



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE  
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

**PATRÍCIA DA SILVA OLIVEIRA**

*NEW DELHI METALOBETALACTAMASE:*

**UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**CUITÉ-PB**

**2015**

**PATRÍCIA DA SILVA OLIVEIRA**

***NEW DELHI METALOBETALACTAMASE:***  
**UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau, pela Universidade Federal de Campina Grande no curso de Bacharelado em Farmácia.

**Orientadora:** Profa. Dra. Igara Oliveira Lima

CUITÉ-PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

O48n Oliveira, Patrícia da Silva.

*New Delhi Metalobetalactamase*: uma revisão bibliográfica. / Patrícia da Silva Oliveira. – Cuité: CES, 2015.

55 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientadora: Igara Oliveira Lima.

1. Resistência bacteriana. 2. *New Delhi Metalobetalactamase*. 3. Metalo –  $\beta$  - lactamases. I. Título.

CDU 579

PATRÍCIA DA SILVA OLIVEIRA

*NEW DELHI METALOBETALACTAMASE:*  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Aprovação em 12/02/2015

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Igara Oliveira Lima

(ORIENTADORA)

---

Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luis

(2º MEMBRO)

---

Profa. Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza

(3º MEMBRO)

CUITÉ-PB

2015

Dedico este trabalho a minha família  
em especial aquela que sonhou  
comigo muito antes de eu chegar até  
aqui, minha mãe.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, Ele que é a razão do meu existir.

Aos meus pais, Joelma Oliveira e Paulo Roberto, e irmãos, Cristiana Oliveira e Daniel Oliveira, pela confiança, apoio e dedicação.

A minha família, que sempre torceu pela minha vitória, me incentivou a nunca desistir dos meus objetivos e sempre contribuíram de todas as formas para que eu conseguisse concretizar esse sonho.

A todos os meus amigos, em especial os de infância, Luan Florêncio e Lúcia Quirino, e os que a vida acadêmica me deu, Diégina Araújo e Isack Pinto, que foram meu sustento nas batalhas durante esse período da minha vida, e estiveram ao meu lado em todos os momentos.

A minha orientadora Igara Lima, que me deu esta oportunidade, pela sua paciência e contribuição.

Ao Grupo de Oração Adorai, pelas suas orações e força que me deu ao longo dessa caminhada tão difícil principalmente por estar tão longe de casa.

A todos os meus companheiros e amigos da Residência Universitária com os quais dividi lutas e vitórias e que muito me ajudaram nos momentos difíceis dessa trajetória. A vocês o meu muito obrigado.

Aos todos os professores do Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande e as pessoas que contribuíram de forma direta e indireta para a elaboração deste trabalho.

*“Se eu vi mais longe, foi por estar  
sobre ombros de gigantes”*

Isaac Newton

## RESUMO

Inúmeros são os problemas que afetam o âmbito da saúde em todo o mundo, a existência de bactérias multirresistentes a antibióticos fazem parte desse contexto. Esse problema vem crescendo ao longo do tempo com mais intensidade, devido a muitos fatores, entre eles, o uso irracional de medicamentos e o desenvolvimento de mecanismos de resistência pelas bactérias como, por exemplo, o de produção de enzimas, como a *New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase* (NDM-1). Esta enzima teve sua ocorrência relatada pela primeira vez em 2009 em Nova Deli, na Índia, desde então inúmeros relatos tem ocorrido por todo o mundo inclusive no Brasil. Com o objetivo de analisar o mecanismo de ação dessa enzima, verificar onde ocorrem os principais casos, quais são as bactérias que expressam a enzima e se há perspectivas de desenvolvimento de fármacos que possam vir a ser usados no tratamento de infecções por bactérias carreadoras da NDM-1, foi realizada uma revisão bibliográfica acerca do tema em questão. A partir do estudo realizado, foi possível observar que a enzima apresenta um mecanismo de ação complexo envolvendo duas vias. Dentre as bactérias que carream a NDM-1, a *Klebsiella pneumoniae* e a *Escherichia coli* foram as mais relatadas. Relatos de casos envolvendo a NDM-1 ocorreram em todo o mundo, no entanto, com mais intensidade nos continentes asiático, africano e europeu. Medidas preventivas foram adotadas em inúmeros países, visto que ainda não foi desenvolvido um inibidor eficaz capaz de ser adotado na prática clínica. Estudos focados na descoberta de inibidores já estão em andamento, e com resultados bastante positivos. No entanto, o problema da resistência bacteriana ainda está muito longe de ser resolvido.

Palavras-chave: resistência bacteriana, *New Delhi metalobetalactamase*, metallo- $\beta$ -lactamases.



## ABSTRACT

Numerous are problems which affected the scope health in all the world, including the existence of bacteria multiresistant. This problem comes growing up at the to long to time intensely because of the irrational use of drugs, resulting on the development of mechanisms of resistance by the bacteria, for example, the production of enzymes how the New Delhi Metalo- $\beta$ -lactamase (NDM-1). This enzyme had yours occurrence reported for the first time in 2009 in New Delhi, in India, since then numerous reports there are occurred all over the world, including in Brazil. With the objective of to examine the mechanism action from that enzyme, to verify where occur the main cases, which are the bacteria that expressing the enzyme, and if there is prospects of development of drugs that may be used in the treatment infections by bacteria carrier of NDM-1, was performed a literature review about of theme concerned. From the study realized, was possible to observe that enzyme present a mechanism of action complex involving two ways. Among the bacteria that carted NDM-1, the *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* were the most frequently reported. Case reports involving NDM-1 occurred worldwide, however, with more intensity in Asia, Africa and Europe. Preventive measures were adopted in numerous countries, since it still are not developed one inhibitor effective able to be adopted in clinical practice. Studs focus on discovering of inhibitors already in progress and results very positive. However, the problem of resistance is still very far away to be resolved.

Keywords: Bacteria resistance, New Delhi metalobetalactamase, metalo- $\beta$ -lactamases.

## LISTA DE FIGURAS

1. **Figura 1:** Representação esquemática dos mecanismos de resistência: modificação do alvo de ação, bombas de efluxo, alteração da permeabilidade e a produção de enzimas.....14
2. **Figura 2:** Estrutura molecular da penicilina com anel  $\beta$ -lactâmico em destaque.....15
3. **Figura 3:** Hidroxilação da ligação amida no anel  $\beta$ -lactâmico por  $\beta$ -lactamase em uma cefalosporina.....16
4. **Figura 4:** Modelo tridimensional da enzima NDM-1 obtido através de modelagem por homologia.....21
5. **Figura 5:** Modelo tridimensional para a estrutura da enzima NDM-1 obtido por cristalografia. As  $\alpha$ -hélices estão representadas com cor azul clara, as  $\beta$ -folhas estão na cor verde. Os íons de zinco são representados como esferas ao passo que os outros resíduos que fazem parte do centro ativo estão representados por varas coloridas. A região correspondente ao sítio ativo está identificada por um círculo vermelho.....22
6. **Figura 6:** Estrutura cristalina do sítio ativo da NDM-1. Em destaque a região *loop* com os resíduos de metionina e glicina.....23
7. **Figura 7:** Mecanismo de hidrólise da NDM-1, podendo seguir por duas vias de acordo com o substrato envolvido na reação. Na via A observa-se a formação de um ânion intermediário de nitrogênio durante a reação com o nitrocefim, já na via B a ligação Carbono-Nitrogênio (CN) é quebrada imediatamente sem a formação do ânion de nitrogênio, resultado observado para a maioria dos outros substratos.....24

8. **Figura 8:** Sobreposição das estruturas cristalinas das enzimas NDM-1, VIM-2 e IMP-1. Pode-se observar que o N terminal da NDM-1 (em verde) é mais longo do que o das outras enzimas (VIM-2 em amarelo e IMP-1 em lilás).....25
9. **Figura 9:** Representação da epidemiologia das CPEs em 39 países da Europa e comparação da ocorrência da NDM-1 com KPC.....29
10. **Figura 10:** Gráfico do percentual das principais bactérias carreadoras da NDM-1. Dados baseados em publicações que relataram detalhadamente os casos clínicos.....33
11. **Figura 11:** Estrutura química dos compostos que apresentaram atividade inibitória para a enzima NDM-1.....40
12. **Figura 12:** Estruturas químicas dos compostos sintetizados por Zhang et al (2014), como potenciais inibidores de MBLs.....42

## LISTA DE QUADROS

1. **Quadro 1:** Microrganismos carreadores da enzima NDM-1 no Brasil no ano de 2013.....32
2. **Quadro 2.** Dados epidemiológicos referentes à detecção de NDM-1 nas diversas partes do mundo.....34

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**CcrA:** *Bacteriodes fragilis*

**CN:** Carbono-Nitrogênio

**CNE:** Centro Nacional de Enlace para o Regulamento Sanitário Internacional

**CPEs:** Carbapenemases

**ECA:** Enzima conversora de angiotensina

**ImiS:** *Aeromonas veronii*

**IMP-1:** Imipenemase

**IMP-1:** Imipenemase

**KPC:** *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

**L1:** *Stenotrophomonas maltophilia*

**LLA:** Leucemia Linfoblástica Aguda

**MBLs:** Metalobetactamases

**MS:** Espectrometria de Massas

**NDM-1:** *New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase*

**OPAS:** Organização Pan- Americana da Saúde

**PDB:** Banco de Dados de Proteínas

**PDB:** Banco de Dados de Proteínas.

**RMN:** Ressonância Magnética Nuclear

**VIM:** *Verona Integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
2.1. Objetivo geral: .....	18
2.2. Objetivos específicos: .....	18
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	20
4.1. Estrutura da NDM-1 .....	20
4.2. Mecanismo de hidrólise da NDM-1 .....	23
4.3. Algumas diferenças entre a NDM-1 e outras MBLs .....	24
4.4. Ocorrência da NDM-1 .....	26
4.5. Medicamentos usados no tratamento de pacientes com infecções causadas por bactérias carreadoras da NDM-1 .....	38
4.6. Pesquisas para o desenvolvimento de fármacos com ação antimicrobiana em bactérias expressando a NDM-1 .....	39
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	45
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	46

## 1. INTRODUÇÃO

O surgimento dos antibióticos propiciou à medicina um grande passo em sua história, pois ofereceu a possibilidade de cura para doenças infecciosas consideradas causa *mortis*; sendo notável, portanto, a importância desses fármacos para a saúde mundial (OLIVEIRA, 2006).

O desenvolvimento de fármacos antibacterianos efetivos foi acompanhado pela emergência de microrganismos resistentes aos fármacos. Isto não é inesperado, porque o curto tempo de geração de muitas das espécies bacterianas oferece ampla oportunidade para a adaptação evolutiva. O fenômeno da resistência impõe sérias restrições às opções disponíveis para o tratamento clínico de muitas infecções bacterianas. A resistência bacteriana é considerada um problema de saúde pública mundial, realidade para a qual têm sido propostas diversas iniciativas de controle (RANG; DALE, 2007; OLIVEIRA, 2008).

Inúmeros são os fatores que ocasionam a resistência bacteriana, no entanto, o uso excessivo e irracional dos antimicrobianos é sem dúvida a maior causa do problema que se tornou um dos grandes desafios da medicina (MEIRELES, 2008).

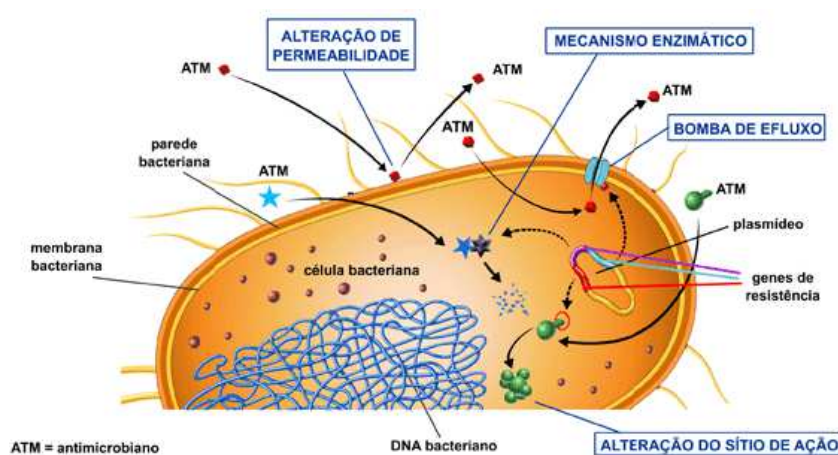
O surgimento de microrganismos multirresistentes, que são aqueles que apresentam resistência a vários antibióticos, é um fator preocupante, pois dificulta ainda mais o tratamento de infecções. Dentre os inúmeros exemplos de microrganismos multirresistentes se destacam: *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Escherichia coli*, sendo esta última, líder no que diz respeito à resistência a antibióticos (MEIRELES, 2008; COSTA, 2011).

A resistência de microrganismos a antibióticos é um fenômeno que ocorre tanto em bactérias gram-positivas quanto em gram-negativas. No entanto, as gram-negativas apresentam-se mais resistentes, isso possivelmente se deve ao fato da parede celular desses microrganismos serem mais complexas, dificultando a penetração de fármacos. Essas bactérias apresentam mecanismos de resistência de grande relevância, que podem levar a ineficácia terapêutica (RANG; DALE, 2007; TAFUR; TORRES; VILLEGAS, 2008).

