

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO SAGRADO CORAÇÃO

ALINE TRITAPEPPE DINKEL

RESISTÊNCIA À COLISTINA MEDIADA PELO GENE *mcr-1*: O ESGOTAMENTO DOS
RECURSOS ANTIMICROBIANOS

BAURU
2020

ALINE TRITAPEPPE DINKEL

RESISTÊNCIA À COLISTINA MEDIADA PELO GENE *mcr-1*: O ESGOTAMENTO DOS
RECURSOS ANTIMICROBIANOS

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação
apresentado como parte dos requisitos para
obtenção do título de bacharel em Biomedicina
– Centro Universitário do Sagrado Coração.
Orientadora: Prof.^a Dra Ana Carolina Polano
Vivan.

BAURU
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com
ISBD

D583r	<p>Dinkel, Aline Tritapeppe</p> <p>Resistência à colistina mediada pelo gene mcr-1: O esgotamento dos recursos antimicrobianos. / Aline Tritapeppe Dinkel. -- 2020. 27f. :il.</p> <p>Orientador: Prof.^a Dra. Ana Carolina Polano Vivan</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina. Área de concentração: Microbiologia.) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Gram-negativas. 2. Multirresistentes. 3. Polimixinas. 4. Colistina. 5. Mcr-1. I. Vivan, Ana Carolina Polano. II. Título.</p>
-------	--

ALINE TRITAPEPPE DINKEL

RESISTÊNCIA À COLISTINA MEDIADA PELO GENE *mcr-1*: O ESGOTAMENTO DOS
RECURSOS ANTIMICROBIANOS

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação
apresentado como parte dos requisitos para
obtenção do título de bacharel em Biomedicina
– Centro Universitário do Sagrado Coração.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Ana Carolina Polano Vivan (Orientadora)
Centro Universitário do Sagrado Coração

Prof.^a Dra. Andréa Mendes Figueiredo
Centro Universitário do Sagrado Coração

Pelo carinho, incentivo e apoio que meus pais
me deram, dedico-lhes este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, *Solange e Valter*, e minha irmã *Amanda*, pelo amor, carinho, dedicação, bem como por estarem sempre ao meu lado, me apoiando, acreditando e fazendo parte da realização dos meus sonhos.

Ao meu namorado, *Mateus*, por todo amor e apoio; além de estar sempre ao meu lado, incentivando-me na busca pelos meus sonhos.

À *Prof.^a Dra. Ana Carolina Polano Vivan*, que me auxiliou com maestria na elaboração deste trabalho, orientando-me com dedicação, paciência e carinho.

Agradeço, ainda, a *Prof.^a Dra. Andrea Mendes Figueiredo*, integrante da banca examinadora, por aceitar fazer parte deste trabalho e contribuir na avaliação final com todo conhecimento que sabidamente possui e transmite.

Por fim, agradeço à Unisagrado e a todos os professores, pelas oportunidades e conhecimentos transmitidos, proporcionando uma formação acadêmica de qualidade e incentivando a busca incessante pelo conhecimento científico.

RESUMO

O aumento das taxas de infecção por bactérias Gram-negativas multirresistentes tornou-se um grande problema de saúde pública, causando uma crise global. A falta de novos antibióticos para combatê-las levou ao aumento da utilização das polimixinas, uma antiga classe de antibióticos polipeptídicos cíclicos catiônicos. As polimixinas compõem um grupo de antibióticos lançados em 1947, classificados em classes A, B, C, D e E, sendo que somente as polimixinas B e E (Colistina) são utilizadas no ambiente hospitalar, em razão da grande toxicidade das demais. A maior parte da reintrodução de polimixinas durante os últimos anos está relacionada à colistina. As polimixinas têm um espectro antibacteriano restrito, ativas principalmente contra bactérias Gram-negativas, incluindo a maioria dos membros da família Enterobacteriaceae, sendo usadas como linha final de defesa no tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes. Embora a resistência natural às polimixinas seja rara, a descoberta de um gene alocado em plasmídeo de resistência à colistina mobilizado (*mcr-1*) gerou uma preocupação significativa. Em 2015, na China, devido ao uso indiscriminado na medicina veterinária com o objetivo de tratar e prevenir doenças infecciosas, e também como promotor de crescimento em aves e suínos, foi relatado um gene que confere resistência à colistina em bactérias intestinais. Isto gerou uma preocupação significativa, e poucos meses após essa descoberta, o gene foi relatado em diversos países. A proteína codificada por esse gene reduz a ligação da colistina com a membrana bacteriana, conferindo a resistência, porém os mecanismos exatos ainda são pouco conhecidos e necessitam maiores investigações para elucidação dos mesmos. A resistência às polimixinas surge como um novo desafio ao controle de infecção hospitalar, com o temor de que, em breve, as opções terapêuticas para infecções por Gram-negativos multirresistentes terão se esgotado.

Palavras-chave: Gram-negativas. Multirresistentes. Polimixinas. Colistina. *Mcr-1*.

ABSTRACT

Increased rates of infection by multi-resistant Gram-negative bacteria has become a major public health problem, causing a global crisis. The lack of new antibiotics to combat them has led to an increase in the use of polymyxins, an old class of cationic cyclic polypeptide antibiotics. Polymyxins make up a group of antibiotics launched in 1947, classified in classes A, B, C, D and E, and only polymyxins B and E (Colistin) are used in the hospital, due to the great toxicity of the others. Most of the reintroduction of polymyxins during the past few years is related to colistin. Polymyxins have a restricted antibacterial spectrum, active mainly against Gram-negative bacteria, including most members of the Enterobacteriaceae family, and are used as a final line of defense in the treatment of infections by multiresistant Gram-negative bacteria. Although natural resistance to polymyxins is rare, the discovery of a gene allocated in a mobilized colistin resistance plasmid (*mcr-1*) has raised significant concern. In 2015 in China, due to the indiscriminate use in veterinary medicine in order to treat and prevent infectious diseases, and also as a growth promoter in poultry and pigs, a gene was reported that confers resistance to colistin in intestinal bacteria. This generated significant concern, and a few months after that discovery, the gene was reported in several countries. The protein encoded by this gene reduces the binding of colistin to the bacterial membrane, conferring resistance, but the exact mechanisms are still poorly understood and need further investigation to elucidate them. Resistance to polymyxins emerges as a new challenge for hospital infection control, with the fear that, soon, therapeutic options for multi-resistant Gram-negative infections will have run out.

