

MECANISMOS DE AÇÃO E DE RESISTÊNCIA AOS CETOLÍDEOS

MECHANISMS OF ACTION AND RESISTENCE TO KETOLIDES

Ana Mirella VASCONCELOS¹
Francisco Tácito SOARES¹
Márcio VIEIRA¹
Luciana Barreto Silveira de SOUZA¹
Willma José de SANTANA¹
Henrique Douglas Melo COUTINHO^{1,2,3}

RESUMO

O aumento da resistência a múltiplas drogas em algumas linhagens de microorganismos tem sido registrado em todo o mundo. Conseqüentemente, os corriqueiros antibióticos orais estão perdendo sua eficácia no tratamento de infecções causadas por esses organismos. Nesse cenário, novos antimicrobianos, como os cetolídeos, estão emergindo. Eles representam uma nova geração da família dos macrolídeos, na qual o grupo 3-ceto substitui L-cladinose no anel de lactona. Cetolídeos mostraram-se mais ativos que outros macrolídeos contra várias bactérias gram-positivas, como *Enterococcus* sp. e *Streptococcus* sp. No entanto, algumas linhagens de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e à eritromicina parecem ser resistentes aos cetolídeos. Foram identificados alguns mecanismos de resistência aos cetolídeos, como mutações estruturais no local de união do cetolídeo ao ribossomo, a existência de bombas de expulsão ativa, e a presença de enzimas inativantes. Algumas linhagens que apresentam o gene *erm* B ativo, como *Streptococcus pyogenes*, apresentam resistência aos cetolídeos.

Termos de indexação: antimicrobianos; cetolídeos; resistência a múltiplas drogas.

¹ Curso de Medicina, Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte. Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

² Curso de Ciências Biológicas, Universidade Regional do Cariri. Crato, CE, Brasil.

³ Laboratório de Biologia Molecular e Ecologia, Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. 58051-900, João Pessoa, PB, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: H.D.M. COUTINHO. E-mail: <hdouglas@zipmail.com.br>.

ABSTRACT

The increase of multidrug resistance in some strains of microorganisms has been documented all over the world. Consequently, the current oral antibiotics are losing their efficacy in the treatment of infections caused by these organisms. In this scenario, new antimicrobials, like ketolides, have emerged. They represent a new generation of the macrolides family, in which the 3-keto group replaces the L-cladinose in the lactone ring. Ketolides have shown to be more active than other macrolides against many Gram-positive bacteria, like *Enterococcus sp.* and *Streptococcus sp.* However, some methicilin and erythromycin resistant strains of *Staphylococcus aureus* seem to be resistant to ketolides. Some resistance mechanisms to ketolides have been identified, such as: the structural mutations in binding sites of ketolides to ribosome; the existence of active efflux pump; and the presence of inactivating enzymes. Some strains with the active gene *erm B*, such as the *Streptococcus pyogenes*, also present resistance to ketolides.

Indexing terms: antimicrobials; ketolides; drug resistance, multiple.

INTRODUÇÃO

Os cetolídeos são uma nova adição para o grupo de antimicrobianos macrolídeos-lincosamidas-estreptogramina B (MLS). São semi-sintéticos recentemente criados, os quais foram especificamente projetados para o tratamento de infecções do trato respiratório adquiridas na comunidade. Os cetolídeos são derivados da eritromicina A, nos quais um grupo 3-keto substitui a L-cladinosa no anel de lactona¹⁻⁴. Este grupo cetônico confere estabilidade ácida excelente e, diferentemente de macrolídeos, não induz resistência ao grupo MLS *in vitro*¹. Eles mantêm atividade frente à maioria das cepas de *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* resistentes aos macrolídeos e não induzem resistência nas cepas. Telitromicina, o único cetolídeo atualmente comercializado, possui um radical carbamato nas posições C11-C12, o que explica, em grande medida, o aumento da atividade antimicrobiana em relação aos macrolídeos clássicos⁵.