Entre os mecanismos que conferem resistência aos antimicrobianos estão: modificação do alvo de ação, bombas de efluxo, alteração da permeabilidade e a

produção de enzimas conforme pode-se visualizar na Figura 1. A modificação no alvo ocorre quando há substituição de aminoácidos nas proteínas que são o alvo do antibiótico, tornando essa proteína menos susceptível a ligação com o antimicrobiano. Esse mecanismo é mais notório em bactérias gram-positivas, no entanto, também se observa em bactérias gram-negativas. As bombas de efluxo são proteínas responsáveis por bombear o antimicrobiano para fora da bactéria, o que modifica a especificidade do antibiótico (DIAS, 2009; COSTA, 2011).

**Figura 1:** Representação esquemática dos mecanismos de resistência: modificação do alvo de ação, bombas de efluxo, alteração da permeabilidade e a produção de enzimas.



(Fonte: [http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere\\_rm/cursos/rm\\_controlere/opas\\_web/modulo3/mecanismos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/mecanismos.htm))

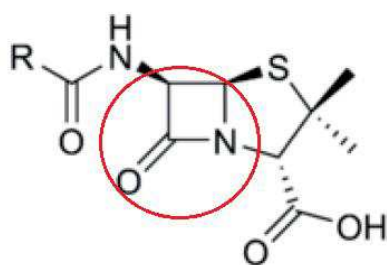
Outro mecanismo de resistência é a alteração na permeabilidade da membrana. A entrada de moléculas na bactéria ocorre através de proteínas de membrana que formam canais. Quando ocorre perda da função dessas proteínas, a permeabilidade reduzirá e conseqüentemente, ocorrerá diminuição na susceptibilidade a vários antibióticos. Esse processo ocorre na membrana externa das bactérias gram-negativas (DIAS, 2009).

Existem bactérias capazes de produzir enzimas específicas o que por sua vez ocasiona o progresso da infecção. A produção de enzimas responsáveis por inativar os antibióticos é o mecanismo de resistência mais preocupante, uma vez que são responsáveis por alterar o agente antimicrobiano em sua maioria agindo através da atividade hidrolítica. Os principais exemplos de enzimas responsáveis por essa ação são as carbapenemases (CPEs) e as  $\beta$ -lactamases (DIAS, 2009).



O surgimento de bactérias produtoras de CPEs vem crescendo ao longo do tempo. Esse grupo de enzimas é formado por algumas  $\beta$ -lactamases, são elas: penicilinases, metaloenzimas e oxacilinases. As mesmas tem em comum a capacidade de hidrolisar os carbapenens. Como os carbapenens são antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, pode-se afirmar que essas enzimas também podem hidrolisar penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos, pois ambas as classes possuem o anel  $\beta$ -lactâmico (Figura 2), formado por três átomos de carbono e um de nitrogênio, que é o alvo dessas enzimas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008; DIAS, 2009).

**Figura 2:** Estrutura molecular da penicilina com anel  $\beta$ -lactâmico em destaque.



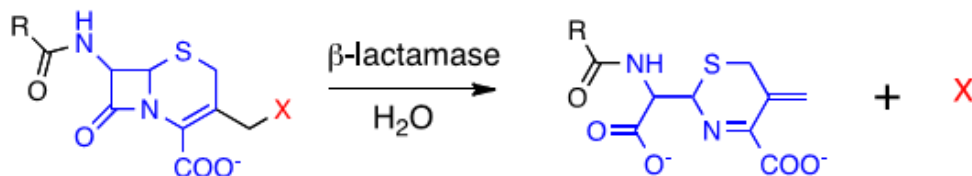
(ABREU, et al., 2012)

As bactérias gram-negativas tem nas  $\beta$ -lactamases o seu mecanismo de resistência mais importante. O índice de resistência que essas bactérias possuem depende do número de enzimas produzidas, da permeabilidade da membrana, e da capacidade de hidrólise da enzima. As  $\beta$ -lactamases são um grupo de enzimas capazes de tornar inativas as penicilinas, cefalosporinas e às vezes os monobactâmicos, elas provocam a abertura do anel  $\beta$ -lactâmico através da hidroxilação da ligação amida (Figura 3). Essa ação da  $\beta$ -lactamase no antibiótico varia com o tipo de  $\beta$ -lactamase e com substrato (SOUSA JÚNIOR; FERREIRA; CONCEIÇÃO, 2004; MEIRELES, 2008).

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos são uma alternativa eficiente e muito usada para tratamento de inúmeras infecções, no entanto, o aumento da sua utilização favorece o desenvolvimento de bactérias multirresistentes que apresentem esses mecanismos. Na última década, houve aumento significativo de bactérias resistentes a antibióticos, o que é muito preocupante visto que até para antibióticos usados como último recurso já

existem bactérias resistentes. Uma das novidades nesse contexto é a *New Delhi metalobetalactamase -1* (NDM-1) (MEIRELES, 2008; FUURSTED, et al., 2011).

**Figura 3:** Hidroxilação da ligação amida no anel  $\beta$ -lactâmico por  $\beta$ -lactamase em uma cefalosporina.



(FAST; SUTTON, 2013)

A NDM-1 é uma enzima responsável por tornar bactérias resistentes a maior parte dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, através da inativação por hidrólise. A existência da NDM-1 foi relatada pela primeira vez em 2009 quando um paciente da Suécia viajou para a cidade de Nova Deli na Índia onde adquiriu infecção do trato urinário provocada por *Klebsiella pneumoniae*. Após este primeiro caso, a enzima foi detectada em bactérias em toda a Índia, no Paquistão, Reino Unido, Estados Unidos, Canadá e Japão. O que possivelmente pode explicar a rápida propagação da superbactéria é o seu mecanismo de resistência combinado com a sua virulência intrínseca (ROLAIN; PAROLA; CORNAGLIA, 2010; WANG; CHOU, 2011).

Em 2010 na edição de agosto da revista *The Lancet: Infectious Diseases* houve relatos do aparecimento e propagação de 180 casos de pacientes infectados por bactérias que transportavam NDM-1, sendo 37 casos no Reino Unido e 143 casos em vários lugares do Paquistão e da Índia. Entre as bactérias detectadas com a enzima estavam presentes algumas espécies de enterobactérias: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *Proteus spp.*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii* e *Providencia rettgerie*. Geralmente, as bactérias que produzem a enzima NDM-1 são as gram-negativas, principalmente a *E. coli* e *K. pneumoniae* (ROLAIN; PAROLA; CORNAGLIA, 2010; WANG; CHOU, 2011).

A metalo- $\beta$ -lactamase foi detectada em várias partes do mundo, mas ainda não tinha sido registrada nenhuma notificação de detecção da NDM-1 na América Latina. No entanto, recentemente sua presença foi detectada em dois isolados de *K. pneumoniae*, na Guatemala. Para descobrir a origem do problema o Centro Nacional de

Enlace para o Regulamento Sanitário Internacional (CNE) da Guatemala, realizou inúmeras investigações (ANVISA, 2011).

No Brasil as carbapenemases mais detectadas em enterobactérias são as do tipo *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) e ainda não tinha ocorrido nenhuma detecção de NDM-1, mas recentemente foram notificados casos de bactérias produtoras de NDM-1 em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Os microrganismos identificados produtores da enzima foram a *P. rettgerie* e a *Enterobacter cloacae*. No intuito de controlar a disseminação do mecanismo de resistência no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) divulgou a nota técnica nº 01/2013 que dispõe de medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multirresistentes, mobilizando os profissionais e os estabelecimentos de saúde a seguirem medidas de controle e prevenção como, por exemplo, conscientização sobre a importância da higienização das mãos, acesso a equipamentos de proteção individual, isolamento de pacientes colonizados por microrganismos multirresistentes em área restrita, adoção de precauções de contato para os profissionais de saúde, visitantes e acompanhantes, entre outras, para que desse modo, seja evitada a ocorrência de mais casos. (ANVISA, 2011; BRASIL, 2013).

A rápida propagação da NDM-1 põe as autoridades mundiais da saúde diante de problemas que frequentemente ocorrem no que diz respeito à detecção de metalobetalactamases (MBLs), problemas estes que dificultam o diagnóstico e o possível tratamento das infecções causadas pelos microrganismos produtores dessas enzimas. Alguns desses problemas são: falta de um teste padrão para detecção de MBLs; escassez de antibióticos eficazes; possível existência de um alto número de portadores assintomáticos, o que dificulta a identificação das espécies bacterianas envolvidas. Além desses aspectos, a grande capacidade de disseminação entre várias bactérias gram-negativas diferentes colabora para a dificuldade de um possível esquema terapêutico adequado (ROLAIN; PAROLA; CORNAGLIA, 2010).

De acordo com o exposto acima, percebe-se quão grande é a importância que o conhecimento sobre as bactérias e seus mecanismos de resistência representa tanto para profissionais da saúde que lidam com a situação, como também para toda a sociedade uma vez que o problema não se restringe apenas a estabelecimentos de saúde. Além disso, o estudo sobre os mecanismos de resistência, em especial ao de produção de enzimas que é um dos mais preocupantes, contribui para melhorar as estratégias de combate às bactérias resistentes a antibióticos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral:**

Realizar uma revisão bibliográfica em artigos, periódicos e livros sobre a resistência bacteriana ocasionada pela enzima NDM-1.

### **2.2. Objetivos específicos:**

- Analisar detalhadamente o mecanismo de inativação enzimática promovida pela NDM-1;
- Verificar quais as principais bactérias que apresentam a enzima;
- Identificar onde ocorrem os principais casos clínicos;
- Verificar se há estudo e/ou produção de fármacos com ação antimicrobiana contra bactérias que carregam em si a NDM-1.

### **3. METODOLOGIA**

Realizou-se uma revisão bibliográfica através das fontes do LILACS, PubMed, Scielo, Science Direct e Periódicos CAPES, com pesquisa de artigos de 2004 à 2014 na internet usando os seguintes descritores: resistência bacteriana, mecanismos de resistência bacteriana, bactérias multirresistentes e *New Delhi betalactamase*.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Estrutura da NDM-1

As  $\beta$ -lactamases, enzimas responsáveis por hidrolisar a ligação amida dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, classificam-se em quatro classes de acordo com sua sequência e homologia. As classes A, C e D, são chamadas de serina- $\beta$ -lactamases, pois usam um resíduo de serina para realizar a hidrólise nos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. As enzimas da classe B são as MBLs que se caracterizam por possuir um ou dois íons de zinco em sua estrutura, sendo estes, indispensáveis para a sua atividade. A NDM-1 é uma enzima pertencente a esse grupo, e se tornou um grande problema uma vez que consegue hidrolisar até os  $\beta$ -lactâmicos mais potentes disponíveis para tratamento clínico (ZHU et al, 2013).

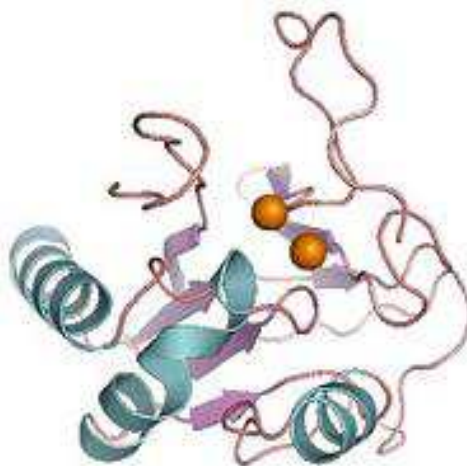
Baseado nas várias formas de ligação aos metais, as MBLs foram posteriormente subdivididas em três classes: B1, B2 e B3. A NDM-1 é uma enzima pertencente a classe B1, esse grupo se caracteriza por ter um ou dois átomos de zinco em seu sítio ativo, no entanto, a existência de um segundo átomo eleva a atividade enzimática. MBLs da classe B2 apresentam atividade com apenas um átomo de zinco ao contrário das enzimas da B3 que só são ativas se houver dois átomos de zinco presentes em seus sítios ativos. Essa diversidade estrutural de sítios ativos nas MBLs dificulta a dedução de um mecanismo de hidrólise comum que sirva de base para criação de fármacos inibidores (ZHANG; HAO, 2011).

O estudo da estrutura química da NDM-1 se faz muito importante uma vez que é necessário um modelo estrutural para melhor entendimento do mecanismo de hidrólise para superar o problema da resistência como também oferecer embasamento para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de resistir à hidrólise (WANG; CHOU, 2011).

Para se desenvolver um modelo da estrutura da NDM-1, Wang e Chow (2011) recorreram ao recurso da bioinformática estrutural que dispõe de ferramentas computacionais capazes de desenvolver estruturas químicas confiáveis que podem servir tanto para estudos como também no desenho de fármacos. Para obter o desenho da enzima, foi utilizada a modelagem por homologia, que usa como base uma proteína molde com características similares à de interesse, que já possua uma estrutura Tridimensional desenvolvida, e que as coordenadas cartesianas de seus átomos estejam

armazenadas em um Banco de Dados de Proteínas, PDB. Após todo o processo de montagem da estrutura conseguiu-se um modelo tridimensional que representasse a NDM-1, como podemos observar na figura 4 (VERLI, 2014).

**Figura 4:** Modelo tridimensional da enzima NDM-1 obtido através de modelagem por homologia.



(WANG; CHOU, 2011)

Assim como as outras MBLs, em seu sítio ativo a NDM-1 apresenta dois íons metálicos, representados na figura como duas esferas cor laranja, são os átomos de zinco essenciais para a atividade da enzima. Pelo modelo tridimensional da enzima podemos observar que ela possui três hélices e sete  $\beta$ -folhas (WANG; CHOU, 2011).