Keywords: Gram-negative. Multi-resistant. Polymyxins. Colistin. *Mcr-1*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química da colistina.....	16
Figura 2 – Diferença molecular entre polimixina B e colistina.....	16
Figura 3 – Mecanismo de ação das polimixinas.....	17
Figura 4 – Mecanismos de Resistência às Polimixinas.....	19
Figura 5 – Modificações do lipídeo A que levam à resistência às polimixinas	19

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	DESENVOLVIMENTO	13
2.1	OBJETIVOS	13
2.1.1	Objetivo geral	13
2.1.2	Objetivos específicos.....	13
2.2	METODOLOGIA.....	13
2.3	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.3.1	Multirresistência em Gram-negativos	13
2.3.2	As polimixinas.....	15
2.3.3	Uso das polimixinas na prática hospitalar.....	19
2.3.4	Gene mcr-1: Primeira descrição e epidemiologia.....	21
2.3.5	Disseminação do gene mcr-1 via alimentos de origem animal.....	23
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
	REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 30 anos, a seleção de cepas bacterianas multirresistentes na prática clínica aumentou vertiginosamente, destacando a necessidade do desenvolvimento de novos antimicrobianos, ou até novos esquemas terapêuticos com as drogas já utilizadas. A resistência aos antibióticos é a capacidade adquirida por um organismo de resistir os efeitos de um agente quimioterápico, ao qual ele é normalmente susceptível. Teoricamente, não existe nenhum agente ao qual bactérias não possam reagir de alguma forma e apresentar resistência (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; BASSETTI; GINOCCHIO; MIKULSKA, 2011).

Em relação aos Gram-negativos, o mecanismo de resistência mais difundido é a produção de enzimas que degradam/inativam os antibióticos, especialmente a grande classe das β -lactamases. A velocidade de desenvolvimento de antimicrobianos diminuiu bastante na última década, e as opções terapêuticas contra bactérias Gram-negativas estão ficando cada vez mais limitadas, sendo assim, para as bactérias Gram-negativas resistentes, os médicos são forçados a utilizar medicamentos antigos, como as polimixinas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; BASSETTI; GINOCCHIO; MIKULSKA, 2011).

As polimixinas são um grupo de antibióticos cíclicos ativos contra várias bactérias Gram-negativas, porém somente as polimixinas B e E são utilizadas no ambiente hospitalar, em razão da grande toxicidade das demais, sendo que a classe E é conhecida como colistina (MENDES; BURDMANN, 2009; ANVISA, 2007).

As polimixinas têm um espectro antibacteriano restrito, ativas principalmente contra bactérias Gram-negativas comuns, incluindo a maioria dos membros da família Enterobacteriaceae. Estas são antimicrobianos usados como linha final de defesa no tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes. Em 2015 na China, por Liu e colaboradores (2016), foi relatado um gene em bactérias intestinais que confere resistência à colistina mobilizado – em inglês mobile colistin resistance (*mcr-1*), e isso gerou uma preocupação significativa (LIN et al., 2018; FALAGAS; KASIAKOU; SARAVOLATZ, 2005; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

A proteína MCR-1, codificada pelo gene *mcr-1*, reduz a ligação da colistina com a membrana bacteriana, conferindo resistência. No entanto, os mecanismos estruturais e

bioquímicos usados por esta enzima de membrana integral ainda são pouco conhecidos (LIN et al., 2018; OLIVEIRA, 2020; LIU et al., 2016).

Na medicina veterinária, a colistina (Polimixina E) foi utilizada por muito tempo com o objetivo de tratar e prevenir doenças infecciosas, e também como promotor de crescimento em aves e suínos. Por consequência deste uso indiscriminado, a resistência à colistina tem sido cada vez mais relatada. Além disso, estudos relatam a possibilidade de transmissão horizontal de animais de fazenda para humanos (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

A resistência à colistina se mostra como uma das principais ameaças ao controle de infecção atualmente, com o temor de que as estratégias terapêuticas possam se esgotar em questão de anos.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão de literatura acerca da resistência microbiana ao antimicrobiano colistina, mediada pelo gene *mcr-1*.

2.1.2 Objetivos específicos

- Revisar os principais mecanismos de resistência bacteriana em Gram-negativos;
- Discutir sobre o uso da classe das polimixinas em ambiente hospitalar;
- Fazer uma descrição do atual panorama da distribuição epidemiológica do gene *mcr-1* desde a sua primeira descrição até os dias atuais;
- Analisar a disseminação do gene *mcr-1* via alimentos de origem animal.

2.2 METODOLOGIA

O estudo foi realizado por meio de pesquisa em bases de dados como Scielo e PubMed, usando alguns descritores como: *mcr-1*, resistência bacteriana, polimixinas, MCR-1. A pesquisa teve abordagem qualitativa, de caráter descritivo e de levantamento de dados epidemiológicos. As referências utilizadas foram selecionadas, dando prioridade a trabalhos mais recentes sobre o tema.

