterium spp.
Clostridium spp.

tetM

Campylobacter spp.
Haemophilus spp.
Veillonella spp.
Neisseria spp.
Fusobacterium nucleatum

Eubacterium spp.

tetQ
ermF

Bacteroides spp.
Prevotella spp.
Porphyromonas spp.

Salyers et al. (2004)

Survey of Antimicrobial Susceptibility Patterns of the Bacteria of the *Bacteroides fragilis* Group Isolated from the Intestinal Tract of Children

Viviane Nakano⁺, Mario Julio Avila-Campos⁺

24 crianças sem diarreia – 50 cepas *Bacteroides*/*Parabacteroides* spp.

15 crianças com diarreia – 64 cepas *Bacteroides*/*Parabacteroides* spp.

Teste de susceptibilidade:

11 antibióticos

6 metais pesados

Porcentagens de resistência para antimicrobianos de 114 espécies dos gêneros *Bacteroides* e *Parabacteroides*

Bactérias-Origem (n) Faixa de Resistência (%)

Antibióticos: Amx, Amp, Cfx, Cli, Er, PenG, Tet

Pacientes (64) 13,7 – 100

Sadios (50) 22 – 100

Íons Metálicos: Hg, Ag, Cu, Cd, Pb, Ni

Pacientes (64) 57 – 100

Sadios (50) 80 – 100

Nakano et al. (2004)

Available online at www.sciencedirect.com
 ELSEVIER
 Research in Microbiology 155 (2004) 843–846
 www.elsevier.com/locate/resmic

Plasmid-related β-lactamase production in *Bacteroides fragilis* strains

Viviane Nakano, Gabriel Padilla, Marilis do Valle Marques, Mario Julio Avila-Campos*

Cura: Resistência ↓ para Penicilina G, Ampicilina, Clindamicina e Amoxicilina/Ácido clavulânico

Anaerobe 10 (2004) 171–177
 ELSEVIER
 www.elsevier.com/locate/anaerobe

Pathogenesis

Cytotoxicity and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from hospitalized children with acute diarrhea

Claudia Elisa Alves Ferreira, Viviane Nakano, Mario Julio Avila-Campos*

Laboratório de Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo SP 05508-900, Brazil
 Received 5 August 2003; accepted 9 February 2004

90 crianças sem diarreia – 35 cepas *Clostridium* spp.
 91 crianças com diarreia – 56 cepas *Clostridium* spp.

Teste de susceptibilidade:
 10 antibióticos

Table 4
 MIC values and percentage of resistance of *Clostridium* spp. isolated from children with and without diarrhea

Antibiotics	MIC (µg/mL)			Resistance %
	Range	50%	90%	
Children with diarrhea				
Amoxicillin	≤0.25–256	256	256	87.5
Ampicillin	1–256	256	256	92.8
Aztreonam	1–256	256	256	91.1
Cephalexin	16–256	256	256	100
Cefoxitin	4–256	256	256	98.2
Chloramphenicol	64–256	256	256	100
Clindamycin	≤0.25–256	256	256	66
Imipenem	≤0.25–256	8	16–25	
Metronidazole	≤0.25–256	128	256	67.9
Penicillin G	≤0.25–256	256	256	80.4
Children without diarrhea				
Amoxicillin	≤0.25–256	256	256	91.4
Ampicillin	≤0.25–256	256	256	82.9
Aztreonam	1–256	256	256	91.4
Cephalexin	≤0.25–256	256	256	97.1
Cefoxitin	≤0.25–256	256	256	74.3
Chloramphenicol	≤0.25–256	256	256	91.4
Clindamycin	≤0.25–256	16	256	54.2
Imipenem	≤0.25–256	1	16–14.3	
Metronidazole	≤0.25–256	128	256	62.9
Penicillin G	≤0.25–256	16	256	45.7

Breakpoint: Amoxicillin, 16 µg/mL; Ampicillin, 16 µg/mL; Aztreonam, 32 µg/mL; Cephalexin, 8 µg/mL; Cefoxitin, 16 µg/mL; Chloramphenicol, 16 µg/mL; Clindamycin, 8 µg/mL; Imipenem, 8 µg/mL; Metronidazole, 16 µg/mL; Penicillin G, 16 µg/mL (NCCLS, 1988).