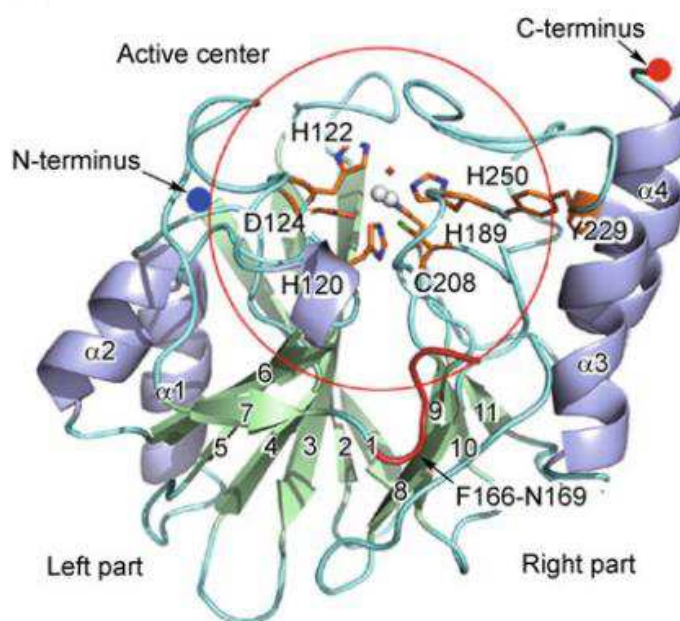
Guo et al (2011) também propuseram uma estrutura tridimensional para a NDM-1 obtida a partir de cristalografia, que é um método bastante eficaz para representar a estrutura tridimensional de enzimas e proteínas, pela disposição dos átomos em um arranjo cristalino. A estrutura proposta para a NDM-1 está representada na figura 5 (BORTOLOSSI, 2007).

A porção esquerda da molécula possui duas  $\alpha$ -hélices ( $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ ) e sete  $\beta$ -folhas ( $\beta_1$ -  $\beta_7$ ) dispostas de forma antiparalela. Na porção direita estão presentes duas  $\alpha$ -hélices ( $\alpha_3$  e  $\alpha_4$ ) e quatro  $\beta$ -folhas antiparalelas ( $\beta_8$ -  $\beta_{11}$ ), (Figura 5) (GUO et al, 2011).

Estudos realizados por Yong et al (2009) demonstraram que a NDM-1 possui alguns resíduos a mais no que diz respeito às outras MBLs, podendo estes, serem cruciais para a estrutura e função da NDM-1. Estes resíduos se localizam na região que interliga os subdomínios esquerdo e direito representado em vermelho na figura 5. Mas, ao se observar a estrutura cristalina da NDM-1 percebe-se que a região nas quais estes

resíduos estão localizados é muito distante do centro ativo da enzima, assim Guo et al (2011) concluíram que estes resíduos não estão diretamente envolvidos na reação da NDM-1 com os seus substratos.

**Figura 5:** Modelo tridimensional para a estrutura da enzima NDM-1 obtido por cristalografia. As  $\alpha$ -hélices estão representadas com cor azul clara, as  $\beta$ -folhas estão na cor verde. Os íons de zinco são representados como esferas ao passo que os outros resíduos que fazem parte do centro ativo estão representados por varas coloridas. A região correspondente ao sítio ativo está identificada por um círculo vermelho.

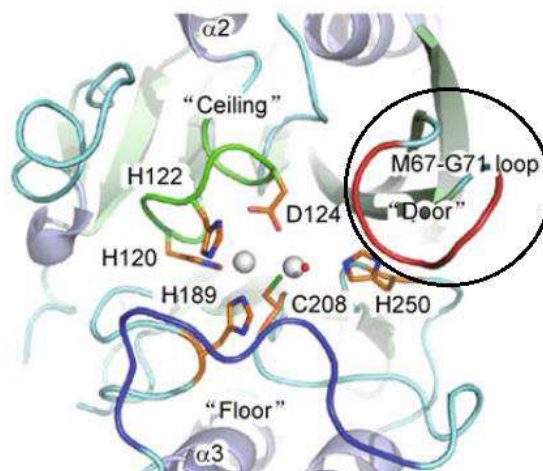


(GUO et al, 2011)

O sítio ativo da NDM-1 se localiza em um espaço entre  $\beta 5$ - $\alpha 2$  e  $\beta 10$ - $\alpha 4$  onde os átomos de zinco estão profundamente inseridos. Acima desse espaço há resíduos de metionina e treonina ao passo que, abaixo estão presentes resíduos de serina e aspartato. Ao lado do sítio ativo está presente uma região chamada *loop* contendo resíduos de metionina e glicina (Figura 6), que adotam uma forma de curva enquanto que nas outras MBLs da classe B1 este *loop* adota uma conformação linear. Com isso, Guo et al (2011) sugeriram que por ter essa conformação de curva, a região *loop* da NDM-1 apresenta uma maior flexibilidade durante a ligação com o substrato, mostrando que a NDM-1 pode apresentar um mecanismo enzimático diferente em relação as outras MBLs (GUO et al, 2011).



**Figura 6:** Estrutura cristalina do sítio ativo da NDM-1. Em destaque a região *loop* com os resíduos de metionina e glicina.



(GUO et al, 2011)

#### 4.2. Mecanismo de hidrólise da NDM-1

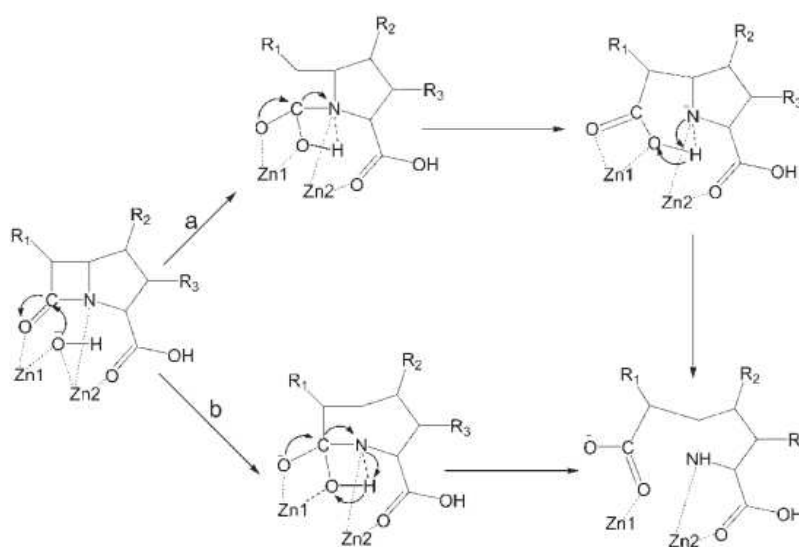
As  $\beta$ -lactamases, principais responsáveis pela resistência das bactérias aos antibióticos, podem agir de duas formas: usando a via éster-serina, ou usando íons de zinco para quebrar o anel  $\beta$ -lactâmico quando se trata de MBLs. Por apresentarem diferentes sequências de aminoácidos que determinam as estruturas dos seus sítios ativos, é difícil propor o mecanismo de hidrólise das MBLs, já que variam de uma enzima para outra. Essa é uma das razões que torna o espectro de ação dessas enzimas tão amplo (BERTONCHELI; HÖRNER, 2008; GRALHA, 2011).

Zhang e Hao (2011) fizeram vários estudos para tentar descobrir um mecanismo de hidrólise para a NDM-1. Nos experimentos eles utilizaram vários substratos, entre eles estava o nitrocefim. Este é um composto cromogênico amplamente utilizado para avaliar a ação terapêutica dos medicamentos frente à ação das  $\beta$ -lactamases. Durante a reação de catálise eles observaram que houve a formação de um ânion de nitrogênio intermediário, no entanto, para os outros substratos analisados não ocorreu a formação desse ânion. Desse modo, os autores propuseram um mecanismo de hidrólise composto por duas vias, conforme a Figura 7 (CHEONG et al, 2014).

Durante a reação de hidrólise, ocorre um ataque nucleofílico da hidroxila, presente entre os íons de zinco, no carbono da carbonila do anel  $\beta$ -lactâmico. Na via A, a ligação CN é instantaneamente desfeita produzindo um ânion intermediário de nitrogênio. Na via B ocorre um rearranjo através da protonação do átomo de nitrogênio,

não ocorrendo à produção do ânion. É importante salientar que em qualquer uma das vias o átomo de nitrogênio do anel  $\beta$ -lactâmico é protonado pela hidroxila. Como para a maioria dos substratos analisados não houve a formação do ânion intermediário, Zang e Hao (2011) sugeriram que a via B é preferível para explicar o mecanismo de hidrólise da NDM-1, e se mostra apropriado para todas as classes de MBLs.

**Figura 7:** Mecanismo de hidrólise da NDM-1, podendo seguir por duas vias de acordo com o substrato envolvido na reação. Na via A observa-se a formação de um ânion intermediário de nitrogênio durante a reação com o nitrocefim, já na via B a ligação Carbono-Nitrogênio (CN) é quebrada imediatamente sem a formação do ânion de nitrogênio, resultado observado para a maioria dos outros substratos.



(ZHANG; HAO, 2011)

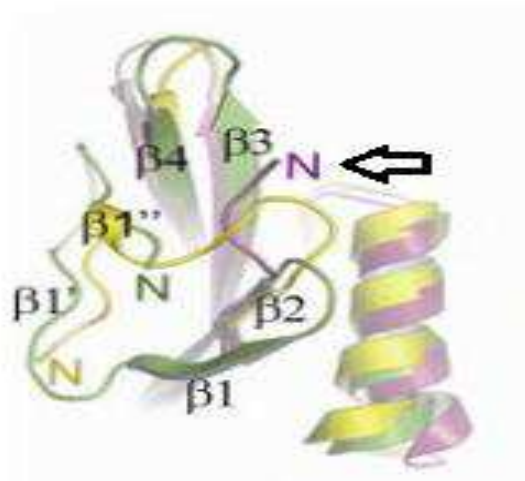
### 4.3. Algumas diferenças entre a NDM-1 e outras MBLs

Yong et al (2009) fizeram o alinhamento das sequências de aminoácidos da NDM-1 e comparou com outras MBLs. Com isso, eles notaram que a NDM-1 apresenta uma sequência nunca antes observada em nenhuma das outras MBLs. As que mais se assimilam com ela são as enzimas VIM-1 e VIM-2 (*Verona Integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase*) apresentando 32,4% de semelhança com a NDM-1. Além disso, observaram que em um determinado local da sequência de aminoácidos, a NDM-1 apresenta uma tirosina, sendo comum neste mesmo local as MBLs apresentarem um aminoácido de triptofano.

Zhang e Hao (2011) também obtiveram a mesma conclusão que Yong et al (2009). Observaram que a enzima que apresenta mais semelhança com a NDM-1 é a

VIM-2, havendo também outras, no entanto, com menos similaridade. Através desses dados eles resolveram sobrepor à estrutura cristalina da NDM-1 na das enzimas VIM-2 e IMP-1 (imipenemase) (Figura 8). A partir daí perceberam que o N terminal da NDM-1 é muito mais longo do que o da enzima VIM-2 e da IMP.

**Figura 8:** Sobreposição das estruturas cristalinas das enzimas NDM-1, VIM-2 e IMP-1. Pode-se observar que o N terminal da NDM-1 (em verde) é mais longo do que o das outras enzimas (VIM-2 em amarelo e IMP-1 em lilás).



(ZHANG; HAO, 2011)

Outra diferença foi observada por Guo et al (2011) quando estudaram o sítio ativo da NDM-1. Perceberam que esta enzima apresenta uma cavidade muito profunda no sítio ativo, em comparação com outras MBLs estudadas, supondo, desse modo, que este espaço maior fornece um melhor posicionamento do substrato no momento da catálise, podendo contribuir para o amplo espectro de atividade da NDM-1.

Estudos feitos por Yong et al (2009) demonstraram que a NDM-1 apresenta elevada tendência para se ligar a maioria das cefalosporinas especialmente a cefotaxima, cefalotina, cefuroxima como também as penicilinas o que geralmente não é observado para a maioria das MBLs.

Todas essas diferenças que a NDM-1 apresenta em relação a outras MBLs, só evidenciam ainda mais o potencial que a enzima apresenta em hidrolisar antibióticos, e mostra que medidas devem ser tomadas urgentemente para solucionar ou amenizar o problema da resistência causado pela NDM-1, uma vez que infecções ocasionadas por

bactérias que expressam a enzima supracitada podem se tornar uma pandemia e levar pacientes a óbito.

#### 4.4. Ocorrência da NDM-1

Infecções ocasionadas por organismos gram-negativos são de grande preocupação, visto as opções de tratamento que são limitadas, além dos gastos elevados com internações que nem sempre apresentam desfechos clínicos bem sucedidos (BUSHNELL; GOLD; MUNDY, 2013). Durante muito tempo, medicamentos usados como última escolha para tratar essas infecções, como por exemplo, os carbapenens, estavam sendo usados com sucesso, no entanto, a resistência a essas drogas surgiu em todo o mundo devido principalmente a produção de (CPEs) como a KPC e ultimamente a NDM-1 que desde sua primeira ocorrência vem sendo detectada cada vez em mais países (ROZALES et al, 2014).