2.3 REVISÃO DE LITERATURA

2.3.1 Multirresistência em Gram-negativos

Alguns fatores contribuem para a adaptação da população bacteriana que leva à resistência, como a exposição e o uso incorreto de antimicrobianos. O uso indiscriminado destes na medicina tem causado um aumento nas taxas de resistência em todo o mundo, causando um impacto mundial e se apresentando como o principal problema de saúde pública no mundo. As taxas de infecções relacionadas a bactérias Gram-negativas multirresistentes aumenta vertiginosamente a nível global, o que limita as opções de tratamento (COSTA; ATTA; SILVA, 2015; SANTOS, 2004; BASSETTI; GINOCCHIO; MIKULSKA, 2011).

As bactérias podem expressar resistência intrínseca, ou seja, mecanismos de resistência naturais de um gênero ou espécie bacteriana, ou adquirida, originada a partir de mutações nos próprios genes ou pela aquisição dos genes de resistência de outras bactérias (plasmídeo), via bacteriófago (transdução) ou via ambiente (transformação) (ANDRADE; DARINI).

Em relação às bactérias Gram-negativas, o mecanismo de resistência mais comum é a produção de enzimas que degradam/inativam os antibióticos, sendo um dos principais mecanismos de resistência. As enzimas utilizadas nesse mecanismo podem ser, por exemplo, as β -lactamases (ANVISA, 2007).

As β -lactamases são divididas, de acordo com Ambler, em classes A, B, C e D. Estas quebram a ligação amida do anel beta-lactâmico, destruindo o local onde os antimicrobianos β -lactâmicos ligam-se, não exercendo assim seu efeito antibacteriano. Foram descritas numerosas β -lactamases diferentes, e dentre elas destacam-se as beta-lactamases de espectro estendido (ESBL). Estas são mediadas por genes localizados em plasmídeos, e inativam antimicrobianos como as cefalosporinas de terceira geração e os monobactâmicos. Os primeiros relatos de ESBL datam da década de 80, e a partir de então foram amplamente distribuídas na comunidade e em hospitais de todo o mundo. Em consequência desse cenário, houve um aumento significativo no uso de antibióticos carbapenêmicos, já que estes atualmente representam as drogas de escolha para o tratamento de infecções graves por isolados multirresistentes (OLIVEIRA, 2020; VIVAN, 2012).

O uso maciço de carbapenêmicos na prática clínica deflagrou uma situação inevitável: a seleção e disseminação de bactérias produtoras de carbapenemases, enzimas que hidrolisam penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos. Na escassez de opções terapêuticas para o tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas multirresistentes, os médicos são forçados a utilizar medicamentos antigos, como as polimixinas. Desde 2001, várias agências têm chamado a atenção para a falta significativa de novos antibióticos para patógenos Gram-negativos (BASSETTI; GINOCCHIO; MIKULSKA, 2011; OLIVEIRA, 2020; VIVAN, 2012).

Além das enzimas, há outros mecanismos de defesa bacteriana, como a perda de porinas, alteração na conformação do local de ação, bombas de efluxo, diminuição da absorção de moléculas exógenas, dentre outros. As bactérias Gram-negativas são menos permeáveis a muitos antibióticos, porque possuem membrana externa na constituição de sua

parede celular, sendo esse mecanismo de resistência exclusivo destas. Com isso, os antimicrobianos devem ultrapassar a membrana externa ou toda a parede celular para atingir o alvo e agir no citoplasma. Os antibióticos hidrofílicos atravessam a membrana externa por difusão passiva através de proteínas chamadas porinas, e a redução da permeabilidade da membrana externa pode ocorrer por alterações na estrutura dessas proteínas ou pela perda delas, resultando em permeabilidade mais seletiva ou até mesmo impermeabilidade às drogas (ANDRADE; DARINI & AQUINO; SILVA, 2018).

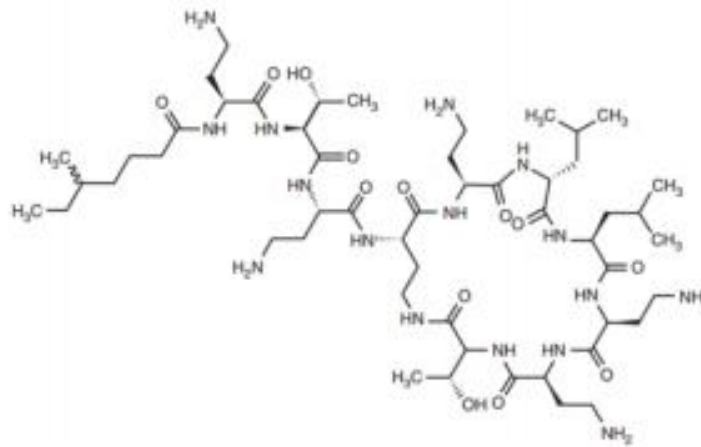
2.3.2 As polimixinas

As polimixinas são um grupo de antibióticos cíclicos descritos em 1947, classificados em classes A, B, C, D e E, ativos contra várias bactérias Gram-negativas. Somente as polimixinas B e E são utilizadas no ambiente hospitalar, em razão da grande toxicidade das demais, sendo que a classe E é chamada de colistina. A colistina (colestimetato de sódio) e a polimixina B, apresentam eficácia equivalente. A polimixina B é derivada de cepas de *Bacillus polymyxa* e a colistina deriva de *Bacillus colistinus*, sendo esta administrada como um produto inativo (colestimetato) que requer hidrólise para ser ativa como antibacteriano. As polimixinas apresentam o mesmo espectro antimicrobiano, sendo assim, há resistência cruzada entre a polimixina B e a colistina (FELICIANO & MENDES; BURDMANN, 2009).

Em razão da sua nefrotoxicidade e neurotoxicidade, as polimixinas deixaram de ser usadas, e por consequência disso, houve desenvolvimento de outros antimicrobianos com toxicidade inferior. Na década de 90, com o aparecimento de bactérias multirresistentes à β -lactâmicos, aminoglicosídeos e quinolonas, ressurgiu o interesse pelas polimixinas (MENDES; BURDMANN, 2009).