Farmacocinética

O perfil farmacocinético e a proporcionalidade da dose da telitromicina e de seu principal circulante metabólico, RU 76363, foram estabelecidos após a administração tanto em doses diárias únicas, como múltiplas. RU 76363, um álcool formado de perda

de anéis aril durante o metabolismo hepático, é de 4 a 16 vezes menos ativo que telitromicina *in vitro*¹.

A telitromicina é rapidamente absorvida por via oral, alcançando concentração máxima dentro de uma hora. Concentrações plasmáticas fixas de telitromicina e de RU 76.363 são alcançadas dentro de 2 a 3 dias de múltiplas dosagens, não importando a dose (princípio de plateau ou *steady state*). Depois de 7 dias, há acúmulo moderado de ambos, com valores da curva de concentração pelo tempo (AUC) aproximadamente 1,5 vezes mais altos que aqueles obtidos através de uma única dose. A taxa de acúmulo (RAC) é relativamente constante acima do limite da dosagem. Este acúmulo moderado poderia ser explicado por uma diminuição leve na liberação não-renal devida à alta dosagem. A farmacocinética da telitromicina divergiu moderadamente de proporcionalidade de dose depois da administração oral única e da múltipla. Ao dobrar a dose, houve um aumento de aproximadamente o triplo no AUC. A quantidade de telitromicina inalterada eliminada através da urina aumenta proporcionalmente à AUC¹.

Sugere-se que a administração de uma dose diária de 800mg de telitromicina proverá adequados níveis plasmáticos para manter atividade contra patógenos respiratórios, independentes da susceptibilidade aos macrolídeos. A telitromicina é geralmente bem tolerada em todas as doses, entretanto, efeitos adversos podem ocorrer em doses muito altas.

Estes dados, tomados juntamente com o perfil farmacocinético da combinação, sugerem que uma dose oral diária de 800mg de telitromicina acarreta uma concentração efetiva no plasma, apropriada para a avaliação adicional na farmacocinética e nos testes clínicos para o tratamento de infecções do trato respiratório adquiridas na comunidade¹. A telitromicina é bacteriostática em doses de 100 a 200mg/kg/dia, mas é bactericida em uma dose de 400mg/kg/dia⁶.

Esta droga se difunde através da membrana, devido ao seu caráter lipofílico e, provavelmente, devido à existência de um sistema de transporte ativo dependente de cálcio. A concentração no citoplasma celular é várias vezes superior à concentração sérica. A maior parte do antibiótico se acumula nos fagolisossomos, devido ao caráter ácido dessas organelas. Difunde-se escassamente através das meninges e é eliminada através da via biliar na forma de metabólitos e produtos ativos⁵.

Uma concentração muito alta dentro da célula é necessária, a fim de inibir o crescimento ou matar microrganismos do complexo *Mycobacterium avium* (MAC)⁷. Porém, a concentração obtida com o sistema macrofágico parece indicar a necessidade de uma concentração alta de telitromicina fora da célula para alcançar a concentração necessária dentro da célula. Uma explicação plausível para este achado é que a telitromicina penetra nos macrófagos muito lentamente e que o período para o ensaio macrofágico não foi suficiente para permitir que a droga se concentrasse dentro das células. É possível que o sistema macrofágico tenha uma habilidade limitada de identificar combinações ativas quando a concentração necessária para inibir o crescimento ou matar o patógeno intracelular deve ser alta⁶.

Foi demonstrado que a telitromicina se acumula até 300 vezes mais dentro das células fagocíticas, enquanto é menos excretada de células não infectadas⁶.