A ocorrência da NDM-1 não se restringe apenas a uma espécie bacteriana, na realidade trata-se de um elemento genético transmissível que codifica os genes responsáveis pela resistência e se propaga entre as diversas estirpes de bactérias. Relatos de microrganismos com resistência adquirida vem se tornando cada vez mais comum o que gera grande preocupação principalmente quando se refere a CPEs pois nesses casos, o tratamento se torna difícil devido às poucas alternativas disponíveis para o uso clínico (MOELLERING JÚNIOR, 2010; BUSHNELL; GOLD; MUNDY, 2013; ROLAZES et al 2014; ZEB et al 2014).

Diversos autores realizaram estudos relatando casos de indivíduos infectados por bactérias que expressam a enzima NDM-1. O primeiro caso envolvendo NDM-1 foi registrado na cidade de Nova Deli na Índia, em um paciente Sueco que viajou para a cidade e adquiriu uma infecção urinária causada por *K. pneumoniae* resistente a todos os antibióticos testados, exceto colistina. Desde esse relato, vários outros casos foram registrados, e hoje já é possível afirmar que existem bactérias expressando NDM-1 em todos os continentes do mundo (ROLAIN; PAROLA; CORNAGLIA, 2010).

Kumarasamy et al (2010) relataram o surgimento da NDM-1 na Índia, no Reino Unido e no Paquistão. O que provavelmente impulsionou a disseminação da enzima nesses países foi às viagens e migrações de pessoas a esses lugares o que permite que plasmídios bacterianos sejam transportados entre países e continentes. Um editorial publicado em 2010 pela *Assoc Physician India* ressaltou que o uso indiscriminado de antibióticos vendidos sem receita na Índia, é um fator que contribui seriamente para a

ocorrência de resistência, e que a NDM-1 se tornaria um problema bem mais relevante no futuro, uma vez que poucos antibióticos estão sendo desenvolvidos para tratar infecções envolvendo a enzima, e não bastou muito tempo para que se pudesse perceber a amplitude do problema, pois como se sabe houve ampla disseminação da enzima por todo o mundo.

O surgimento da NDM-1 no Reino Unido foi motivo de grande preocupação, o que levou o ministério da saúde a divulgar um alerta nacional de resistência. Em 2009 a NDM-1 foi considerada a CPE produzida por *Enterobacteriaceae* mais incidente no país, o que equivaleu a 44% das CPEs relatadas, isso em apenas um ano desde sua primeira detecção. O Reino Unido foi o primeiro país ocidental a registrar a presença de bactérias expressando NDM-1, mas não por muito tempo em seguida foram registrados casos na Suécia e em inúmeros outros países da Europa, entre eles a Áustria, Bélgica, França, Holanda e Alemanha (KUMARASAMY et al, 2010; ROLAIN; PAROLA; CORNAGLIA, 2010; CHAN et al, 2011).

Chan et al (2011) relataram o primeiro caso de mortalidade devido a complicações de quadro clínico de uma paciente que apresentou sepse por *E. coli* positiva para NDM-1. Este fato ocorreu em uma paciente natural de Bangladesh, que foi hospitalizada em Dhâka onde foi diagnosticada com Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), e posteriormente recebeu tratamentos com inúmeros antibióticos em Cingapura, onde foi comprovada a existência da NDM-1 em amostras da paciente. Antes de 2010, havia poucos relatos de casos envolvendo CPEs em Cingapura, no entanto, essa situação mudou drasticamente e até 2013 já haviam sido detectados vários tipos de CPEs incluindo a NDM-1 (TEO et al, 2014).

Em 2010, Wu et al (2010) relataram a ocorrência do primeiro caso envolvendo a NDM em Taiwan, algo que já era esperado uma vez que viagens de pessoas desse local para Índia são muito comuns e também, as bactérias que geralmente expressam a enzima são comuns da flora intestinal. Neste mesmo ano, ocorreram os primeiros relatos de infecções apresentando bactérias com NDM-1 no Vietnã, no entanto, ao contrario do que foi descrito até agora, os indivíduos dessa localidade não apresentavam histórico de viagens internacionais, o que é bastante alarmante visto que nesse país bactérias gram-negativas multirresistentes são uma das principais preocupações (HOANG et al, 2013).

Além de inúmeros outros casos relatados, houve também ocorrências no Japão e na china sendo que, neste último nem o individuo acometido de infecção nem seus

familiares haviam feito viagens à Índia ou a outro país, o que deixa claro que providências tem que ser tomadas para prevenir futuras infecções em ambientes hospitalares, uma vez que a ocorrência de casos com NDM-1 não está restrita a pessoas que fizeram viagens aos países com maior incidência de resistência devido a NDM-1 (YAMAMOTO et al, 2011; LIU et al, 2013).

Em relação aos episódios envolvendo NDM-1 na Europa, Halaby et al (2012) relataram a ocorrência de casos em pessoas que haviam viajado para região dos Balcãs, sem indício de viagem a Índia ou ao continente asiático. Entre os casos relatados, há um caso onde provavelmente houve transmissão secundária relacionada a NDM-1, o que indica que a região pode ser um reservatório de bactérias contendo a enzima (HALABY et al, 2012). Como a maioria dos casos de ocorrência da enzima na Europa foram de pessoas que viajaram a países da região dos Balcãs como a Sérvia, e da Índia, se faz importante que seja feito um monitoramento nessas localidades visto que são regiões com grande potencial de ocasionar epidemias (JOVCIC et al, 2011).

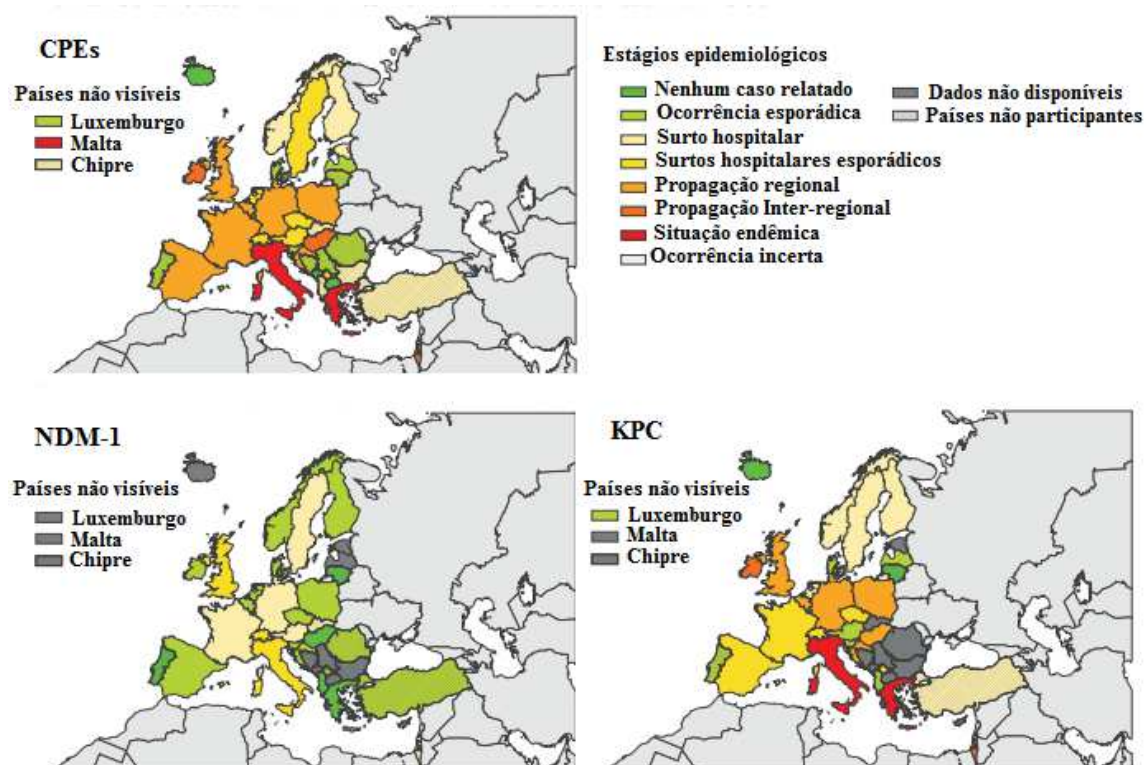
Outros autores também relataram a ocorrência de casos com a enzima na Itália, Suíça, Espanha, Noruega e em São Petersburgo na Rússia, sendo que, neste último houve surtos de infecções com bactérias transportando a NDM-1 em pelo menos três hospitais. Peritos europeus realizaram uma avaliação epidemiológica no local e observaram que os casos ocorridos foram em hospitais pertencentes a uma mesma rede institucional de referência na região, sugerindo uma transmissão interinstitucional. Em países vizinhos a São Petersburgo como a Finlândia, Noruega e Suécia, a ocorrência da NDM-1 é significativamente menor, mas isso não indica que a situação não seja motivo de preocupação, na realidade são necessárias a adoção de medidas que visem a prevenção de uma epidemia na região (SAMUELSEN et al, 2010; POIREL et al, 2011; OTEO et al, 2012; AGEEVETS et al, 2014).

Em fevereiro de 2013 peritos nacionais de 39 países europeus foram convidados a fazer uma avaliação sobre a situação epidemiológica do continente em relação às CPEs. Essa avaliação culminou em resultados de ampla relevância. O estudo retratou que a *K. pneumoniae* é a espécie de enterobacteriaceae que mais produz CPEs em todo o continente e que a NDM-1, mesmo sendo a responsável por vários surtos hospitalares ocorridos em vários países, não apresentou uma ampla distribuição (Figura 9) em relação à outras CPEs como a KPC (GLASNER et al, 2013).

Algo muito positivo que ocorre na Europa é que dos 39 países que participaram do estudo de Glasner et al (2013) a maioria possui um sistema de vigilância específico

para CPEs, além de laboratórios próprios para a detecção desse tipo de enzima, o que mostra que as autoridades da saúde realmente consideram a ocorrência de CPEs como uma ameaça a saúde da população. Glasner et al (2013) ressaltaram ainda em seu estudo que para impedir o estabelecimento das CPEs, é imprescindível que haja detecção precoce através de bons diagnósticos, além de conter a disseminação através de medidas de controle eficazes.

**Figura 9:** Representação da epidemiologia das CPEs em 39 países da Europa e comparação da ocorrência da NDM-1 com KPC.



(GLASNER et al, 2013)

Da mesma forma que nos outros continentes, a África também apresentou inúmeros casos envolvendo a enzima. Shibl et al (2013) relataram o primeiro caso da ocorrência da NDM na Arábia Saudita. Houve também relatos de ocorrência em Kuwait, Omã, Israel, Emirados Árabes Unidos, Iraque entre outros. Mesmo a Índia e o Paquistão sendo considerados os principais reservatórios de organismos produtores de NDM-1, o Oriente Médio pode ser considerado um reservatório secundário para propagação do gene que codifica a resistência, visto que há um amplo fluxo de pessoas

que viajam entre a Arábia e a região indiana. Já nos Emirados Árabes Unidos, Oriente Médio, para a maioria dos isolados apresentando a enzima, apenas em alguns casos, indivíduos apresentam histórico de viagens às regiões endêmicas, ao passo que outros foram decorrentes de infecção hospitalar, sugerindo que a resistência está estabelecida em cepas de bactérias locais, reforçando a hipótese de que essa região seja um reservatório de organismos carreadores de resistência mediada por NDM-1 (SONNEVEND et al, 2013).

Lowman et al (2011), Halevi et al (2013) e Mesli et al (2013), relataram a ocorrência de NDM-1 em Israel, na África do Sul e na Argélia, respectivamente. Estes autores ressaltaram que a adoção de medidas de controle de infecção é essencial para que não ocorra a disseminação da NDM-1 nesses países, pois o tratamento com medicamentos é bastante limitado, enfatizando a prevenção como a melhor decisão a ser adotada. Um exemplo disso ocorreu em Israel onde houve a detecção da NDM-1 em uma instituição médica, no entanto, não houve disseminação, isso provavelmente se deve a implementação de medidas de controle adotadas em 2006 pela instituição após um surto de bactérias carreadoras da KPC.

Além dos continentes mencionados anteriormente, a NDM-1 também foi detectada na Austrália (Oceania). Como esse continente é muito distante das regiões endêmicas, a ocorrência provavelmente se deve ao fato de que o paciente do qual foi isolada a estirpe resistente, tinha sido anteriormente hospitalizado em Bangladesh (Ásia), região que já apresentou inúmeros casos (POIREL et al, 2010).

Na América do norte, foram reportados casos de ocorrência da enzima, nos Estados Unidos, México e Canadá. Em Ontário, no Canadá, foram relatados casos envolvendo a enzima em pessoas que possuíam histórico de viagem a Índia, no entanto, Kus et al (2011) relataram o primeiro caso de infecção por organismo carreador da NDM-1 adquirido no próprio Canadá. Nos Estados Unidos Mochon et al (2011) relataram em sua publicação a ocorrência de casos envolvendo NDM-1, onde um dos pacientes apresentava pneumonia causada por *K. pneumoniae* contendo o gene blaNDM-1, algo até então não reportado (SEIJA et al, 2014).