Ferreira et al. (2004)

Brazilian Journal of Microbiology (2005) 38:281-285
 ISSN 1517-8382

PREVOTELLA INTERMEDIA AND PORPHYROMONAS GINGIVALIS ISOLATED FROM OSSEOINTEGRATED DENTAL IMPLANTS: COLONIZATION AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY

Eduardo Augusto Pfau; Mario Julio Avila-Campos*

Laboratório de Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

30 paciente com implantes:
 - *Prevotella intermedia* – 19 cepas
 - *Porphyromonas gingivalis* – 7 cepas

Teste de susceptibilidade:
 8 metais pesados

Table 2. Metal activity for *P. intermedia* and *P. gingivalis* strains recovered from healthy peri-implant and healthy tissues adjacent to the implant.

Metals ^a	MIC (M)			Resistance (%)
	Range	50%	90%	
<i>P. intermedia</i> (19 strains)				
9PbCl ₂	≤0.00025–0.0005	0.0005	0.256	35
3CdSO ₄ .8H ₂ O	≤0.00025	≤0.00025	≤0.00025	0
AgNO ₃	≤0.00025–0.016	0.002	0.016	50
CuSO ₄	≤0.00025–0.008	0.001	0.008	45
NiSO ₄ .6H ₂ O	≤0.00075–0.002	≤0.00075	0.002	0
TiO ₂	≤0.0005–0.128	0.128	0.128	60
ZnSO ₄ .7H ₂ O	≤0.00025–0.256	0.002	0.256	23
PbCl ₂	≤0.00025	≤0.00025	≤0.00025	0
AlK (SO ₄) ₃ .12H ₂ O	≤0.00025–0.008	0.004	0.008	85
HgCl ₂	≤0.00025–0.008	0.002	0.004	35
<i>P. gingivalis</i> (7 strains)				
PbCl ₂	0.005	0.005	0.005	0
3CdSO ₄ .8H ₂ O	≤0.00025	≤0.00025	≤0.00025	0
AgNO ₃	0.002	0.002	0.002	0
CuSO ₄	≤0.00025–0.001	≤0.00025	0.001	0
NiSO ₄ .6H ₂ O	≤0.00075–0.002	≤0.00075	0.002	0
TiO ₂	≤0.0005–0.128	0.0005	0.128	12.5
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.001–0.002	0.001	0.002	0
PbCl ₂	≤0.00025	≤0.00025	≤0.00025	0
AlK (SO ₄) ₃ .12H ₂ O	≤0.00025–0.008	≤0.00025	0.008	12.5
HgCl ₂	≤0.00025–0.004	≤0.00025	0.004	12.5

Breakpoint used for all metals was 0.001 M.
^a9PbCl₂ lead chloride; 3CdSO₄.8H₂O cadmium sulfate; AgNO₃ silver nitrate; CuSO₄ copper sulfate; NiSO₄.6H₂O nickel sulfate; TiO₂ titanium dioxide; ZnSO₄.7H₂O zinc sulfate; PbCl₂ palladium chloride; AlK (SO₄)₃.12H₂O potassium aluminum sulfate; HgCl₂ mercury chloride.

Pfau & Avila-Campos (2005)

Alterações morfológicas produzidas por antibióticos em *B. fragilis*

Clindamicina

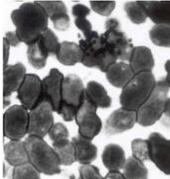
Cefoxitina

Silvestro et al. (2006)

Alterações morfológicas produzidas por antibióticos em *B. fragilis*



Clindamicina



Cefoxitina



Controle

Silvestro et al. (2006)

FEMS Microbiol Lett 272 (2007) 15–21



Occurrence of enterotoxigenic and nonenterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in calves and evaluation of their antimicrobial susceptibility

Fernanda S. Almeida, Viviane Nakano & Mario J. Avila-Campos

Laboratório de Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas X, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

54 bezerros sem diarreia – 92 cepas *Bacteroides/Parabacteroides* spp.54 bezerros com diarreia – 124 cepas *Bacteroides/Parabacteroides* spp.