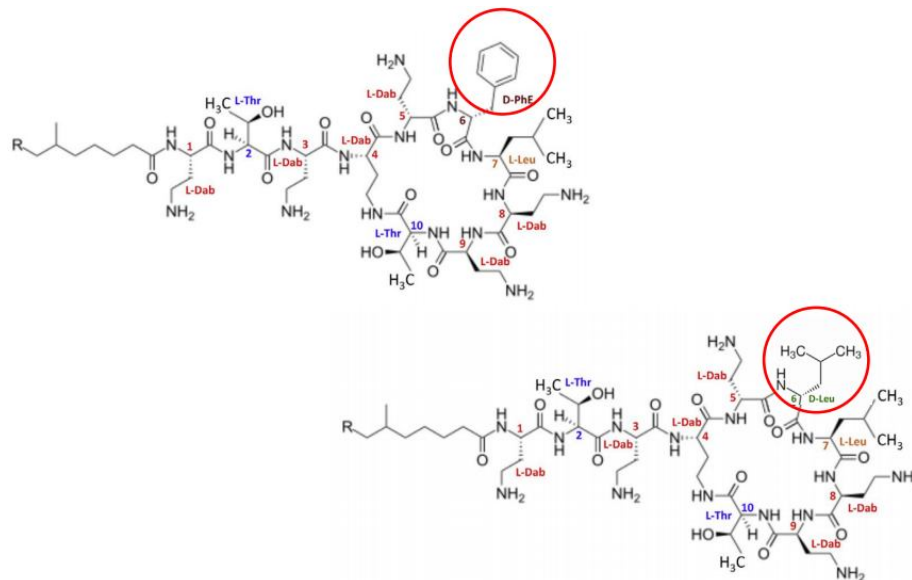
A colistina é um antibiótico polipeptídico, que pertence à classe das polimixinas e é uma das principais classes de antibióticos com atividade contra a maioria dos bacilos Gram-negativos multirresistentes. São antibióticos que possuem região hidrofílica e região hidrofóbica, considerados assim, anfipáticos. Consistem em um decapeptídeo cíclico catiônico ligado a uma cadeia de ácido graxo através de uma ligação α -amida, e seus aminoácidos na molécula são D-leucina, L-treonina e ácido L- α - γ -diaminobutírico. Este último está ligado ao resíduo de ácido graxo (FALAGAS; KASIAKOU; SARAVOLATZ, 2005; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Figura 1 – Estrutura química da colistina



Fonte: FELICIANO, adaptado.

Figura 2 – Diferença molecular entre polimixina B e colistina

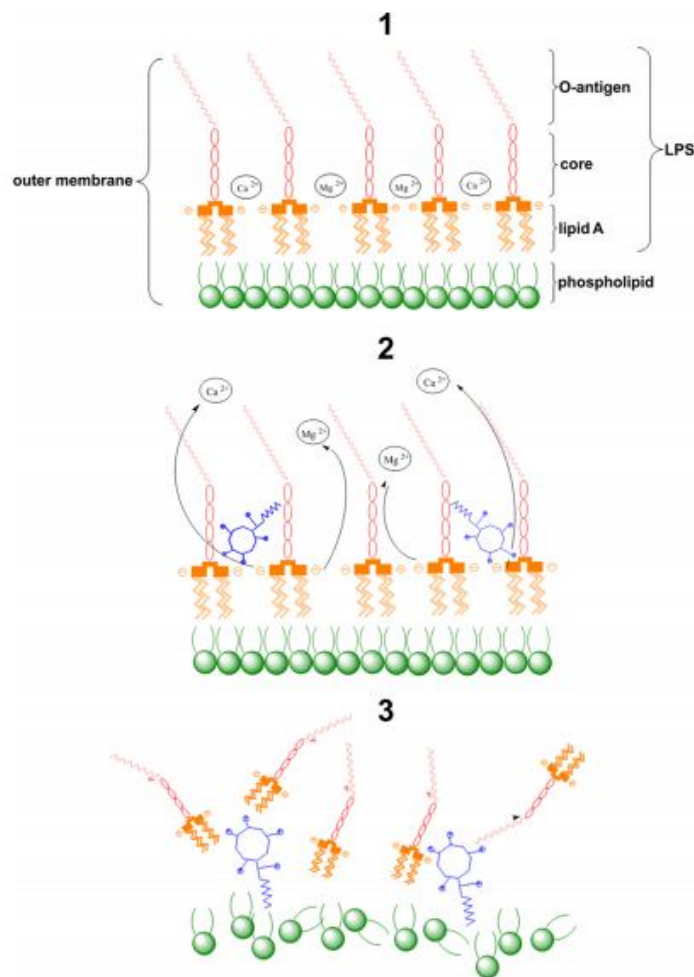


Fonte: SAMPAIO, 2018. Sociedade Brasileira de Microbiologia, adaptado.

O alvo da ação antimicrobiana da colistina é a membrana celular externa bacteriana. Ligam-se a fosfolipídeos e lipopolissacarídeos, e devido a uma interação eletrostática que ocorre entre o resíduo de ácido da polimixina carregada positivamente de um lado, e os grupos fosfato da membrana de lipídio A carregada negativamente do outro lado, cátions de cálcio e magnésio são deslocados competitivamente, estes que agem como estabilizadores da

membrana da bactéria. O lipopolissacarídeo é, portanto, desestabilizado, consequentemente aumentando a permeabilidade da membrana bacteriana, provocando a ruptura, levando ao vazamento do conteúdo citoplasmático e, por fim, causando a morte celular, sendo assim, tem como mecanismo de ação a interferência na propriedade de permeabilidade seletiva da membrana citoplasmática bacteriana. O modo exato de ação das polimixinas ainda não se sabe (FELICIANO & MENDES; BURDMANN, 2009; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017)

Figura 3 – Mecanismo de ação das polimixinas



Fonte: DERIS et al., 2014.