A Guatemala, pertencente à América Central, foi o primeiro país Latino americano a apresentar casos de infecção por bactérias carreadoras da NDM-1, algo muito preocupante tanto para o país como para as regiões vizinhas. Os indivíduos que apresentaram os isolados positivos para NDM-1, não haviam feito nenhuma viagem aos países endêmicos, e as cepas de *K. pneumoniae* NDM-1 positivas possuíam o mesmo



tipo clonal, no entanto, os casos não apresentavam nenhuma ligação epidemiológica, desse modo subte-se que essa cepa resistente já estava disseminada de maneira sutil em toda a Guatemala. A partir desse momento, estudos mais aprofundados começaram ser realizados com o objetivo de avaliar a origem do problema. A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) emitiu um alerta regional para reforçar a supervisão de CPEs na América Latina (PASTERAN et al, 2012).

Na América Central e América Latina apenas no México, Jamaica, Guatemala, Honduras, Colômbia, Paraguai e Brasil houve publicações que reportassem os casos de NDM-1. Mas, em uma atualização epidemiológica da OPAS, foi relatada também a presença de isolados contendo NDM-1 na Costa Rica, Nicarágua, Argentina e Uruguai (SEIJA et al, 2014).

Na América do Sul o primeiro relato de ocorrência da enzima se deu no Uruguai em 2012, em isolados de *P. rettgeri* (ASSEF et al, 2013). Em 2013 ocorreu nova detecção, desta vez em estirpes de *K. pneumoniae* na Colômbia, onde Pérez et al (2013) relataram um surto em unidade neonatal. Em seus estudos, os autores perceberam que os isolados apresentavam genes em comum, indicando que supostamente os isolados pertencem a um mesmo clone, e com isso pode-se supor que as bactérias foram transmitidas entre os pacientes internados no mesmo ambiente, pois investigações foram realizadas em outros locais do mesmo hospital e não foi detectada a presença de nenhum organismo contendo a NDM-1. Devido a esse acontecimento a Instituição mobilizou os profissionais do hospital, incluindo a equipe de limpeza, onde todos foram alertados sobre o surto e receberam informações sobre a importância da higienização das mãos, a vigilância epidemiológica foi intensificada, e não houve a ocorrência de novos casos na instituição (PÉREZ et al, 2013).

No início de 2013 foi detectado o primeiro caso de ocorrência da NDM-1 no Rio Grande do sul, Brasil. A estirpe bacteriana carreadora de NDM-1 foi isolado de um paciente com pé diabético, após o crescimento da cultura observou-se que se tratava de *P. rettgeri* carbapenem resistente. É interessante observar que essa mesma espécie foi detectada no Uruguai, país vizinho ao Rio Grande do Sul, onde ocorreu a primeira detecção de NDM-1 na América do sul, porém, não se pode afirmar que a cepa seja originária do Uruguai, para isso seria necessário à realização de uma tipagem molecular para avaliar se as cepas são do mesmo tipo clonal, e também se deve levar em consideração que não houve históricos de viagens internacionais (ASSEF et al, 2013).

Após a primeira detecção de bactérias carreadoras de NDM-1 no Brasil, Rozales et al (2014) realizaram um estudo em 17 hospitais do Rio Grande do Sul. Das 1134 amostras analisadas, 11 apresentaram o gene blaNDM, que foi detectado em *P. rettgeri*, *E. cloacae* e *M. morgani*. Sendo as duas últimas espécies diferentes da relatada por Assef et al (2013). É interessante observar que em todo o mundo a NDM-1 foi isolada em sua maior parte de *K. pneumoniae* e *E. coli*, ao passo que no Brasil houve a detecção em bactérias que raramente foram relatadas apresentando NDM-1.

A partir do primeiro caso, em abril de 2013 houve a ocorrência de mais quatro casos confirmados em Porto Alegre, onde em um deles houve óbito. Ocorreram também em agosto deste mesmo ano a identificação de dois pacientes com isolados apresentando NDM-1 no Rio de Janeiro, e dois em Brasília, o quadro 1 apresenta dados referentes a esses casos ocorridos no Brasil em 2013 (CARNEIRO et al, 2014).

**Quadro 1:** Microrganismos carreadores da enzima NDM-1 no Brasil no ano de 2013.

Estado	Nº de casos	Materiel biológico	Microrganismo
Porto Alegre (RS)	1º	Swab retal	<i>Enterobacter cloacae</i>
	2º	Fragmento do tendão	<i>Providencia rettgeri</i>
	3º	Swab retal	<i>Enterobacter cloacae</i>
	4º	Swab retal	<i>Enterobacter cloacae</i>
Rio de Janeiro (RJ)	1º	Swab retal	<i>Escherichia coli</i> e <i>Enterobacter cloacae</i>
	2º	Swab retal	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Brasília (DF)	1º	Trato urinário	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	2º	Trato urinário	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

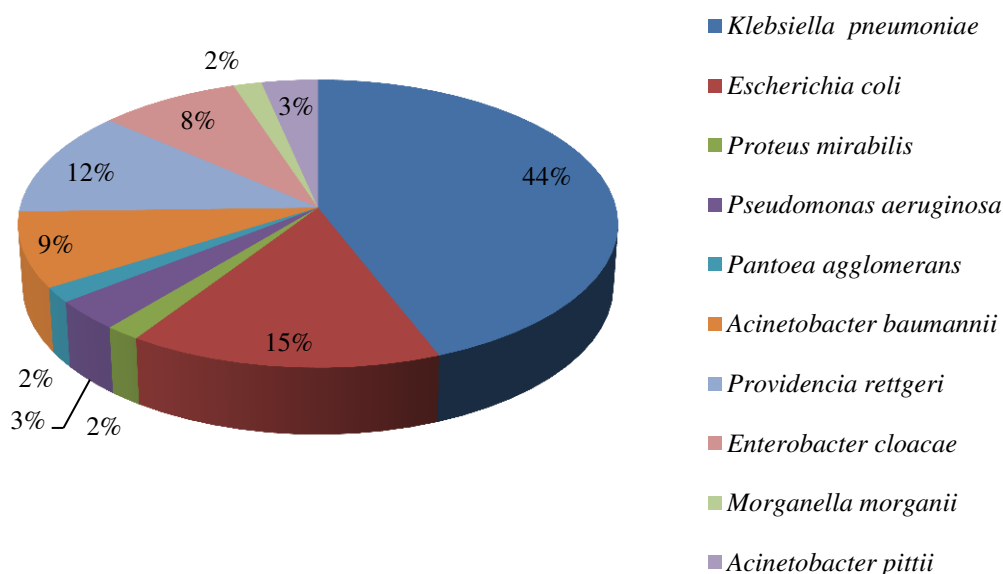
(CARNEIRO et al, 2014)

No Brasil, a ANVISA acompanhou os casos de ocorrência da NDM-1 desde 2010. Em dezembro de 2012, foi emitido um comunicado alertando sobre a possível ocorrência de casos envolvendo NDM-1 no Brasil, uma vez que em países vizinhos já havia sido reportada a presença de estirpes bacterianas apresentando a enzima (CARNEIRO et al, 2014).

Como se pode observar na Figura 10 as bactérias *K. pneumoniae* e *E. coli* apresentam maior incidência entre os isolados coletados no mundo inteiro, 44% e 15% respectivamente, elas foram detectadas no primeiro caso em Nova Deli (POIREL et al,

2011). Ambas são bactérias gram-negativas da flora intestinal normal. Além das bactérias apresentadas no gráfico, há relatos da presença da NDM-1 também em *K. oxytoca*, *Stenotrophomonas maltophilia*, e *Citrobacter freundii* (LIU et al 2013).

**Figura 10:** Gráfico do percentual das principais bactérias carreadoras da NDM-1. Dados baseados em publicações que relataram detalhadamente os casos clínicos.



No quadro 2 estão retratados alguns dos casos clínicos ocorridos no Brasil e no mundo, sendo relatada além da espécie bacteriana envolvida no caso, a condição clínica que os indivíduos apresentavam durante a hospitalização, o material biológico usado no isolamento das bactérias, número de indivíduos acometidos com organismos carreadores da NDM-1 sendo relata também a quantidade de óbitos ocorridos.

**Quadro 2:** Dados epidemiológicos referentes à detecção de NDM-1 nas diversas partes do mundo.

Continua

Local (País/ Cidade)	Espécie bacteriana	Condição clínica	Material biológico analisado	Indivíduos Acometidos/ óbitos	Referência
<b>ÁFRICA</b>					
África do Sul	<i>K. pneumoniae</i>	Tosse produtiva	Escarro	1/ 0	Lowman et al 2011
Israel	<i>P. rettgerii</i>	-	-	5/ 0	Halevi et al 2013
<b>AMÉRICA CENTRAL</b>					
Guatemala	<i>K. pneumoniae</i>	Pneumonia e choque séptico Trauma por arma de fogo	- Secreção traqueal	2/ 1	Pasteran et al 2012
Honduras	<i>A. baumannii</i>	Peritonite bacteriana	Líquido peritoneal	1/ 0	Waterman et al 2013
<b>AMÉRICA DO NORTE</b>					
Canadá/ Ontário	<i>K. pneumoniae</i>	Infecção urinária	Urina	3/ 0	Tijet et al 2011
	<i>M. morgani</i>	Colecistite aguda	Urina		Kus et al 2011
	<i>P. rettgerii</i>	Bexiga neurogênica	Urina		
Estados Unidos	<i>E. coli</i>	-	Urina	4/ 0	Mochon et al 2011
	<i>E. cloacae</i>	-	Urina		
	<i>K. pneumoniae</i>	Pneumonia	Urina		
<b>AMÉRICA DO SUL</b>					
Brasil/ Brasília	<i>K. pneumoniae</i>	-	Urina	2/ 0	Carneiro et al 2014

**Quadro 2:** Dados epidemiológicos referentes à detecção de NDM-1 nas diversas partes do mundo.

Continuação

Brasil/ Porto Alegre	<i>P. rettgeri</i>	Infecção do pé diabético	Fragmento do tendão	4/ 1	Rozales et al 2014 Carneiro et al 2014 Brasil 2013
	<i>E. cloacae</i>	DM, obesidade HA, cardiopatia.	Swab retal		
		HIV e bronquite crônica	Swab retal		
		Neoplasia maligna do intestino delgado, retroperitônio, peritônio e de colón	Swab retal		
Brasil/ Rio de Janeiro	<i>E.coli</i>	-	Swab retal	2/ 0	Carneiro et al 2014
	<i>E. cloacae</i>	-	Swab retal		
	<i>K. pneumoniae</i>	-	Swab retal		
Colômbia/ Bogotá	<i>K. pneumoniae</i>	Enterocolite	-	6/ 2	Pérez et al 2013
		-	Sangue		
		Encefalopatia hipóxico isquêmica	Sangue		
		Asfixia perinatal grave	Sangue		
		Síndrome do desconforto respiratório	Sangue		
Corioamnionite materna	Sangue				
Paraguai	<i>Acinetobacter pittii</i>	Encefalite aguda	Fluido cérebro espinhal	2/ 1	Pasteran et al 2014
<b>ÁSIA</b>					
China	<i>E. coli</i>	-	Escarro, sangue e	4/ 0	Chen et al 2011
	<i>A. baumannii</i>	-	secreção		

**Quadro 2:** Dados epidemiológicos referentes à detecção de NDM-1 nas diversas partes do mundo.

Continuação

China/ Pequim	<i>E. coli</i>	Pé diabético	Secreção da úlcera	1/ 0	Liu et al 2013
Cingapura/ Dhâka	<i>E. coli</i>	LLA	Sangue	1/ 1	Chan et al 2011
Índia/ Nova Delhi	<i>K. pneumoniae</i>	Infecção urinária	Urina	1/ 0	Yong et al 2009
Índia/ Pune	<i>Pantoea agglomerans</i>	Septicemia	Sangue	1/ 0	Khajuria et al 2014
Taiwan	<i>K. pneumoniae</i>	Lesões por arma de fogo	Urina, fezes e pus	1/ 0	Wu et al 2010
Vietnã	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>	Febre e dor abdominal Infecção urinária	Urina Urina	2/ 0	Hoang et al 2013
<b>EUROPA</b>					
Áustria/ Graz	<i>K. pneumoniae</i>	Fraturas expostas Abscessos intra-abdominais	Swab de úlcera, fezes Fezes, swab de ferida abdominal e garganta	2/ 0	Zarfel et al 2011
Espanha/ Madrid	<i>K. pneumoniae</i>	Abcesso abdominal	Fluido peritoneal	1/ 0	Oteo et al 2012
Holanda	<i>K. pneumoniae</i>	Infecção urinária Exacerbação Pulmonar	Urina, swab retal e de garganta Urina	2/ 1	Halaby et al 2012
Noruega	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>	Urosepse Cirurgia ortopédica	Urina e sangue Urina	2/ 0	Samuelsen et al 2010

**Quadro 2:** Dados epidemiológicos referentes à detecção de NDM-1 nas diversas partes do mundo.

Conclusão

Sérvia/ Belgrado	<i>P. aeruginosa</i>	Abscesso intra-abdominal Carcinoma intestinal	Urina Ferida	2/ 2	Jovcic et al 2011
Genebra/ Suíça	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i>	- - -	Fezes Urina Fezes	4/ 0	Poirel et al 2011
<b>OCEANIA</b>					
Austrália/ Sydney	<i>E. coli</i>	Pneumonia	Urina	1/ 0	Poirel et al 2010

#### **4.5. Medicamentos usados no tratamento de pacientes com infecções causadas por bactérias carreadoras da NDM-1**

Infecções ocasionadas por superbactérias são extremamente difíceis de tratar, uma vez que expressam genes que determinam resistência tornando-as incombateáveis. As bactérias carreadoras de NDM-1 estão nesse contexto. Foram usados inúmeros antibióticos durante o tratamento dos indivíduos acometidos por organismos contendo NDM-1. A maioria das cepas só foram sensíveis a polimixinas, aztreonam e tigeciclina (ZARFEL et al, 2011; OTEO et al, 2012;). Mas houve casos em que as bactérias demonstraram possuir resistência até a esses antibióticos. Durante as análises das bactérias contendo a NDM-1, foi observado que possuíam resistência aos mais diversos tipos de antibióticos como penicilinas, cefalosporinas, ciprofloxacina, gentamicina, carbapenens, sulfonamidas, minociclina além de outros antibióticos que são usados normalmente na terapia de infecções (CHEN et al, 2011; POIREL et al, 2011).