Teste de susceptibilidade:

12 antibióticos

6 metais pesados

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Resistance (%)
	Range	50%	90%	
Calves with diarrhea				
Amoxicillin	≤ 0.25 – ≥ 512	8	512	45.5
Ampicillin	≤ 0.25 – ≥ 512	8	128	67.5
Cefoxitin	≤ 0.25 – ≥ 512	8	≥ 512	6.5
Clindamycin	≤ 0.25 –64	< 0.25	32	25.2
Chloramphenicol	≤ 0.25 –4	1	1	0
Moxifloxacin	≤ 0.25 –1	0.5	1	0
Metronidazole	≤ 0.25 –16	≤ 0.25	16	0
Imipenem	≤ 0.25 –1	≤ 0.25	≤ 0.25	0
Penicillin G	< 0.25 – ≥ 512	4	16	61.0
Piperacillin/azobactam	≤ 0.25 –1	1	1	0
Tigecycline	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	0
Tetracycline	≤ 0.25 –64	≤ 0.25	8	5.7
Calves without diarrhea				
Amoxicillin	≤ 0.25 – ≥ 512	16	512	41.7
Ampicillin	≤ 0.25 – ≥ 512	8	64	60.4
Cefoxitin	≤ 0.25 – ≥ 512	8	64	25.3
Clindamycin	≤ 0.25 – ≥ 512	< 0.25	1	3.3
Chloramphenicol	≤ 0.125 –4	1	1	0
Moxifloxacin	≤ 0.125 –1	0.5	1	0
Metronidazole	≤ 0.25 –16	4	16	0
Imipenem	< 0.25	< 0.25	< 0.25	0
Penicillin G	≤ 0.25 – ≥ 512	4	32	68.1
Piperacillin/azobactam	≤ 0.125 –1	1	1	0
Tigecycline	≤ 0.125 –0.25	≤ 0.125	0.25	0
Tetracycline	≤ 0.25 –64	8	32	27.5

Table 3. Metal ion susceptibility of 216 members of the *Bacteroides fragilis* group isolated from calves with (124) and without (92) diarrhea

Heavy Metal	MIC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Resistance (%)
	Range	50%	90%	
Calves with diarrhea				
Mercuric chloride	≤ 0.25 –32	0.5	4	26.8
Lead chloride	≤ 0.25 – ≥ 512	256	≥ 512	76.4
Silver nitrate	≤ 0.25 –32	2	8	47.9
Cadmium sulfate	≤ 0.25 – ≥ 512	8	128	62.6
Copper sulfate	≤ 0.25 –256	16	128	63.4
Nickel sulfate	≤ 0.25 – ≥ 512	32	≥ 512	67.5
Calves without diarrhea				
Mercuric chloride	≤ 0.25 –64	2	4	34.0
Lead chloride	≤ 0.25 – ≥ 512	512	≥ 512	81.3
Silver nitrate	≤ 0.25 –64	8	16	83.5
Cadmium sulfate	≤ 0.25 – ≥ 512	8	32	61.5
Copper sulfate	≤ 0.25 –512	64	256	84.6
Nickel sulfate	≤ 0.25 – ≥ 512	128	≥ 512	93.4

Almeida et al. (2007)

CLINICS 2011;66(4):543-547

DOI:10.1590/S1807-5932011000400004

CLINICAL SCIENCE

Antimicrobial resistance and prevalence of resistance genes in intestinal *Bacteroidales* strains

Viviane Nakano,¹ Amanda do Nascimento e Silva,¹ Victor Rafael Castillo Merino,¹ Hannah M. Wexler,^{1,111} Mario Julio Avila-Campos¹114 cepas *Bacteroides/Parabacteroides* spp.

Teste de susceptibilidade:

8 antibióticos

Genes de resistência:

cfiA, *cepA*, *tetQ*, *nim*, *ermF*

Table 2 - Resistance profiles of intestinal *Bacteroidales* species to 8 antibiotics.