Espectro antibacteriano

Em linhas gerais, os cetolídeos são ativos frente a distintos grupos de microrganismos e protozoários:

1. Microrganismos Gram-positivos, tanto cocos (como espécies de *Enterococcus*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. epidermidis* e *Streptococcus pneumoniae*) como bacilos (como *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus anthracis*)^{4,8};

2. Alguns microrganismos Gram-negativos (*Moraxella* sp., *Bordetella pertussis*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria* sp., *Haemophilus ducreyi*, *Gardnerella vaginalis*)^{4,9};

3. Microrganismos de crescimento intracelular ou extracelular (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia* sp., *Legionella* sp., *Borrelia burgdorferi*, *Coxiella burnetii*)¹⁰;

4. Alguns protozoários, que são moderadamente sensíveis (*Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* e *Plasmodium*)¹⁰;

A maioria de bacilos Gram-negativos (BGN), incluindo alguns microrganismos anaeróbicos (*Bacteroides* sp. e *Fusobacterium* sp.), são resistentes devido, entre outros motivos, à impermeabilidade da parede bacteriana à difusão do cetolídeo. Entretanto, outros BGN anaeróbicos como *Porphyromonas* e *Prevotella* e as formas L de *Proteus mirabilis* (carentes de parede) são sensíveis^{5,11}. Determinados micoplasmas, como *Mycoplasma hominis*, apresentam resistência ao cetolídeo telitromicina¹⁰.

A telitromicina tem um espectro de atividade que cobre tanto os patógenos mais comuns, quanto os atípicos do trato respiratório, independentemente de suas susceptibilidades para beta-lactâmicos ou macrolídeos¹. Possui potencial considerável para o tratamento empírico de infecções adquiridas na comunidade, causadas por linhagens *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* resistentes a macrolídeos¹². Esta droga é de 2 a 8 vezes mais ativa que eritromicina frente aos microrganismos Gram-positivos, sendo tão ativa quanto a azitromicina frente aos Gram-negativos. Entretanto, é menos ativa do que a claritromicina frente a micobactérias. Os pneumococos e a maioria de estreptococos, mesmo os que apresentam mecanismos de resistência aos macrolídeos, são sensíveis à telitromicina⁵.

A droga HMR 3787 representa um cetolídeo de espectro expandido, com atividade contra estreptococos resistentes aos macrolídeos, semelhante à telitromicina, como *S. pyogenes erm B*. Em contraste, RU 64.399 tem um nível de atividade ligeiramente mais baixo do que a da telitromicina contra pneumococos resistentes aos macrolídeos, enquanto sua atividade é semelhante à da telitromicina contra *S. pyogenes erm B* (gene que codifica uma metilase, a qual atua no ácido ribonucléico ribossomal (RNAr)¹³.

Tanto a telitromicina quanto o HMR 3787 são igualmente ativos contra linhagens possuidoras de genes *mef A* e *erm A*, com *Minimal Inhibitory concentration* (MIC) 50s e MIC90s de 0,016 a 0,5 e de 0,03 a 0,5, respectivamente. Porém, HMR 3787 é mais ativo do que outros cetolídeos contra linhagens com *erm B*, com MIC50s e MIC90s de 2,0 e 4,0 µg/mL, comparado a 16,0 e >16,0 µg/mL para telitromicina e >16,0 e >16,0 µg/mL para RU 64399¹³.

HMR 3787 é tão ativo quanto a telitromicina contra pneumococos suscetíveis aos macrolídeos e ligeiramente mais ativo do que RU 64399 contra pneumococos suscetíveis aos macrolídeos. Disto, conclui-se que o HMR 3787 e a telitromicina são as combinações mais ativas contra pneumococos, independente do mecanismo de resistência a macrolídeos. Além disso, o HMR 3787 é duas a quatro vezes mais ativo que a telitromicina e o RU 64399 contra *S. pyogenes erm B*, e é tão ativo quanto a telitromicina contra *S. pyogenes* de linhagens *erm A* e *mef A*¹³.

O HMR 3004, um cetolídeo, demonstra boa atividade *in vitro* contra *Streptococcus* sp. e *S. pneumoniae*, mesmo aqueles resistentes à eritromicina A por efluxo ou mecanismos MLS_b, o que é consistente com sua "não indução" à resistência para MLS_b³.