Deve-se salientar que o sucesso do tratamento com antibióticos depende, além do perfil da espécie bacteriana envolvida, de forma imprescindível da condição clínica na qual o paciente se encontra. Como por exemplo, no caso relatado por Chan et al (2011) onde o paciente se apresentava imunodeprimido, em inúmeras internações recebeu vários antibióticos e por fim desenvolveu sepse e recebeu altas doses de polimixina, a sepse foi tratada no entanto o caso evoluiu devido a nefrotoxicidade que este medicamento possui, levando a necessidade de transplante renal urgente (CHAN et al, 2011). Já no caso mostrado por Pasteran et al (2012) um paciente acometido de pneumonia, e apresentando sepse foi tratado com inúmeros antibióticos como vancomicina e meropenem recebeu alta depois do tratamento com piperacilina, tazobactam e amicacina (PASTERAN et al, 2012). Os antibióticos que mais participaram do sucesso de inúmeros casos foram o aztreonam, colistina, tigeciclina, fosfomicina, e polimixina B. (CHEN et al 2011; TIJET et al 2011; OTEO et al, 2012; LIU et al 2013; KHAJURIA et al, 2014).

É interessante notar que medidas simples como uso racional de antimicrobianos, lavagem das mãos, limpeza e desinfecção de superfícies, adoção de protocolos sobre cuidado e prevenção de infecções, onde não são necessários grandes investimentos, podem contribuir de maneira altamente significativa no controle de infecções. Pode-se perceber que essas medidas são realmente eficazes pelo resultado apresentado nas instituições onde as mesmas foram adotadas. Cabe a cada profissional que trabalha em



ambientes hospitalares se conscientizarem de sua função, e realizar o seu trabalho de maneira consciente e correta pra que o estado de saúde dos pacientes não seja comprometido pela ocorrência de infecções hospitalares (CARNEIRO et al, 2014).

#### **4.6. Pesquisas para o desenvolvimento de fármacos com ação antimicrobiana em bactérias expressando a NDM-1**

A escassez de fármacos eficazes contra a NDM-1 tem tornado bastante preocupante a situação da resistência, o que requer que medidas sejam tomadas, ampliando o esforço no desenvolvimento de inibidores da enzima (SHEN et al, 2013). A sequencia e a diversidade estrutural das MBLs além das diferentes formas de ligação das enzimas com os seus respectivos substratos, são fatores que dificultam o desenvolvimento de inibidores (FAST, SUTTON, 2013).

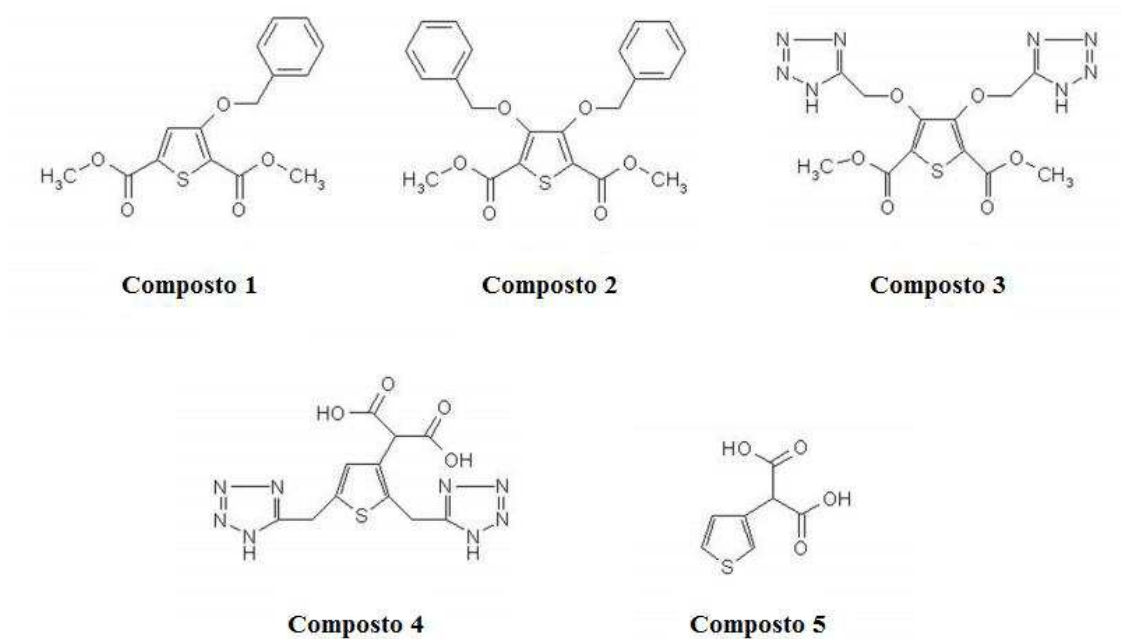
Desde a descoberta da NDM-1 em 2009, pesquisas estão sendo desenvolvidas por diversos cientistas a fim de encontrar um fármaco eficaz contra a enzima, capaz de ser adotado na pratica clínica. Alguns dos trabalhos reportados com os seus respectivos resultados serão relatados a seguir.

Em busca de solucionar o problema da resistência bacteriana associada a NDM-1, Shen et al (2013) realizaram inúmeros estudos baseados na determinação da atividade biológica bem como na simulação molecular do mecanismo de inibição, descobriram que derivados do ácido tiofeno carboxílico demonstraram atividade inibitória em ensaios *in vitro*. Além disso, efeito sinérgico com o meropenem também foi observado contra *E. coli* expressando NDM-1. O que é algo bastante positivo indicando que estes compostos são fortes candidatos para o desenho de novos fármacos (SHEN et al, 2013).

Para realização da pesquisa, foram utilizadas espécies de *E. coli* expressando a NDM-1. Para testar a capacidade inibitória dos compostos eles foram incubados em várias concentrações com a enzima. As atividades desses compostos foram determinadas através do uso do meropenem como substrato. Também foram realizados estudos sobre a forma como a enzima se liga com os substratos através de modelagem molecular, que é uma técnica bastante usada para pesquisar a forma de interação do ligante com alvo. A partir dos resultados obtidos nesses ensaios foi comprovado que os compostos derivados do ácido tiofeno carboxílico apresentam efeito inibitório para a NDM-1 (Figura 11) (SHEN et al, 2013).

Os compostos 1 e 2 apresentam grupamentos benzilo hidrofóbicos em sua estrutura. O composto 3 apresenta em sua estrutura dois grupamentos metoxi. O composto 4 apresenta dois grupos carboxila. O Composto 5, o único que não foi sintetizado pelos autores diz respeito a cadeia lateral de um antibiótico usado para tratar infecções ocasionadas por bactérias gram-negativas, a ticarcilina (SHEN et al, 2013).

**Figura 11:** Estrutura química dos compostos que apresentaram atividade inibitória para a enzima NDM-1.



(SHEN et al, 2013)

O composto 3 demonstrou pouca atividade inibitória, Shen et al (2013) propuseram que os grupamentos metoxicarbonilo podem não ser necessários para a atividade deste composto. O composto 4 apresentou o melhor efeito inibitório. O composto 5 apresentou pouca atividade inibitória. Os compostos 1 e 2 apresentaram pouquíssima capacidade de inibir a enzima. Quanto a sinergia dessas moléculas com o meropenem, os compostos 3, 4 e 5 apresentaram atividade antibacteriana sinérgica com o meropenem, ao passo que os compostos 1 e 2 não demonstraram nenhum sinergismo com o antibiótico em questão. Isso possivelmente se deve aos substituintes benziloxi presentes nestes compostos (SHEN et al, 2013).

Devido o composto 4 ter apresentado uma boa atividade inibitória em relação a NDM-1, além do sinergismo quando associado ao meropenem, Shen et al (2013) resolveram realizar um estudo sobre a forma como o composto se liga a enzima. O composto foi acoplado ao sítio ativo da enzima, com isso foi observado que o átomo de hidrogênio do anel imidazólico e um resíduo de histidina da enzima podem formar uma ligação de hidrogênio. Além dessa ligação de hidrogênio, o átomo de enxofre do grupamento tiofeno do composto, foi observado em uma posição muito próxima de um dos íons de zinco no sítio ativo da enzima, sugerindo que ele pode ser imprescindível em interações eletrostáticas aumentando a afinidade do inibidor pela NDM-1. Os autores propuseram que alterações na distância entre o resíduo de ligação dos compostos e o íon de zinco da enzima afetam a carga desse íon, alterando as propriedades cinéticas da enzima (SHEN et al, 2013).

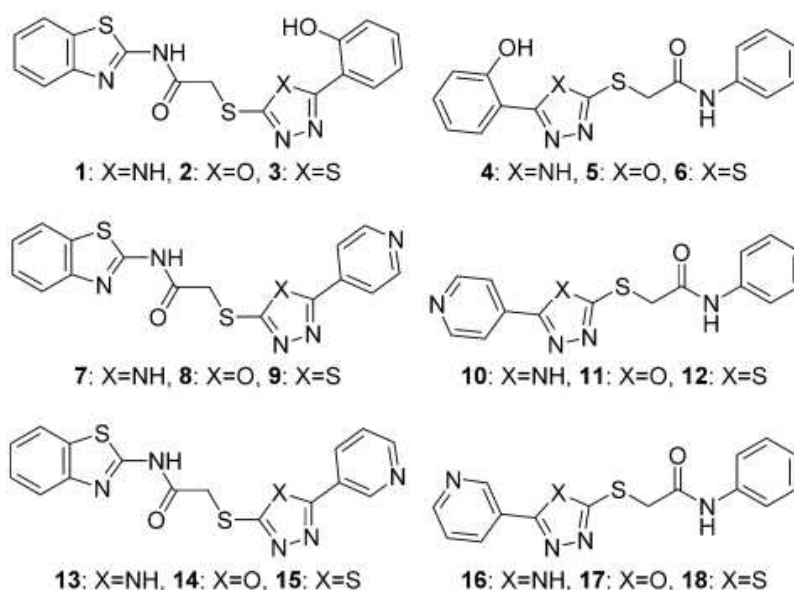
A partir das análises apresentadas acima, conclui-se que compostos 4 e 5 derivados do ácido tiofeno carboxílico podem ser usados no desenho de novos agentes antibacterianos. No entanto, como se sabe o sítio ativo da enzima é composto de dois íons de zinco e seis aminoácidos, os autores observaram que o átomo de enxofre no anel tiofeno interage fracamente com apenas um desses aminoácidos, o que pode ser a principal razão da atividade inibitória não ser muito satisfatória. Mudanças estruturais destes compostos estão sendo realizadas, o que pode permitir que haja interação com todos os seis resíduos no sítio ativo, potencializando o efeito inibitório. (SHEN et al, 2013).

Antibióticos  $\beta$ -lactâmicos administrados juntamente com inibidores de  $\beta$ -lactamases como, por exemplo, clavulanato, tazobactam e sulbactam, tem demonstrado ser uma estratégia eficiente no combate a infecções causadas por bactérias multirresistentes. No entanto, ainda não existem inibidores de MBLs disponíveis para o uso clínico. Na tentativa de descoberta desses agentes, Zhang et al (2014) desenvolveram 18 compostos azoliltioacetamidas diaril-substituídos (Figura 12). Destes, 14 demonstraram efeito inibitório para NDM-1. Os compostos foram caracterizadas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectrometria de Massas (MS) (ZHANG et al 2014).

Com intuito de observar se os 18 compostos são inibidores de MBLs, Zhang et al (2014) escolheram as enzimas de *Bacteriodes fragilis* (CcrA), NDM-1, *Stenotrophomonas maltophilia* (L1) e *Aeromonas veronii* (ImiS), sendo que as três primeiras apresentam dois átomos de zinco em seu sítio ativo e a última, apenas um

átomo de zinco. A inibição foi avaliada pela monitoração da hidrólise do imipenem e da cefazolina. Os resultados obtidos revelaram que os compostos 2, 4, 5 e 7 apresentaram atividade inibitória para todas as MBLs usadas da pesquisa, sendo que o composto 4 inibiu mais intensamente a L1. O composto 10 não foi considerado de grande potência mesmo apresentando efeito inibitório contra CcrA, devido o fato desta não ter grande relevância clínica. As azoliltioacetamidas 1- 13 e 16 mostraram atividade inibitória para a NDM-1. Os compostos 14, 15, 17 e 18 não apresentaram nenhum efeito inibidor nas enzimas NDM-1, ImiS e CcrA. Para ImiS, os compostos mais potentes foram 2, 4, 5, 7, 8, e 10. Para CcrA os que apresentaram maior atividade inibitória foram as azoliltioacetamidas 1, 2, 4, 5, 7, 8 e 10. O que despertou dúvidas nos autores foi o fato de não compreenderem porque os compostos 3, 6, 8-13, e 16 inibirem a NDM-1 e L1, mas não inibirem a CcrA, uma vez que todas estas enzimas apresentam dois átomos de zinco em seu sítio ativo (ZHANG et al 2014).