Antibiotics*	% resistance**							
	<i>B. fragilis</i> (n=66)	<i>B. vulgatus</i> (n=14)	<i>B. uniformis</i> (n=7)	<i>B. ovatus</i> (n=7)	<i>B. eggertii</i> (n=2)	<i>B. thetaiotaomicron</i> (n=2)	<i>P. distasonis</i> (n=16)	<i>Bacteroides</i> spp. and <i>Parabacteroides</i> sp. (n=114)
Amoxicillin	92.4	85.7	100	100	100	100	93.7	93
Amoxicillin/Clavulanic acid	40.9	42.8	0	85.7	100	100	68.7	47.3
Ampicillin	98.4	92.8	100	100	100	100	87.5	96.4
Cephalexin	100	92.8	100	100	100	100	100	99
Cefoxitin	7.5	0	14.2	0	0	0	12.5	23
Clindamycin	31.8	100	0	71.4	0	0	43.7	34.2
Penicillin	100	92.8	100	100	100	100	100	99
Tetracycline	59	59	28.5	71.4	100	0	43.7	53.5

*Breakpoints used in accordance with CLSI (2007): Amoxicillin (8 $\mu\text{g/mL}$); Amoxicillin/clavulanic acid (8 $\mu\text{g/mL}$); Ampicillin (11 $\mu\text{g/mL}$); Cephalexin (8 $\mu\text{g/mL}$); Cefoxitin (32 $\mu\text{g/mL}$); Clindamycin (4 $\mu\text{g/mL}$); Imipenem (8 $\mu\text{g/mL}$); Metronidazole (16 $\mu\text{g/mL}$); Penicillin (1 $\mu\text{g/mL}$) and Tetracycline (8 $\mu\text{g/mL}$).

**All strains were susceptible to imipenem and metronidazole.

****B. fragilis* ATCC 43858 was resistant to amoxicillin, ampicillin, cephalixin, clindamycin and penicillin.

Nakano et al. (2011)

Table 3 - Distribution of resistance genes and β -lactamase production in intestinal *Bacteroides* spp. and *P. distans*.

Species (n)	Genes					β -lactamase production n (%)
	cfiA		cepA		ermF	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
<i>B. fragilis</i> (66)	51 (77.2)	53 (80.3)	16 (24.2)	54 (81.8)	5 (7.5)	60 (90.9)
<i>B. vulgatus</i> (14)	5 (35.7)	11 (78.5)	5 (35.7)	7 (50)	1 (7.14)	13 (92.8)
<i>B. uniformis</i> (17)	6 (35.3)	7 (100)	0 (0)	5 (29.4)	2 (28.5)	7 (100)
<i>B. ovatus</i> (7)	1 (14.2)	1 (14.2)	1 (14.2)	6 (85.7)	0 (0)	7 (100)
<i>B. eggertii</i> (2)	0 (0)	2 (100)	1 (50)	2 (100)	0 (0)	2 (100)
<i>B. thetaiotaomicron</i> (2)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0 (0)	1 (50)
<i>B. distans</i> (16)	6 (37.5)	11 (68.7)	6 (37.5)	15 (93.7)	1 (6.25)	15 (93.7)
TOTAL (114)	71 (62.3)	87 (76.3)	31 (27)	91 (79.8)	9 (7.8)	106 (92)

Genes de resistência:

cfiA: Carbapenêmicos

cepA: Cefalosporinas/Penicilina

tetQ: Tetraciclina

nim: Nitroimidazol (metronidazol)

ermF: Clindamicina/Macrolídeos

Nakano et al. (2011)



International Journal of Microbiology Research
ISSN: 0975-5276 & E-ISSN: 0975-9174, Volume 4, Issue 7, 2012, pp.-290-294.
Available online at <http://www.ijmr.in/contents.php?id=27>

TOXINOTYPING AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *Clostridium perfringens* ISOLATED FROM BROILER CHICKENS WITH NECROTIC ENTERITIS