O ABT-773, um novo cetolídeo, possui ótima atividade *in vitro* contra cocos Gram-positivos, tanto os resistentes quanto os suscetíveis aos macrolídeos¹⁴.

Mecanismos de ação e resistência

A telitromicina tem sido considerada ativa contra *S. pyogenes erm A - mef A*, mas ela tem

atividade mais baixa contra linhagens com o mecanismo de resistência *erm B* constitutivo. A razão pela qual telitromicina é ativa contra pneumococos *erm B*, mas não contra *S. pyogenes erm B*, não é conhecida no momento¹³.

O tratamento com telitromicina resulta numa baixa frequência de resistência⁶, com uma aparente inabilidade de indução de metilase¹⁴.

O problema representado pelas linhagens resistentes de pneumococos para beta-lactâmicos, macrolídeos e outras combinações, espalhou-se mundialmente e em tal grau que pode-se dizer que estamos no meio de uma pandemia. Através do mundo, a incidência de linhagens de pneumococos que são completamente resistentes para penicilina G está aumentando em relação às linhagens que apresentam resistência intermediária¹².

O ABT-773, o novo cetolídeo a que já nos referimos acima, apresenta uma excelente atividade contra *S. pneumoniae*, estafilococos e outros patógenos respiratórios. Em um estudo com linhagens de *S. pneumoniae* MLS, ABT-773 mostrou afinidade de ligação por ribossomos metilados. Também foi demonstrada a efetividade do ABT-773 contra linhagens de *S. pneumoniae mef A* resistentes a macrolídeos, devido tanto à falta de reconhecimento da droga pela bomba de efluxo, quanto pelo fato de a taxa de influxo ter excedido a capacidade de efluxo da bomba.

Este cetolídeo pode ser muito útil para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas que são susceptíveis, merecendo estudos adicionais¹⁵.

A prevalência de resistência aos macrolídeos, entre pneumococos, é geralmente baixa. Porém, mutações no gene do RNAr e de proteínas ribossômicas podem ocasionar um aumento significativo de resistência aos macrolídeos. A prevalência de resistência aos macrolídeos, que é maior em *S. pyogenes* do que em *S. pneumoniae*, estava associada a quatro clones específicos¹².

Em geral, o determinante de resistência *erm B* é responsável pela maior parte da resistência à

eritromicina detectada em *S. pneumoniae*. A telitromicina tem um nível mais elevado de atividade intrínseca que a eritromicina, contra linhagens susceptíveis e que foram ligeiramente afetadas pelo mecanismo de resistência à eritromicina mediado por *erm B*. Apesar do número pequeno de linhagens com mecanismo de resistência *mef A* (que codifica uma bomba de efluxo), a telitromicina apresentou uma atividade *in vitro* mais efetiva do que a eritromicina¹⁶.

Os mecanismos de resistência a macrolídeos são geralmente devidos aos genes *mef A* e *erm B*, além de mutações na proteína ribossomal L4 e no RNAr 23S^{2,12}.

A resistência a macrolídeos em *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* é devida às metilações no RNAr 23S [*erm B* ou *erm A*] ou ao efluxo ativo destes antibacterianos [*mef A*]. Mutações ribossomais no RNAr 23S e nas proteínas ribossomais L4, que conferem resistência aos macrolídeos, foram descritas em linhagens de *S. pneumoniae*¹².

A resistência aos macrolídeos em *S. pneumoniae* tem sido encontrada em várias regiões e é geralmente mediada por um dos dois mecanismos: (a) atividades da metilase ribossômica codificada pelo gene *erm B* e, raramente, pelo gene *erm A* [*erm TR*], que resultam em linhagens altamente resistentes aos macrolídeos, azalídeos e à clindamicina, ou (b) efluxo de drogas codificado pelos genes *mef*, os quais conferem baixo nível de resistência para o macrolídeo de 14-átomos e os azalídeos, mas não afetam a resposta ao macrolídeo de 16-átomos ou clindamicina¹³.