**Figura 12:** Estruturas químicas dos compostos sintetizados por Zhang et al (2014), como potenciais inibidores de MBLs.



(ZHANG et al 2014)

Zhang et al (2014) concluíram que a inibição acontece em decorrência da ligação dos compostos ao sítio ativo das enzimas. Eles se ligam ao zinco preferencialmente através da porção triazol, ao passo que a outra porção se liga a

resíduos de lisina na CcrA, ImiS e NDM-1, e na L1 se liga ao resíduo de serina (ZHANG et al, 2014).

Agentes clínicos que inibem especificamente MBLs já foram introduzidos clinicamente como, derivados de tioésteres, produtos naturais tricíclicos, derivados do ácido succínico, captopril, carboxilatos, além de outros. Entre estes compostos merece destaque o D-captopril, uma vez que o mesmo exibiu um efeito inibidor bastante importante sobre a NDM-1 *in vitro*. Resultados de espectroscopia de massa mostraram que o D- captopril pode se ligar a NDM-1. É interessante notar que, o L-captopril usado normalmente no tratamento de hipertensão arterial, insuficiência cardíaca congestiva e síndromes renais como inibidor da enzima conversora de angiotensina, tem mostrado ação inibitória de diversas MBLs *in vitro*, isso ocorre devido o grupamento pirrolidina do L e D-captopril que é essencial para que estes compostos se liguem a enzima. Esse efeito inibitório também é explicado devido o fato do L- captopril ser inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), que é uma MBL zinco-dependente da mesma forma que a NDM-1 (BARREIRO; FRAGA, 2008; GUO et al, 2011).

Segundo Guo et al (2011) já foram realizados estudos com outra  $\beta$ - lactamase da classe B, a IMP-1, onde mostrava que o D- captopril inibia a atividade dessa enzima. A IMP-1 apresenta uma semelhança de 26% na sequencia de aminoácidos com NDM-1, o que sugere que ambas podem apresentar uma semelhança na forma de ligação a substratos e inibidores. No entanto, alguns resíduos que são essenciais para a ligação da IMP-1 com o D-captopril não estão tão preservadas na NDM-1. Como por exemplo, ocorre para a IMP-1, a Lisina estabiliza o D-captopril através da ligação de hidrogênio com o O<sub>2</sub> do grupo carboxílico do D- captopril. Na NDM-1, o aminoácido equivalente é uma metionina (quando se sobrepõe as estruturas cristalinas dos sítios ativos das duas enzimas) que não apresenta um posicionamento favorável para que ocorra a formação dessa ligação de hidrogênio. Na IMP-1 o aspartato cuja amida estabiliza o D- captopril devido ligações de hidrogênio com o O<sub>3</sub>, corresponde a glutamina na NDM-1. Devido o fato da cadeia lateral da glutamina ser maior do que a do aspartato é possível que a cadeia lateral da glutamina e/ou o D-captopril mudem de conformação após a ligação da NDM-1 com o D- captopril. A asparagina na NDM-1, correspondente a tirosina na IMP-1, promove ligações de hidrogênio com o D- captopril, o que culmina em uma maior afinidade fazendo com que ocorra um efeito inibitório mais elevado em NDM-1 do que em IMP-1(GUO ET AL, 2011).

De acordo com estas perspectivas, Guo et al (2011) sugeriram que há a possibilidade de desenvolvimento de compostos com elevada afinidade capazes de impedir interações da NDM-1 com antibióticos, sendo estes, estruturalmente semelhantes ao D- captopril, inibindo a atividade da NDM-1 pela ligação competitiva com o seu sítio ativo ( GUO et al, 2011).

Outros inibidores de MBLs já foram relatados como: derivados do ácido succínico, ácido tiomandélico, ácido picolínico, derivados do ácido hidroxâmico, ácido propiônico, inibidores derivados da penicilina, N-arilsulfonilo hidrazonas, além de outros inibidores vem sendo reportados. No entanto, poucos demonstram possuir amplo espectro de atividade, o que se faz necessário, visto a grande quantidade de bactérias diferentes que já foram reportadas expressando MBLs, e ainda, devido o potencial em causar resistência que a NDM-1 possui. Agora, estudos mais aprofundados devem ser realizados embasados nos resultados apresentados acima, para que um inibidor de MBLs de amplo espectro, capaz de conter a atividade da NDM-1, seja desenvolvido e usado clinicamente no combate a infecções por bactérias multirresistentes (ZHANG et al, 2014).

## 5. CONCLUSÃO

A resistência bacteriana a antibióticos é um grave problema de saúde para o qual já há muito tempo tem se buscado a solução. A causa desse fenômeno, além do uso irracional de antibióticos, é o desenvolvimento de mecanismos de resistência pelas bactérias, dentre os quais o de produção de enzimas, como  $\beta$ -lactamases e MBLs, tem se tornado algo muito preocupante. MBLs como a NDM-1, relatada pela primeira vez em 2009, são um grande desafio para a medicina, pois inativam antibióticos de amplo espectro considerados como último recurso no tratamento de infecções.

Após a primeira detecção de bactérias carregando NDM-1 na Índia, ocorreram inúmeros relatos de casos em todo o mundo, e mais recentemente, no Brasil. Os continentes apresentando mais relatos de casos envolvendo a NDM-1 foram a Ásia (local onde foi reportado o primeiro caso), Europa e África.

Como se pôde perceber, inúmeros estudos visando o desenvolvimento de inibidores para a NDM-1 foram realizados, no entanto, os resultados obtidos representam apenas uma direção a ser seguida. Ainda não há nenhum inibidor específico para a NDM-1 que já possa ser usado na prática clínica, para isso, são necessários ainda mais pesquisas e estudos embasados nos resultados anteriormente apresentados.

Os pacientes acometidos por infecções com bactérias expressando NDM-1 foram tratados antibióticos de várias classes, mas os que apresentaram maior eficácia nos pacientes foram o aztreonam, colistina, tigeciclina, fosfomicina, e polimixina B.

Dentre os inúmeros microrganismos expressando a NDM-1, as bactérias mais relatadas foram, na maioria dos casos, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *P. agglomerans*, *A. baumannii*, *P. rettgerii*, *E. cloacae*, *M. organii*, *A. pittii*.

O problema da resistência bacteriana a antibióticos não está nem próximo de ser resolvido. Apesar de antibióticos só serem vendidos com receita, o que tem reduzido muito a automedicação, ainda assim o uso indiscriminado desses medicamentos persiste. Somos uma geração que sempre foi instruída a seguir esse tipo de conduta de uso excessivo de medicamentos. Mesmo com as medidas de precaução e controle adotadas pelas autoridades da saúde, ainda é necessário bem mais atenção sobre a temática abordada.

## REFERÊNCIAS

ABREU, M. O; CARDOSO, C. A; VOLOTÃO, A. C. C; ALVES, F. A. Atualização Sobre Tratamento Medicamentoso de Infecções Causadas por *Staphylococcus aureus* e Resistência a Drogas Antiestafilocócicas. **Revista Práxis**. nº 8, p. 69- 75, 2012.

AGEEVETS, V. A; PARTINA, I. V; LISITSYNA, E. S; ILINA, E. N; LOBZIN, Y. V; SHLYAPNIKOV, S. A; SIDORENKO, S. V. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 44, p. 152- 155, 2014.

ANVISA. Alerta N. 01/2011. Detecção de metalobetalactamases do tipo NDM em dois isolados de *Klebsiella pneumoniae* na Guatemala. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2011.

ASSEF, A. P. D. C; PEREIRA, P. S; ALBANO, R. M; BERIÃO, G. C; CHAGAS, T. P. G; TIMM, L. N; SILVA; R. C. F; FALCI, D. R; ASENSI, M. D; Isolation of NDM-producing *Providencia rettgeri* in Brazil. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. v. 68, nº 12, p. 2956- 2957, 2013.

BARREIRO, E. J; FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

BERTONCHELI, C. M; HÖRNER, R. Uma revisão sobre metalo- $\beta$ -lactamases. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, nº 4, p. 577- 599, 2008.

BORTOLOSSI, J. C. **Expressão e análise de proteínas recombinantes de *Xanthomonas axoonopodis* pv. *citri* em *E. coli*, visando análise estrutural por cristalografia**. 2007. 58 p. (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São Paulo, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (Anvisa). Nota Técnica nº. 17 de abril de 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ea4d4c004f4ec3b98925d9d785749fbd/Mic>



[rosoft+Word+NOTA+T%C3%89CNICA+ENTEROBACTERIAS+17+04+2013\(1\).pdf?MOD=AJPERES](#). Acesso em: 17 de Abril de 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comunicado de Risco Nº 002/2013. Atualização do Comunicado de Risco nº 001/2013 -GVIMS/GGTES-Anvisa, que trata da Circulação de micro-organismos com mecanismo de resistência denominado "*New Delhi Metalobetalactamase*" ou NDM no Brasil. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6a9c2c804f8f09db8379f79a71dcc661/comunicado+de+risco+n+2+de+29-04-13-+sobre+NDM1.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 14 de dezembro de 2014.

BUSHNELL, G; GOLD, F. M; MUNDY, L. M. Emergence of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase type 1-producing *Enterobacteriaceae* and non-*Enterobacteriaceae*: global case detection and bacterial surveillance. **International Journal of Infectious Diseases**. v. 17, nº 5, p. 325- 333, 2013.

CHAN, H. L. E; POON, L. M; CHAN, S. G; TEO, J. W. P. The perils of medical tourism: NDM-1-positive *Escherichia coli* causing febrile neutropenia in a medical tourist. **Singapore Medical Journal**. v. 52, nº 4, p. 299-302, 2011.

CHEN, Y; ZHOU, Z; JIANG, Y; YU, Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. v. 66, p. 1255- 1259, 2011.

CHEONG, W. L; TSANG, M. S; SO, P. K; CHUNG, W. H; LEUNG, Y. C; CHAN, P. H. Fluorescent TEM-1 $\beta$ -lactamase with wild-type activity as a rapid drug sensor for in vitro drug screening. **Bioscience Reports**. v. 34, nº 5, p. 523- 533, 2014.

COSTA, N. B. **Estudo dos Agentes Infecciosos e da Resistência Bacteriana em Infecções do Trato Urinário**. 2011. 27 p. Monografia (Licenciatura em biologia)- Universidade de Brasília. Brasília, 2011.

DIAS, D.J.A. **Estudo dos Principais Mecanismos de Resistência aos Antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em Bactérias Patogênicas de Gram negativo**. 2009. 100 p. (Mestrado em genética Molecular e Biomedicina) – Universidade de Lisboa. Lisboa, 2009.

FAST, W; SUTTON, L. D. Metallo- $\beta$ -lactamase: Inhibitors and reporter substrates. **Biochimica et Biophysica Acta**. p. 1648–1659, 2013.

FUURSTED, K, *et al.* Virulence of a *Klebsiella pneumoniae* strain carrying the New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1 (NDM-1). **Microbes Infection**. v.14, p.155- 158, 2011.

GLASNER, C; ALBIGER, B; BUIST, G. ANDRAŠEVIĆ, A. T; CANTON, R; CARMELI, Y; FRIEDRICH, A. W; GISKE, C. G; GLUPCZYNSKI, Y; GNIADKOWSKI, M; NORDMANN, P; POIREL, L; ROSSOLINI, G. M; SEIFERT, H; VATOPOULOS, A; WALSH, T; WOODFORD, N; DONKER, T; MONNET, D. L; GRUNDMANN, H. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. **Eurosurveillance**. v. 18, p. 1- 7, 2013.

GRALHA, R. E. F. **Métodos de pesquisa de beta-lactamases em amostras clínicas – estudo de revisão**. 2011. 69 p. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2011.

GUO, Y; WANG, J; NIU, G; SHUI, W; SUN, Y; ZHOU, H; ZHANG, Y; YANG, C; LOU, Z; RAO, Z. A structural view of the antibiotic degradation enzyme NDM-1 from a superbug. **Protein Cell**. v. 2, nº 5, p. 384–394, 2011.

HALABY, T; REULAND, A. E; NAIEMI, N; POTRON, A; SAVELKOUL, P. H. M; GRAULS, C. M. J. E. V.G; NORDMANN, P. A Case of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase 1 (NDM-1)- Producing *Klebsiella pneumoniae* with Putative Secondary Transmission from the Balkan Region in the Netherlands. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 56, nº 5, p. 2790 –2791, 2012.

HALEVI, S. G; HINDIYEH, M. Y; DAVID, D. B; SMOLLAN, G; MOR, O. G; AZAR, R; CASTANHEIRA, M; BELAUSOV, N; RAHAV, G; TAL, I;

MENDELSON, E; KELLER, N. Isolation of Genetically Unrelated blaNDM-1-Positive *Providencia rettgeri* Strains in Israel. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 51, n°5, p. 1642–1643, 2013.