A figura 3 descreve o modo de ação das polimixinas nos níveis das membranas externa e interna da célula da bactéria Gram-negativa. Na primeira etapa as polimixinas têm

como alvo a membrana externa das bactérias Gram-negativas, na segunda etapa as polimixinas carregadas positivamente deslocam os cátions divalentes que ligam as moléculas dos lipopolissacarídeos (LPS) adjacentes, e na terceira etapa ocorre as interações eletrostáticas, que enfraquecem a estabilidade da membrana externa e a inserção hidrofóbica desestabiliza a membrana externa através da expansão hidrofóbica, produzindo danos à membrana externa (DERIS et al., 2014).

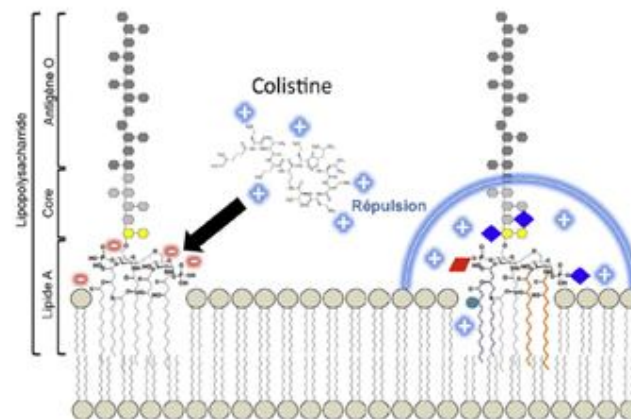
Outro mecanismo da droga é a ligação e neutralização da endotoxina, que corresponde à porção lipídica A do LPS, liberada durante a lise celular. Por último, as polimixinas fazem a inibição de enzimas respiratórias vitais, como a inibição da NADH - quinona oxidoredutases tipo II [NDH-2], na membrana interna bacteriana (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Ainda não se sabe o mecanismo de resistência às polimixinas completamente (Figura 4). Em geral, são observados dois fenótipos de resistência às polimixinas. O primeiro fenótipo é denominado resistência natural, resultante de mutação nos genes da bactéria e que promove resistência. O segundo fenótipo é denominado mecanismo adaptativo, no qual a bactéria, inicialmente sensível, se torna resistente após o uso inadequado do fármaco. Esse último mecanismo pode levar a CIM (concentração inibitória mínima) bem mais elevadas, acima de 128 µg/mL e pode ser reversível, se houver ausência da pressão seletiva estabelecida pela droga (GALES; GIRARDELLO, 2012).

Estudos indicam alterações no lipopolissacarídeo bacteriano e diminuição da atividade das polimixinas (Figura 5). Essa alteração se dá por uma adição de 4-amino-arabinose na porção do lipídio A do LPS, um dos principais componentes da parede celular de bactérias Gram-negativas. Em outras cepas, a resistência foi relacionada com o aumento da produção de cápsula polissacarídica, o que diminui a interação da droga com a superfície celular. A regulação gênica do desenvolvimento de resistência às polimixinas, conhecida até o momento, envolve sistemas de dois componentes, sendo que esses sistemas são influenciados por fatores ambientais como presença de ferro, concentrações elevadas de cálcio ou baixas de magnésio, ou ainda, alterações de pH no meio, sendo que esse sistema é utilizada por diversas espécies bacterianas para regulação da expressão de diferentes fatores de resistência e também de virulência. Eles são constituídos por uma proteína sensor de histidina quinase que percebe estímulos ambientais, sofrendo uma reação de autofosforilação, ativando uma segunda proteína citoplasmática, por uma reação de transfosforilação. A segunda proteína, então,

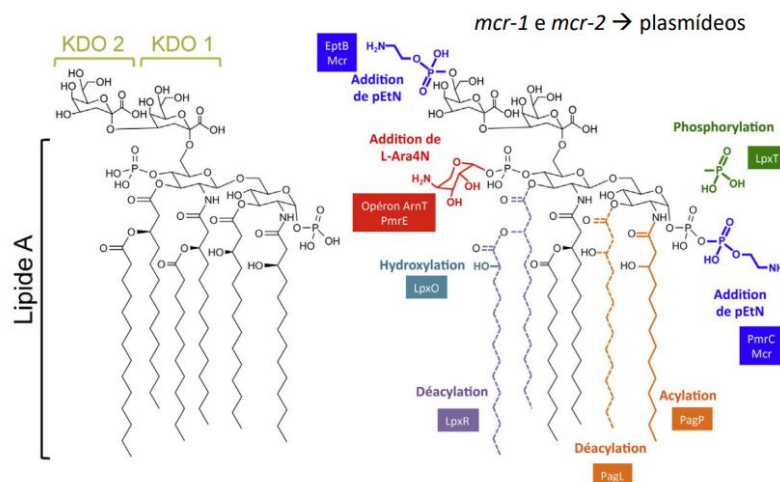
promove a ativação ou repressão dos genes alvo, desencadeando a resistência às polimixinas (GALES; GIRARDELLO, 2012).

Figura 4 - Mecanismos de Resistência às Polimixinas



Fonte: SAMPAIO. Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2018, adaptado.

Figura 5 - Modificações do lipídeo A que levam à resistência às polimixinas



Fonte: SAMPAIO. Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2018, adaptado.