Outros mecanismos de resistência aos macrolídeos foram descritos para *S. pneumoniae*, incluindo mutações em L4 e L22 e mutações no RNAr 23S na posição 2058 ou 2611 (sistema de numeração de *Escherichia coli*)¹³.

Todos os três cetolídeos foram bastante ativos (MIC, $\leq 0,5 \mu\text{g/mL}$) contra pneumococos com mutação nas proteínas L4 e L22 e no RNAr 23S. A maioria das cepas da linhagem L4 apresenta um MIC com padrão semelhante à linhagem *mef*, sendo suscetível à clindamicina e aos macrolídeos (MIC de 1,0 a

16,0 $\mu\text{g/mL}$). Contudo, para algumas linhagens, os MICs de macrolídeos são mais elevados¹³.

Esses agentes inibem a síntese bacteriana de proteínas através de dois mecanismos: primeiro, através do bloqueio direto da tradução do RNAm e, segundo, interferindo com a união de novas unidades ribossomais¹.

Nos estreptococos, existem dois mecanismos de resistência aos macrolídeos bem caracterizados: a modificação dos sítios alvo de ligação e a ativação do efluxo da droga. A modificação do sítio de ligação é mediada pela metilase codificada pelo gene *erm* (metilação ribossômica por eritromicina). A metilação em A2058 da alça (*loop*) peptidil transferase do RNAr 23S causa resistência aos macrolídeos, assim como aos antibióticos lincosamidas e estreptogramina B (o MSL_B é o fenótipo resistente). A expressão dos genes *erm* também pode ser constitutiva ou induzida. Em estreptococos, os genes *erm* são carregados em ambos, cromossomos e plasmídeos, e são associados com transposons conjugativos. O mecanismo de ativação do efluxo, codificado pelo gene *mef* (efluxo de macrolídeos), é mais específico e causa resistência apenas em macrolídeos de 14 e 15 átomos. A expressão dos genes *mef* é constitutiva. Os genes *mef* são cromossômicos e, pelo menos em um caso, o de *S. pyogenes*, podem ser transferidos por conjugação⁴.

Cetolídeos, assim como outros macrolídeos, interagem com a alça peptidil transferase no domínio V do RNAr 23S. Por exemplo, tanto a telitromicina como a eritromicina protegem as posições A2058, A2059 e G2505 do RNAr 23S contra modificações químicas. Também foi mostrado que o grampo (*hairpin*) 35 no domínio II do RNAr 23S constitui uma parte local que liga os macrolídeos aos cetolídeos. A telitromicina protege contra modificações químicas, e a eritromicina realça as modificações químicas do resíduo A752 no grampo 35. Realmente, utilizando diferentes cetolídeos derivados, tem-se demonstrado que a interação com o grampo 35 é essencial para a atividade antimicrobiana dos cetolídeos. A metilação do A2058 da alça peptidil transferase no V domínio, confere resistência para antibióticos MLS_B, pela

inibição da junção do antibiótico ao ribossomo. Porém, demonstrou-se em *S. pneumoniae* e em muitas outras bactérias que a metilação não protege contra a telitromicina.

Tem sido proposto que, embora a metilação do A2058 debilite a ligação dos macrolídeos e cetolídeos ao ribossomo, interferindo com a interação entre o antibiótico e o resíduo na alça peptidil transferase, ela não impede a forte interação dos cetolídeos com o grampo 35. Essa interação é, então, provavelmente suficiente para ligar o antibiótico ao ribossomo e impedir a síntese de proteínas. Também é verdade que, mutações na alça peptidil transferase podem inibir a ligação de macrolídeos aos ribossomos, mas não inibem a ligação de cetolídeos, se o cetolídeo possui um anel alquil - aril 11/12 de lactona distendido, o qual possa fazer contato com o grampo 35 e com a droga. Isso pode ocorrer em *S. pyogenes*, em que a interação da telitromicina com esta estrutura é mais fraca do que aquela na *S. pneumoniae* e, por causa disso, a telitromicina não pode se ligar aos ribossomos da *S. pyogenes* A2058 metilada. Diferenças estruturais nos ribossomos das duas bactérias também podem explicar as interações entre telitromicina e o grampo⁴.