LLANCO L.A.¹, VIVIANE NAKANO¹, FERREIRA A.J.P.² AND AVILA-CAMPOS M.J.^{1*}

¹Anaerobe Laboratory, Department of Microbiology, Institute of Biomedical Science, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.
²Aviary Pathology Laboratory, Zootecy and Veterinary Medicine College, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.
*Corresponding Author: Email- mariojac@usp.br

22 cepas *C. perfringens* tipo A (frangos com enterite necrótica)

Teste de susceptibilidade:

14 antimicrobianos

Table 2- Susceptibility to 14 antimicrobials of *Clostridium perfringens* Type A isolated of chickens with necrotic enteritis

Antibiotics	Breakpoint* mg/mL	MIC (µg/mL) Range	Resistance (%)	
			50%	90%
Amoxicillin	8	≤0.25 - 1	≤0.25	0.5
Amoxicillin- Clavulanic acid	8	≤0.25 - 4	0.5	4
Bacitracin	8	≤0.25 - ≥512	4	50
Cephalexin	8	4-64	16	64
Cefoxitin	32	≤0.25	≤0.25	≤0.25
Clindamycin	4	0.5 - 256	0.5	128
Chloramphenicol	8	01-Apr	4	4
Enrofloxacin	8	≤0.25 - 4	≤0.25	4
Erythromycin	8	4-64	16	32
Metronidazole	16	≤0.25 - 8	4	4
Oxytetracycline	8	≤0.25 - 128	4	8
Penicillin-Streptomycin	8	≤0.25 - 8	0.5	4
Sulfaquinoxalin	ND*	≥ 512	≥ 512	100
Tetracycline	8	2-32	4	32

* Breakpoints used in accordance with CLSI (2007).

** ND: no defined.

Llanco et al. (2012)

Anaerobe 18 (2012) 381-385

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Anaerobe

ELSEVIER journal homepage: www.elsevier.com/locate/anaerobe

Clinical microbiology

Occurrence and antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas* spp. and *Fusobacterium* spp. in dogs with and without periodontitis

Gerusa N.A. Senhorinho^a, Viviane Nakano^a, Chengxu Liu^b, Yuli Song^b, Sydney M. Finegold^{b,c,d}, Mario J. Avila-Campos^{a,*}

A B S T R A C T

The occurrence of *Porphyromonas gulae*, *Porphyromonas macacae*, *Fusobacterium nucleatum* and *Fusobacterium canifelinum* in subgingival plaque from dogs with and without periodontitis as well as their antimicrobial susceptibility were evaluated. From 50 dogs with periodontitis were identified 38 *P. gulae*, 8 *P. macacae*, 26 *F. nucleatum* and 15 *F. canifelinum*, and from 50 dogs without periodontitis were identified 15 *P. gulae*, 12 *F. nucleatum* and 11 *F. canifelinum*. All strains were susceptible to most of the antibiotics tested, however, different resistance rates to clarithromycin, erythromycin and metronidazole among strains were observed. The role of *P. gulae*, *P. macacae*, *F. nucleatum* and *F. canifelinum* in periodontal disease of household pets needs to be defined to a better prevention and treatment of the canine periodontitis.

MICROBIAL DRUG RESISTANCE
Volume 00, Number 00, 2016
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/mdr.2015.0320

EPIDEMIOLOGY

Alterations of Intestinal Microbiome by Antibiotic Therapy in Hospitalized Children

Miriam R. Fernandes,^{1*} Aline Ignacio,^{1*} Viviane A.A. Rodrigues,¹ Francisco C. Groppo,² Ary L. Cardoso,² Mario J. Avila-Campos,¹ and Viviane Nakano¹

31 crianças (antibioticoterapia) e 30 crianças controle - 3 a 12 anos.

Isolamento: *Bacteroides/Parabacteroides, Bifidobacterium* spp., *Clostridium* spp. e *Escherichia coli*.

Deteção por qPCR: *Bifidobacterium* spp., *B. fragilis*, *B. vulgatus*, *P. distans*, *P. merdae*, *C. perfringens*, *C. difficile*, *E. coli*, *Lactobacillus* spp., filo *Bacteroidetes*, filo *Firmicutes*.