2.3.3 Uso das polimixinas na prática hospitalar

Somente as polimixinas B e E são utilizadas no ambiente hospitalar, em razão da grande toxicidade das demais, sendo que a Polimixina E (colistina) e a polimixina B, apresentam eficácia equivalente. No ambiente hospitalar a terapia com as polimixinas é

considerada o último recurso para tratamento de infecções causadas por bacilos Gram-negativos multirresistentes, sendo assim, a prescrição dessa classe de drogas pode ser inevitável em alguns casos (BAHLIS et al., 2015; MENDES; BURDMANN, 2009).

Sabe-se que o uso da Colistina está associado à nefrotoxicidade e neurotoxicidade, e por isso, as polimixinas deixaram de ser usadas, tendo como consequência o desenvolvimento de outros antimicrobianos com toxicidade inferior. Na década de 90, com o aparecimento de bactérias multirresistentes à b-lactâmicos, aminoglicosídeos e quinolonas, ressurgiu o interesse pelas polimixinas (MENDES; BURDMANN, 2009).

Estudos sugerem que a maior parte dos pacientes recuperam sua função renal após alguns meses, mesmo assim, essas taxas causam preocupação, já que a terapia na diálise é um procedimento invasivo, com morbidade e mortalidade associadas. No estudo de Bahlis et al. (2015), de 205 pacientes, 121 apresentaram algum tipo de lesão renal, concluindo-se que a nefrotoxicidade da polimixina tem correlação com dose e duração da terapia. Outro estudo de Mendes & Burdmann (2009) com 288 pacientes encontraram nefrotoxicidade em 20,2%, com maior incidência nos pacientes com função renal previamente comprometida (BAHLIS et al., 2015; MENDES; BURDMANN, 2009).

A colistina está disponível na formulação parenteral, utilizando-se a via intravenosa, intramuscular, inalatória e a via intratecal (canal espinhal), não sendo absorvível por via oral. Na administração intravenosa ou intramuscular, em pacientes adultos e pediátricos com a creatinina normal, a dose sugerida é de 2,5 a 5,0 mg/Kg/dia, não podendo exceder de 5 mg/kg/dia, porém o intervalo de tempo entre as injeções deve ser aumentado caso houver prejuízo da função renal (BULA COLIS-TEK, 2014; FELICIANO).

Estes antimicrobianos tem um espectro antibacteriano estreito, sendo ativos contra a maioria dos membros da família Enterobacteriaceae, incluindo *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* Além das Enterobactérias, também possuem atividade significativa contra bactérias Gram-negativas não fermentativas comuns, incluindo *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia* (FALAGAS; KASIAKOU; SARAVOLATZ, 2005; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Por outro lado, algumas espécies são naturalmente resistentes, como *Proteus spp.*, *Morganella morganii*, *Providencia spp.*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas mallei*, *Burkholderia cepacia*, *Chromobacterium spp.*, *Edwardsiella spp.*, *Brucella*, *Legionella*,

Campylobacter e *Vibrio cholerae*. As polimixinas não são ativas contra cocos Gram-negativos, como a *Neisseria spp.*, Bactérias Gram-positivas e bactérias anaeróbias (FALAGAS; KASIAKOU; SARAVOLATZ, 2005; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Atualmente, é utilizada para o tratamento de infecções causadas por bacilos Gram-negativos multirresistentes, principalmente *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos. Estes microrganismos são responsáveis por diversas infecções, como as de corrente sanguínea, pneumonias, infecções do trato urinário, infecções de sítio cirúrgico, o que motiva o crescente uso das polimixinas no âmbito hospitalar. Há preocupação crescente sobre resistência deste antibiótico, por este motivo, tem sido sugerido seu uso em combinação com outros antimicrobianos, buscando um efeito sinérgico (FELICIANO).

Embora a resistência natural às polimixinas seja rara, a descoberta de um gene alocado em plasmídeo de resistência à colistina mobilizado (*mcr-1*) gerou uma preocupação significativa (LIN et al., 2018).

2.3.4 Gene *mcr-1*: Primeira descrição e epidemiologia

O gene *mcr-1* responsável pela resistência à colistina, foi relatado pela primeira vez em 2015 na China, por Liu e colaboradores (2015). Até 2015 acreditava-se que os únicos mecanismos de resistência às polimixinas eram mediados por mutações cromossomais. Durante a vigilância sobre a resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* comensal de animais para alimentação, em amostras de carne crua de porco, foi observado um grande aumento na resistência à colistina. Nesta cepa de *E. coli*, observou-se que a capacidade de resistir ao antibiótico poderia ser transferida para outra cepa, pois esta era mediada por plasmídeo. Alguns meses após o primeiro relato, o gene já havia sido descrito em 40 países, abrangendo 5 dos 7 continentes (LIU et al., 2015; OLIVEIRA, 2020; WANG et al, 2016).

Na América Latina a primeira publicação de *mcr-1* foi relatada em 2016, em isolados de *E. coli* em hospitais da Argentina, e logo depois encontrou-se em isolados no Brasil, sendo esses isolados os mais antigos da América Latina reportados até agora. Na América Latina, o país com a maior prevalência de *mcr* descrito é o Brasil (OLIVEIRA, 2020).

No Brasil, os primeiros relatos do gene *mcr-1* foram descritos por Fernandes *et al.* (2016), em estudo de vigilância para bactérias multirresistentes, detectando-se em *E. coli* em isolados de animais produtores de alimentos - suínos e galinhas, no sul (estados de Santa

Catarina e Paraná) e sudeste (estados de São Paulo e Minas Gerais) do país; após essas descobertas, diversos relatos no Brasil foram publicados. Além de amostras de animais, no Brasil foi descrito pela primeira vez, por Fernandes *et al.* (2016) em humanos, na ferida infeccionada de um paciente diabético, no Rio Grande do Norte – Nordeste (FERNANDES *et al.*, 2016a; FERNANDES *et al.* 2016b).