Os macrolídeos se unem de forma reversível ao domínio V do RNAr 23S. A união se realiza mediante a formação de pontes de hidrogênio entre diferentes radicais *hidroxila* dos macrolídeos (especialmente entre o OH da posição 2' do açúcar desaminado) e determinadas bases do RNAr (especialmente A2058 e A2059). Provavelmente, isto produz uma interação deficiente entre a L-cladinose e o domínio II do RNAr 23S. A telitromicina estabelece os mesmos tipos de uniões, pela interação com o domínio II (adenina 752), através do radical carbamato de C11-C12, que é mais forte. A afinidade da telitromicina pelo ribossomo é 10 vezes maior do que a da eritromicina, e seis vezes superior à da claritromicina. Tanto os macrolídeos quanto os cetolídeos, bloqueiam o orifício de entrada para o canal por onde saem as proteínas do ribossomo⁵.

Os macrolídeos apresentam uma atividade antibacteriana lenta, predominantemente tempo-

-dependente e com efeito pós-antibiótico (EPA). A atividade é considerada bacteriostática frente à maioria dos microorganismos. Se aplicada em concentrações elevadas em meio alcalino e/ou frente a determinados microorganismos como *S. pyogenes* e *S. pneumoniae*, especialmente quando estes estão em fase de crescimento, podem comportar-se como bactericidas. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) são sensivelmente inferiores em pH alcalino (≥ 8), porque a forma ionizada se difunde melhor através da membrana citoplasmática. A adição de soro reduz a CIM e aumenta a atividade de alguns macrolídeos, particularmente a da azitromicina e da espiramicina e, em menor grau, a da claritromicina. A atividade da telitromicina é dependente da concentração (*concentration dependent*) - entre 2 e 10 vezes o valor da CIM. A telitromicina é bactericida frente à *S. pneumoniae* e o seu EPA é mais prolongado que o dos macrolídeos, provavelmente em relação com a taxa de dissociação mais lenta do complexo cetolídeo-ribossomo, produto de sua maior afinidade pelo RNAr. Frente ao *S. pyogenes*, o efeito bactericida é lento, assim como a atividade tempo-dependente. O Synercid® é um excelente bactericida (exceto frente a *E. faecium*) e tem um EPA de 5h frente à maioria dos microorganismos Gram-positivos⁵.

Macrolídeos e cetolídeos têm efeito antiinflamatório independente de sua atividade antimicrobiana. Foram descritos vários sítios de ação (redução da liberação de citocinas pro-inflamatórias ou de oxidantes, aceleração da apoptose de neutrófilos) que não parecem interferir com a atividade antibacteriana dos leucócitos. Outro efeito potencialmente benéfico é a interferência com a síntese de alginato nos cílios de *P. aeruginosa*².

Foram identificados os seguintes mecanismos de resistência adquirida aos cetolídeos: 1) Aparição de mutações estruturais no lugar de união do cetolídeo ao ribossomo; 2) Existência de bombas de efluxo ativo e 3) Presença de enzimas inativantes¹⁴.

As modificações do lugar de ligação ao ribossomo podem consistir em: metilação de um resíduo de adenina e câmbios na seqüência de bases do RNAr 23S ou alterações da proteína ribossômica

L4. A metilação do RNAr 23S obedece à presença de uma enzima (metilase) codificada por genes *erm*, que podem expressar-se de forma constitutiva ou induzida. A indução está relacionada com a presença de cladinosa nos macrolídeos de 14 e 15 átomos. Os macrolídeos de 16 átomos, clindamicina e telitromicina, não induzem a atividade da metilase porque carecem deste açúcar. Foram identificadas 21 classes de genes *erm*⁵ [*mef A*, *erm A*, *erm B*, *erm C* e *msr A*], que podem ser identificados pelo método do *Polymerase Chain Reaction* (PCR) através do uso de primers específicos¹⁴.