TABLE 2. BACTERIAL SPECIES IDENTIFIED IN FICHS FROM 31 ANTI-BIOTIC-TREATED AND 30 CONTROL CHILDREN BY CULTURE METHOD

Microorganisms	Antibiotic-treated (n=31)		p ^a
	Prevalence, n (%)	Control (n=30) Prevalence, n (%)	
<i>B. fragilis</i> group			
<i>B. fragilis</i>	8 (19.3)	21 (70)	<0.0001
<i>B. fragilis</i>	1 (2.5)	2 (6.6)	0.612
<i>B. ovatus</i>	1 (3.2)	1 (3.3)	1.000
<i>B. caccae</i>	2 (6.4)	1 (3.3)	1.000
<i>B. stercoris</i>	0	2 (6.6)	ND ^b
<i>B. thetaiotaomicron</i>	1 (3.2)	0	ND ^b
<i>B. distans</i>	12 (38.7)	6 (20)	0.160
<i>P. merdae</i>	1 (3.2)	1 (3.3)	1.000
<i>Clostridium</i> spp.	8 (25.8)	8 (26.6)	1.000
<i>Clostridium</i> spp.			
<i>C. perfringens</i>	0	8 (26.6)	ND ^b
<i>C. clostridioforme</i>	1 (3.2)	1 (3.3)	1.000
<i>C. innocuum</i>	3 (9.6)	4 (13.3)	0.707
<i>C. parvum</i>	2 (6.4)	0	ND ^b
<i>C. difficile</i>	1 (3.2)	1 (3.3)	1.000
<i>C. glycoicum</i>	0	2 (6.6)	ND ^b
<i>C. sporogenes</i>	0	1 (3.3)	ND ^b
<i>C. butyr</i>	0	1 (3.3)	ND ^b
<i>Clostridium</i> sp.	5 (16.1)	4 (13.3)	1.000
<i>Bifidobacterium</i> spp.			
<i>Bifidobacterium</i>	8 (25.8)	25 (83.3)	<0.0001
<i>Bifidobacterium</i>	5 (16.1)	12 (40)	0.048
<i>Bifidobacterium</i>	12 (38.7)	0	ND ^b
<i>E. coli</i>	23 (74.1)	26 (86.6)	0.335

^aPrevalence reflects the number of positive samples by culture-based technique.

^bFisher's test was applied. Significance levels in bold (p<0.05).

^cND: Without sufficient positive sample to perform the Fisher's test.

Fernandes et al. (2016)