Outras publicações identificaram *mcr-1* nos estados de São Paulo, Espírito Santo, Pernambuco, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No estado de São Paulo detectou-se o gene *mcr-1* em *E. coli* e *Salmonella spp.* na carne de frango e em carcaças de carne suína, e também em praias públicas e amostras oriundas de pinguins. Na região nordeste, *E. coli* portadora de *mcr-1* foi isolada de bovino saudável e também de um ecossistema de mangue poluído. No estado do Rio Grande do Sul em carne congelada de suínos e isolados de *E. coli* detectados em galinhas (OLIVEIRA, 2020; DALMOLIN, 2015).

De acordo com Skov *et al.* (2016), o relato mais antigo do gene *mcr-1* é descrito na década de 80, em uma amostra de galinha, na China. Em seres humanos, o isolado mais antigo foi datado em 2008, no Vietnã. Sugerindo-se que o gene *mcr-1* tem estado presente em isolados coletados no passado, porém ainda não tinha sido descoberto (SKOV, 2016).

Até o momento são conhecidas 8 variantes do *mcr*, e pelo menos 13 variantes que diferem do *mcr-1* por apenas um nucleotídeo, sendo eles: *mcr-1.2*, *mcr-1.3*, *mcr-1.4*, *mcr-1.5*, *mcr-1.6*, *mcr-1.7*, *mcr-1.8*, *mcr-1.9*, *mcr-1.10*, *mcr-1.11*, *mcr-1.12* e *mcr-1.13*. O primeiro plasmídeo carreador do gene *mcr-1* descrito pertence ao grupo de plasmídeos IncI2; estudos posteriores indicaram que não é restrito apenas a esse grupo plasmidial, sendo encontrado também nos plasmídeos IncX4, IncHI2, IncF, IncHI1, IncP, IncY, IncFI e IncFIB (DALMOLIN, 2015).

A proteína MCR-1, que é codificada pelo gene *mcr-1*, é membro do grupo das enzimas fosfoetanolamina transferases, uma enzima intramembrana, e uma vez produzida o resultado fenotípico é a adição de 4-amino-arabinose ao lipídeo A, tornando o LPS mais catiônico, o que reduz a ligação da colistina com a membrana bacteriana, conferindo resistência. No entanto, os mecanismos estruturais e bioquímicos usados por esta enzima de membrana integral ainda são pouco conhecidos. A produção da proteína MCR pode levar a um aumento de 4 a 8 vezes os valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) das polimixinas (LIN *et al.*, 2018).

2.3.5 Disseminação do gene *mcr-1* via alimentos de origem animal

Ao contrário da medicina humana, na medicina veterinária a colistina tem sido muito utilizada por décadas com o objetivo de tratar e prevenir doenças infecciosas, e também como promotor de crescimento em aves e suínos. O uso principal está relacionado a infecções enterobacterianas e principalmente por infecções gastrointestinais causadas por *E. coli* em criadouros (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Por conta do uso indiscriminado de colistina em animais, a resistência à colistina devido ao gene *mcr* tem sido cada vez mais relatada entre cepas de *E. coli* patogênicas em criadouros, além disso, estudos relatam a possibilidade de transmissão horizontal de animais de fazenda para humanos na Ásia. Lentz *et al.* (2016) detectaram a presença em 10 de 343 amostras em isolados de *E. coli* de aves não expostas a polimixina, sugerindo-se assim, que no Brasil a disseminação do *mcr-1* pode não estar relacionada com o uso do antimicrobiano em fins zootécnicos (LENTZ *et al.*, 2016; POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

Além de animais de produção, há relatos de isolados de animais domésticos. Em Pequim, em 2017, foram identificados cães e gatos com *E. coli* e *K. pneumoniae* carreadoras do gene *mcr-1*, e a partir desses achados conclui-se que a origem de transmissão tenha sido a ração, e então passou-se para o ser humano (LEI *et al.*, 2017).

O gene *mcr* é o principal determinante de resistência às polimixinas em *E. coli*, é detectado com alta prevalência na agricultura principalmente na China. Outras espécies de Enterobactérias foram relatadas carregando o gene *mcr-1*, sendo encontrado em suínos, aves, carne para consumo, isolado clínicos e no ambiente. A identificação de *mcr* em gaivotas, e pinguins alerta a possibilidade da rápida disseminação global do gene, uma vez que, essas aves são capazes de migrar intercontinentalmente. Com isso, a OMS classificou as polimixinas como uma droga de alta prioridade, visando garantir seu uso adequado e prudente (OLIVEIRA, 2020).

Por conta da necessidade de manter a eficácia da colistina para tratar infecções em humanos, pelo fato de que há potencial para espalhar isolados resistentes à colistina de animais para humanos, e a recente identificação de organismos da família Enterobacteriaceae resistentes a colistina, seu uso na medicina veterinária está sendo reavaliado. Em países como Brasil e China, a colistina como aditivo alimentar para animais foi proibido (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017).

O surgimento do MCR-1 anuncia a violação do último grupo de antibióticos, as polimixinas. Os estudos ainda são recentes, há poucas pesquisas sobre, e as descobertas enfatizam a necessidade urgente de ação global na luta contra bactérias Gram-negativas multiresistentes a esses medicamentos (LIU et al., 2015; SHEN et al., 2017).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da leitura de artigos analisados neste trabalho, pode-se concluir que a resistência às polimixinas em bactérias Gram-negativas multirresistentes é um problema grave e crescente no Brasil e no mundo.

Tendo em vista os problemas de seu uso indiscriminado, é necessária a restrição do uso da colistina, visto que há potencial para espalhar isolados resistentes a esse antimicrobiano de animais para humanos. Sendo assim seu uso como aditivo alimentar para animais deve ser proibido em vários outros países, por conta da necessidade de manter a eficácia da colistina para tratar infecções multirresistentes em humanos.