HOANG, T. H; WERTHEIM, H; MINH, N. B; DUONG, T. N; ANH, D. D; PHUONG, T. T. L; SON, T. H; IZUMIYA, H; OHNISHI, M; SHIBAYAMA, K; HIEN, N. T. Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains Containing New Delhi Metallo-Beta-Lactamase Isolated from Two Patients in Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 51, n° 1, p. 373–374, 2013.

JOVCIC, B; LEPSANOVIC, Z; SULJAGIC, V; RACKOV, G; BEGOVIC, J; TOPISIROVIC, L; KOJIC, M. Emergence of NDM-1 Metallo- $\beta$ -Lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates from Serbia. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 55, n° 8, 3929–3931, 2011.

KHAJURIA, A; PRAHARAJ, A. K; KUMAR, M. Emergence of NDM-1 in a clinical isolate of *Pantoea agglomerans* from India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v. 2, p. 340- 341, 2014.

KUMARASAMY, K. K; TOLEMAN, M. A; WALSH, T. R; BAGARIA, J; BUTT, F. A; BALAKRISHNAN, R; CHAUDHARY, U; DOUMITH, M; GISKE, C. G; IRFAN, S; KRISHNAN, P; KUMAR, A. V; MAHARJAN, S; MUSHTAQ, S; NOORIE, T; PATERSON, D. L; PEARSON, A; PERRY, C; PIKE, R; RAO, B; RAY, U; SARMA, J. B; SHARMA, M; SHERIDAN, E; THIRUNARAYAN, M. A; TURTON, J; UPADHYAY, S; WARNER, M; WELFARE, W; LIVERMORE, D. M; WOODFORD, N. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. **The lancet Infectious Diseases**. v. 10, n° 9, p. 597-602, 2010.

KUS, J. V; TADROS, M; SIMOR, A; LOW, D. E; MCGEER, A. J; WILLEY, B. M; LAROCQUE, C; PIKE, K; EDWARDS, I. A; DEDIER, H; MELANO, R; BOYD, D. A; MULVEY, M. R; LOUIE, L; OKEAHIALAM, C; BAYLEY, M; WHITEHEAD, C; RICHARDSON, D; CARR, L; JINNAH, F; POUTANEN, S. M. New Delhi metallo- $\beta$ -

lactamase-1: local acquisition in Ontario, Canada, and challenges in detection. **Canadian Medical Association or its licensors**. v. 183, nº 11, p. 1257- 1261, 2011.

LIU, Z; LI, W; WANG, J; PAN, J; SUN, S; YU, Y; ZHAO, B; MA, Y; ZHANG, T; QI, J; LIU, G; LU, F. Identification and Characterization of the First *Escherichia coli* Strain Carrying NDM-1 Gene in China. **PLoS ONE** v.8, p. 1-6, 2013.

LOWMAN, W; SRIRUTTAN, C; NANA, T; BOSMAN, N; DUSE, A; VENTURAS, J; CLAY, C; COETZEE, J; NDM-1 has arrived: First report of a carbapenem resistance mechanism in South Africa. **South African medical journal**. v. 101, nº 12, p. 873-875, 2011.

MEIRELES, M. A. O. M. **Uso de antimicrobianos e resistência bacteriana: aspectos socioeconômicos e comportamentais e seu impacto clínico e ecológico**. 2008. 47 p. Monografia (Especialização em microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.

MESLI, E; BERRAZEG, M; BERRAZEG, M; BEKKHOUCHA, S. N; ROLAIN, J. M; Prevalence of carbapenemase-encoding genes including New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter* species, Algeria. **International Journal of Infectious Diseases**. v. 17, p. 739- 743, 2013.

MOCHON, A. B; GARNER, O. B; HINDLER, J. A; KROGSTAD, P; WARD, K. W; LEWINSKI, M. A; RASHEED, J. K; ANDERSON, K. F; LIMBAGO, B. M; HUMPHRIES, R. M. New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase (NDM-1)-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Case Report and Laboratory Detection Strategies. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 49, nº 4, p. 1667-1670, 2011.

MOELLERING JÚNIOR, R. C. NDM-1 A Cause for Worldwide Concern. **The New England Journal of Medicine**. v. 363, nº 25, p. 2377- 2379, 2010.

OLIVEIRA, A. C; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**. v.10, nº1, p.189-197, 2008.

OLIVEIRA, A. L. Resistência bacteriana a antibióticos: uma análise da conduta hospitalar. **Revista Cesumar- Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**. v.11, nº 1, p. 59- 69, 2006.

OTEO, J; GARCÍA, D. D; ROMERO, S. F; SAEZ, D; GUIU, A; CUEVAS, O; BREA, M. L; CAMPOS, J. Abdominal abscess due to NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Spain. **Journal of Medical Microbiology**. v. 61, p. 864–867, 2012.

PASTERAN, F; ALBORNOZ, E; FACCONI, D; GOMEZ, S; VALENZUELA, C; MORALES, M; ESTRADA, P; VALENZUELA, L; MATHEU, J; GUERRIERO, L; ARBIZÚ, E; CALDEROÓN, Y; PARDO, P. R; CORSO, A. Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Guatemala. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 67, nº 7, p. 1795-1797, 2012.

PASTERAN, F; MORA, M. M; ALBORNOZ, E; FACCONI, D; FRANCO, R; ORTELLADO, J; MELGAREJO, N; GOMEZ, S; RIQUELME, I; MATHEU, J; PARDO, P. R; CORSO, A. Emergence of genetically unrelated NDM-1-producing *Acinetobacter pittii* strains in Paraguay. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 69, nº 9, p. 2575- 2578, 2014.

PÉREZ, J. A. E; ESCOBAR, N. M. CARDOZO, B. C; MÁRQUEZ, A. V; AGUILAR, M. I. G; BARRERA, L. M; BARRETO, E. R. B; ORTIZ, R. A. M; GUAYAZÁN, M. V. M; GÓMEZ, N. V. Outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Unit in Colombia. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 57, nº 4, p. 1957- 1960, 2013.

POIREL, L; LAGRUTTA, E; TAYLOR, P; PHAM, J; NORDMANN, P. Emergence of Metallo-  $\beta$ - Lactamase NDM-1- Producing Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Austrália. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 54, nº 11, p. 4914– 4916, 2010.

POIREL, L; SCHRENZEL, J; CHERKAOUI, A; BERNABEU, S; RENZI, G; NORDMANN, P. Molecular analysis of NDM-1-producing enterobacterial isolates

from Geneva, Switzerland. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 66, p. 1730-1733, 2011.

RANG, H.D; DALE, M.M. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

ROLAIN, J. M; PAROLA, P; CORNAGLIA, G. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemia? **Clinical Microbiology and Infection**. v. 16, n° 12, p. 1669- 1701, 2010.

ROLAZES, F. P; RIBEIRO, V. B; MAGAGNIN, C. M; PAGANO, M; LUTZ, L; FALCI, D, R; MACHADO, A; BARTH, A. L; ZAVASCKI, A. P. Emergence of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Porto Alegre, Brazil. **International Journal of Infectious Diseases**. v. 25, p. 79- 81, 2014.

SAMUELSEN, O; THILESEN, C. M; HEGGELUND, L; VADA, A. N; KÜMMEL, A; SUNDSFJORD, A. Identification of NDM-1-producing Enterobacteriaceae in Norway. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 66, p. 670- 672, 2010.

SEIJA, V; PRESENTADO, J.C. M; BADO, I; EZDRA, R. P; BATISTA, N; GUTIERREZ, C; GUIRADO, M; VIDAL, M; NIN, M; VIGNOLI, R; Sepsis caused by New Delhi metallo-b-lactamase (blaNDM-1) and qnrD-producing *Morganella morganii*, treated successfully with fosfomycin and meropenem: case report and literature review. **International Journal of Infectious Diseases**. v. 30, p. 20- 26, 2014.

SHEN, B; YU, Y; CHEN, H; CAO, X; LAO, X; FANG, Y; SHI, Y; CHEN, J; ZHENG, H. Inhibitor Discovery of Full-Length New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-1 (NDM-1). **PLoS ONE**. v. 8, p. 1-7, 2013.

SHIBL, A; AGAMY, M. A; MEMISH, Z; SENOK, A; KHADER, S. A; ASSIRI, A. The emergence of OXA-48- and NDM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. **International Journal of Infectious Diseases**. V. 17, p. 1130- 1133, 2013.

SONNEVEND, A; BALOUSHI, A. A; GHAZAWI, A; HASHMEY, R; GIRGIS, S; HAMADEH, M. B; HAJ, M. A; PÁL, T. Emergence and spread of NDM-1 producer Enterobacteriaceae with contribution of IncX3 plasmids in the United Arab Emirates. **Journal of Medical Microbiology**. v. 62, p. 1044- 1050, 2013.

SOUSA JUNIOR, M. A. S; FERREIRA, E. S; CONCEIÇÃO, G. C. Betalactamases de Espectro Ampliado (ESBL): um Importante Mecanismo de Resistência Bacteriana e sua Detecção no Laboratório Clínico. **NewsLab**. 63 ed, p. 152 -174, 2004.

TAFUR, J. D; TORRES, J. A. VILLEGAS, M. V. Mecanismos de resistencia a los antibióticos em bacterias gram negativas. **Asociación Colombiana de Infectología**. v.12, nº 3, p. 217- 226, 2008.

TEO, J. W. P; TAN, P; LA, M. V; KRISHNAN, P; TEE, N; KOH, T. H; DEEPAK, R. N; TAN, T. Y; JUREEN, R; LIN, R. T. P. Surveillance trends of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from Singapore, 2010–2013. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v. 2, p. 99–102, 2014.

TIJET, N; ALEXANDER, D. C; RICHARDSON, D; LASTOVETSKA, O; LOW, D. E; PATEL, S. N; MELANO, R. G. New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase, Ontario, Canada. **Emerging Infectious Diseases**. v. 17, nº 2, p. 306- 307, 2011.

TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Ateneu, 2008.

VERLI, H. **Bioinformática da Biologia à flexibilidade molecular**. Porto Alegre, 2014.

WANG, J. F; CHOU. K. Insights from modeling the 3D structure of New Delhi Metallo-  $\beta$ -Lactamase and Its Binding Interactions with Antibiotic Drugs. **PLoS One** v. 6, p.1- 6, 2011.

WATERMAN, P. E; MCGANN, P; SNESRUD, E; CLIFFORD, R. J; KWAK, Y. I; URBIZO, I. P. M; CASTELLANOS, J. T; MILILLO, M; PRESTON, L; AVILES, R; SUTTER, D. E; LESHO, E. P. Bacterial Peritonitis Due to *Acinetobacter baumannii*

Sequence Type 25 with Plasmid-Borne New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase in Honduras. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 57, n° 9, p. 4584- 4586, 2013.

WU, H. S; CHEN, T. L; CHEN, I. C. J; HUANG, M. S; WANG, F. D; FUNG, C. P; LEE, S. D; First Identification of a Patient Colonized With *Klebsiella pneumonia* Carrying blaNDM-1 in Taiwan. **Journal of the Chinese Medical Association**. v. 73, p. 596–598, 2010.

YAMAMOTO, T; TAKANO, T; IWAO, Y; HISHINUMA, A; Emergence of NDM-1-Positive Capsulated *Escherichia coli* With High Resistance to Serum Killing in Japan. **Journal of Infection and Chemotherapy**. v.17, n° 3, p. 435- 439, 2011.

YONG, D; TOLEMAN, M. A; GISKE, C.G; CHO, H. S; SUNDMAN, K; LEE, K; WALSH, T.R. Characterization of a New Metallo- $\beta$ -Lactamase Gene, bla<sub>NDM-1</sub>, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 53, n° 12, p. 5046–5054, 2009.

ZARFEL, G. HOENIGL, M; LEITNER, E; SALZER, H. J. F; FEIERL, G; MASOUD, L; VALENTIN, T; KRAUSE, R; GRISOLD, A. J. Emergence of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase, Austria. **Emerging Infectious Diseases**. v. 17, n° 1, p. 129- 130, 2011.

ZEB, M; SHARIQ, A; WAQAR, M; HANIF, S; KHAN, M. I; FAISAL, S; AHMAD, W; SAIF, I; AFRIDI, F. I; MURTUZA, G; FAROOQI, B. J; NOOR, A. A; ULLAH, R. Emergence of carbapenems resistance in *Escherichia coli* isolated from different clinical samples at University Hospital of Pakistan. **International Journal of Biosciences**. v. 4, n° 3, p. 74-79, 2014.

ZHANG, H. M; HAO, Q. Crystal structure of NDM-1 reveals a common  $\beta$ -lactam hydrolysis mechanism. **The Faseb Journal** . v. 25, n° 8, p. 2574 –2582, 2011.

ZHANG, Y. L; YANG, K. W; ZHOU, Y. J; LACURAN, A. E; OELSCHLAEGER, P; CROWDER, M. W. Diaryl-Substituted Azolythioacetamides: Inhibitor Discovery of



New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-1 (NDM-1). **Chemistry Enabling Drug Discovery**. v. 9, p. 2445- 2448, 2014.

ZHU, K; LU, J; YE, F; JIN, L; KONG, X; LIANG, Z; CHEN, Y; YU, K; JIANG, H; LI, J. Q; LUO, C. Structure-based computational study of the hydrolysis of New Delhi metallo- $\beta$ -lactmase-1. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 431, n° 1, p. 2–7, 2013.