TABLE 3. BACTERIAL PREVALENCE AND QUANTIFICATION VERIFIED IN FECES OF ANTIBIOTIC-TREATED AND CONTROL CHILDREN BY qPCR

	Antibiotic-treated (n=31)	Control (n=30)	Total (n=61)	p
Presence of genus, species, or phylum^a, n (%)				
<i>Bifidobacterium</i> spp.	29 (93.5)	30 (100)	59 (96.7)	0.4918
<i>Lactobacillus</i> spp.	31 (100)	27 (90)	58 (95)	0.1128
<i>B. vulgatus</i>	31 (100)	30 (100)	61 (100)	ND ^b
<i>B. fragilis</i>	29 (93.5)	30 (100)	59 (96.7)	0.4918
<i>F. dissonans</i>	30 (96.7)	29 (96.6)	59 (96.7)	1
<i>P. merdae</i>	31 (100)	29 (96.6)	60 (98.3)	0.4918
<i>C. perfringens</i>	31 (100)	29 (96.6)	60 (98.3)	0.4918
<i>C. difficile</i>	26 (83.8)	29 (96.6)	55 (90.1)	0.1953
<i>E. coli</i>	31 (100)	30 (100)	61 (100)	ND ^b
<i>M. smithii</i>	19 (61.2)	28 (93.3)	47 (77)	0.0050
Bacteroidetes	31 (100)	30 (100)	61 (100)	ND ^b
Firmicutes	31 (100)	30 (100)	61 (100)	ND ^b
Quantitative determination (log₁₀ copies/feces)^c				
<i>Bifidobacterium</i> spp.	4.62 (4.49-5.9) ^d	7.29 (6.51-8.95)	6.52 (4.43-9.59)	0.0002
<i>Lactobacillus</i> spp.	5.91 (5.53-8.86) ^e	5.52 (4.87-6.95)	5.71 (5.17-8.86)	0.0092
<i>B. vulgatus</i>	4.29 (3.08-8.74)	7.12 (5.91-8.88)	6.81 (4.10-8.88)	0.0901
<i>B. fragilis</i>	4.69 (3.18-8.11)	6.6 (5.29-8.53)	5.83 (3.96-8.53)	0.0055
<i>F. dissonans</i>	4.12 (3.02-8.28)	3.82 (2.96-7.86)	3.98 (3.8-28)	1
<i>P. merdae</i>	4.58 (3.53-8.74)	7.27 (5.53-8.38)	6.43 (3.0-8.74)	0.4700
<i>C. perfringens</i>	4.37 (3.6-6.35) ^f	5.84 (5.47-6.76)	5.45 (3.88-6.76)	<0.0001
<i>C. difficile</i>	1.62 (0.75-5.51)	3.72 (3.583)	2.75 (0.95-5.55)	0.0204
<i>E. coli</i>	5.89 (4.85-9.61) ^g	7.68 (7.11-9.28)	7.54 (5.47-9.61)	0.0268
<i>M. smithii</i>	4.79 (0.8-7.7) ^h	4.51 (4.05-8.98)	4.44 (3.56-8.98)	0.0444
Bacteroidetes	8.9 (7.77-10.54)	8.93 (8.47-9.78)	8.92 (8.33-10.54)	0.3634
Firmicutes	7.86 (7.44-8.84) ⁱ	8.42 (8.11-9.14)	8.13 (7.77-9.14)	0.0009

Fernandes et al. (2016)

Transmissibilidade da resistência aos antimicrobianos

- Reservatórios comensais (humanos e animais);
- Reservatório ambiental (solo, água, alimentos, etc.);
- Disseminação por pessoas da área de saúde:

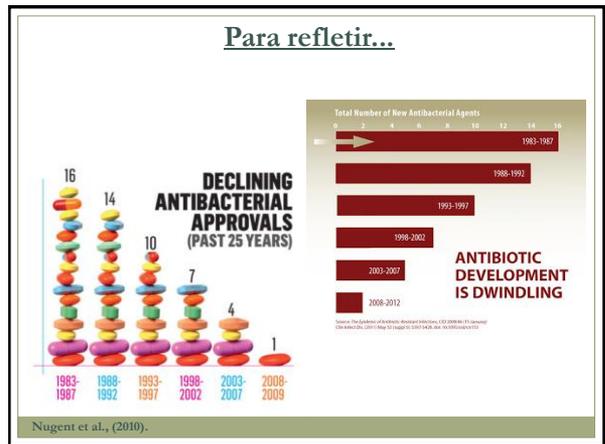
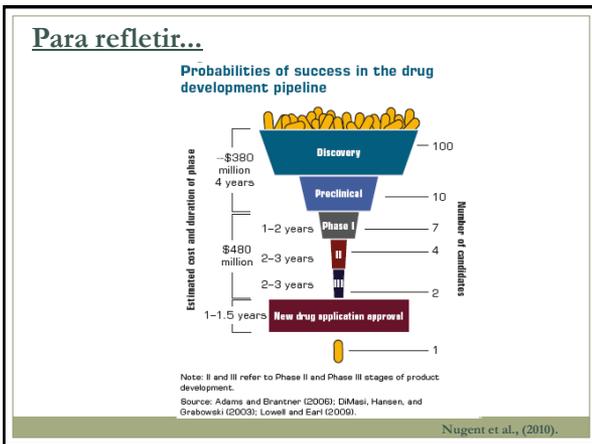
* Lavagem das mãos de forma inadequada;

* Uso inadequado de equipamento de proteção.