Já que a terapia com polimixina é considerada o último recurso para tratamento de infecções multirresistentes, a prescrição dessa classe de drogas em alguns casos é inevitável. Além disso, há também a escassez de recursos terapêuticos sobre infecções multirresistentes, sendo assim, são necessários estudos nesta área, visto que é algo recente, e há urgente ação global na luta contra bactérias Gram-negativas multiresistentes a esses medicamentos.

É de extrema importância a triagem e detecção deste mecanismo de resistência pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), além de monitorar novos mecanismos de resistência, estratégias de contenção da bactéria e barrar o avanço de mais um mecanismo.

REFERÊNCIAS

- ANVISA, Resistência microbiana, mecanismos e impacto clínico, 2007.
- BASSETTI, M.; GINOCCHIO, F.; MIKULSKA, M. New treatment options against gram-negative organisms, **Crit Care**, v.15, n.2, pag. 215, 2011.
- BAHLIS, L. F., DIOGO, L. P., LEMONS, D., KLAUS, D. Fatores de risco associados à lesão renal aguda em pacientes tratados com polimixina B em um hospital terciário, UFRGS, 2015.
- COLISTEK, Bula. Disponível em:
<https://cdn.remediobarato.com/pdf/6ae9bbd1fa9ff9645dd9be764c42c27.pdf>
- COSTA, P. O.; ATTA, E. H.; SILVA, A. R. A. Infection with multidrug-resistant gram-negative bacteria in a pediatric oncology intensive care unit: risk factors and outcomes, **Jor. Pediatr.**, v.91, n.5, pag. 435-441, 2015.
- COSTA, F. Resistência a polimixina B em bactérias Gram-negativas Carbapenemos resistentes isoladas em hospitais do rio grande do norte, 2017.
- DERIS, Z. Z. et al. Probing the Penetration of Antimicrobial Polymyxin Lipopeptides into Gram-Negative Bacteria, **Bioconjugate Chem**, pag. 750–760, 2014.
- FALAGAS, M. E., KASIAKOU, S. K., SARAVOLATZ, L. D. Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections, **Clinical Infectious Diseases**, v.40, pag. 1333–1341, may. 2005.
- FELICIANO, C. S. Polimixinas.
- FERNANDES, et al. Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene, **Eurosurveillance**, v.21, n.17, apr. 2016a
- FERNANDES, et al. First Report of the Globally Disseminated IncX4 Plasmid Carrying the *mcr-1* Gene in a Colistin-Resistant *Escherichia coli* Sequence Type 101 Isolate from a Human Infection in Brazil, **Antimicrob Agents Chemother** v.60, n.10, pag. 6415–6417, oct. 2016b
- GALES, A. C., GIRARDELLO, R. Resistência às Polimixinas: velhos antibióticos, últimas opções terapêuticas, 2012.
- GUTIERREZ, C. et al. Genetic analysis of the first *mcr-1* positive *Escherichia coli* isolate collected from an outpatient in Chile, **The Brazilian Journal of Infections Diseases**, v. 23, n. 3, pag. 203-206, jun. 2019.
- GUIMARÃES, D. O; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes, **Quim. Nova**, V. 33, N. 3, 667-679, 2010.

- LENTZ, et al. Letter to the editor: Escherichia coli harbouring mcr-1 gene isolated from poultry not exposed to polymyxins in Brazil, **Euro Surveill**, v. 30, jun. 2016.
- LIN, et al. Mechanistic insights into transferable polymyxin resistance among gut bacteria, **J Biol Chem**, pag. 4350-4365, mar. 2018.
- LIU, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study, **Lancet Infect Dis**, v. 16, n. 2, pag. 161-168, 2015.
- LORENZONI, V. V. Epidemiologia e investigação de mecanismos de resistência aos carbapenêmicos e polimixinas em bacilos Gram-negativos multirresistentes, 2018.
- LOPES, H. P. et al. Detection of the mcr-1 gene in Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) and Shigatoxigenic E. coli (STEC) strains isolated from broilers, **Pesq. Vet. Bras.** v. 40, n.3, pag. 165-169, mar. 2020.
- MENDES e BURDMANN, Polimixinas: revisão com ênfase na sua nefrotoxicidade, **Rev Assoc Med Bras**, v.55, n.6, pag. 752-759, 2009.
- NAGANO, D. S. Caracterização epidemiológica e microbiológica da disseminação do gene de resistência plasmidial à colistina, mcr-1, no hospital das clínicas da FMUSP, 2019.
- NEVES, L., DARINI, A. L. C. Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos.
- POIREL, L., JAYOL, A., NORDMANN, P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes, **Clin Microbiol Rev**, v. 30, n. 2, pag. 557–596, apr. 2017.
- SAMPAIO, J. Recomendações atuais para testar a sensibilidade às polimixinas. Como fazer microdiluição em caldo na rotina de um laboratório de microbiologia? 2018.
- SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar, **Contexto Enferm**, v.13, p. 64-70, 2004.
- SHEIN, et al. *mcr-1* in *Enterobacteriaceae* from Companion Animals, Beijing, China, 2012–2016, **Emerg Infect Dis**, v.23, n.4, pag. 710–711, apr. 2017.
- SKOV, R. L. et al. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. **Euro Surveill**, v. 21, n. 9, p. 30155, 2016.
- OLIVEIRA, V. R., PAIVA, M., LIMA, W. G. Plasmid-mediated colistin resistance in Latin America and Caribbean: A systematic review, **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 31, 2019.
- OLIVEIRA, F. A. Detecção do gene mcr-1 em enterobactérias resistentes à colistina isoladas de amostras clínicas provenientes do complexo hospitalar da Unicamp, 2020.
- VIVAN, A. C. P. Caracterização molecular e estudo epidemiológico de isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* produtores de KPC-2 em um hospital universitário, 2012.