Para refletir...

- Uso racional de antibióticos;
- Auto medicação;
- Boas práticas de controle de infecções (diagnóstico e tratamento efetivo);
- Novos antimicrobianos???



ARTICLE

TEIXOBACTIN

doi:10.1038/nature14098

A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance

Losee L. Ling^{1*}, Tanja Schneider^{2,3,4}, Aaron J. Peoples¹, Amy L. Spoering¹, Ina Engels^{2,3}, Brian P. Conlon⁴, Anna Mueller^{2,3}, Tib F. Schärberle^{2,3}, Dallas E. Hughes¹, Slava Epstein¹, Michael Jones¹, Lino Lazarides⁷, Victoria A. Steadman⁷, Douglas R. Cohen¹, Claria R. Felix¹, K. Ashley Fetterman¹, William P. Millett¹, Anthony G. Nitti¹, Ashley M. Zullo¹, Chao Chen⁸ & Kim Lewis¹

Eleftheria terrae – beta-proteobacteria – gram negativa.

Mecanismo de ação:

Ligar-se ao lípidio II – precursor do peptidoglicano (Inibidor de parede celular)

1928 Penicilina – 100 novas drogas / 1987 – Nova classe de Antibiótico

Nature. 2015 Jan 22; 517(7535):455-9. doi: 10.1038/nature14098

Table 1 | Activity of teixobactin against pathogenic microorganisms

Organism and genotype	Teixobactin MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
S. aureus (MSSA)	0.25
S. aureus + 10% serum	0.25
S. aureus (MRSA)	0.25
Enterococcus faecalis (VRE)	0.5
Enterococcus faecium (VRE)	0.5
Streptococcus pneumoniae (penicillin ⁶)	≤ 0.03
Streptococcus pyogenes	0.06
Streptococcus agalactiae	0.12
Viridans group streptococci	0.12
B. anthracis	≤ 0.06
Clostridium difficile	0.005
Propionibacterium acnes	0.08
M. tuberculosis H37Rv	0.125
Haemophilus influenzae	4
Moraxella catarrhalis	2
Escherichia coli	25
Escherichia coli (asmB1)	2.5
Pseudomonas aeruginosa	>32
Klebsiella pneumoniae	>32

The MIC was determined by broth microdilution. MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; VRE, vancomycin-resistant enterococci.

Para refletir...

EL PAÍS

CIÊNCIA

ANTIBIÓTICOS

Descoberta uma superbactéria imune ao antibiótico mais potente

Versão da bactéria 'E. Coli' resiste ao tratamento com colistina, último recurso nesses casos

DANIEL MEDAVILLA

28 MAR 2015 - 06:26 CEST

Para refletir...

www.thelancet.com/infection Published online November 18, 2015 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study

Yi Yun Liu¹, Yong Wang², Timothy R Walsh¹, Ling Xian Yi¹, Rang Zhang¹, James Spencer¹, Yohel Del Guobio Tian¹, Basile Dang¹, Xianhui Huang¹, Lin Feng Yu¹, Danlei Gu¹, Hongwei Ren¹, Xiaojie Chen¹, Luchao Lu¹, Dandan He¹, Hongwei Zhou¹, Zhen Liang¹, Jian Hua Liu¹, Jiarong Zhang¹

Euro Surveill. 2016;21(17):pii=30214. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.17.30214>

RAPID COMMUNICATIONS

Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene

MR Fernandes¹, Q Moura¹, L Sartori¹, KC Silva¹, MP Cunha¹, F Esposito¹, R Lopes¹, LK Otutumi¹, DD Gonçalves¹, M Dropa¹, MH Matté¹, DF Monte¹, M Landgraf¹, GR Francisco¹, MF Bueno¹, D de Oliveira Garcia¹, T Knöbl¹, AM Moreno¹, N Lincopan¹

“Todo profissional de saúde, deve estar consciente da importância da utilização adequada dos antimicrobianos” (Anvisa)



“O uso racional de antimicrobianos é uma das metas definidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o século XXI” (Anvisa)