O gene que codifica a metilase incorpora grupos metil no nucleotídeo. A monometilação origina resistência cruzada a todos os macrolídeos, a clindamicina e a estreptogramina B (Quinupristina). O fenótipo de resistência resultante se conhece como fenótipo MLS_B. A dimetilação confere resistência também à telitromicina. A telitromicina é ativada frente às linhagens de pneumococos resistentes aos macrolídeos por presença de *erm B* e frente às linhagens de *S. pyogenes* com resistência induzida (talvez não, frente ao *S. pyogenes* com resistência constitutiva), e frente ao *S. aureus* com resistência induzida ou constitutiva. Sinercid® é ativo frente às linhagens de *S. aureus* com fenótipo de resistência MLS_B. Se bem que, se essas linhagens forem resistentes à Quinupristina, a resistência não é cruzada com Dalfopristina e, portanto, a sinergia das ações se mantém, devendo ser apenas bacteriostático o seu efeito⁵.

As mutações cromossômicas que geram modificações na proteína L4 ou na seqüência de bases de RNAr 23S são muito raras; provavelmente, porque existem numerosas cópias do operon que codifica o RNAr 23S. A substituição da proteína L4 altera a estrutura terciária do RNAr 23S no domínio V e influi indiretamente na afinidade pelo macrolídeo. As mutações podem ser selecionadas durante o tratamento, o que pode ser observado quando se emprega um macrolídeo em uma monoterapia contra uma infecção por *S. aureus* ou por *Helicobacter pylori*¹⁷. Foram ainda descritas mutações nas proteínas L22 e L4 que conferem resistência à Quinupristina⁶.

Algumas linhagens de *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* possuem uma proteína de membrana (MEF) que extrai, especificamente, macrolídeos de anéis de 14 ou 15 átomos e é pouco ou nada ativada frente aos de 16 átomos, telitromicina e clindamicina (fenótipo resistente M). Msr A é uma bomba de expulsão ativa (dependente de adenosina trifosfato [ATP]) que pode observar-se em *S. aureus* e é ativada frente a macrolídeos e Quinupristina⁶.

Os fenótipos de resistência MLS_B (mediado pela presença de metilase) e M (devido à presença da bomba de expulsão) são transferidos mediante *transposons*. Em geral, o fenótipo MLS_B origina um nível de resistência a macrolídeos, maior (CIM >16mg/L) do que o fenótipo M (CIM 1-16mg/L)⁵.

Em enterobactérias, foi descrita a presença de enzimas capazes de hidrolisar o anel lactona ou modificar (fosforilação, glicosilação) a posição C 2' (lugar de união dos açúcares ao RNAr 23S). Assim mesmo, foi observada a existência de enzimas inativantes, específicas para cada um dos componentes de Synercid®, no *E. faecium* e no *S. aureus*⁵.

A porcentagem de linhagens resistentes e os mecanismos de resistência variam amplamente, dependendo do país considerado. Na Espanha, mais de 30% de linhagens de *S. pneumoniae* e em torno de 25% de *S. pyogenes* são resistentes à eritromicina. Mas 95% dos pneumococos resistentes possuem uma metilase codificada por *erm B* (fenótipo MLS_B). Na mutação, os 85% de *S. pyogenes* resistentes possuem a proteína *mef* (fenótipo M) e os demais 15% são resistentes por presença de metilase induzida ou constitutiva. A porcentagem de linhagens de *S. pneumoniae* resistentes aos macrolídeos é significativamente superior entre as linhagens resistentes à penicilina. Telitromicina e Synercid® são ativos frente à prática da totalidade de cepas de pneumococos e frente à maioria das linhagens de *S. pyogenes* resistentes a macrolídeos. Na mutação, as linhagens de estafilococos resistentes à eritromicina, o são também à telitromicina⁵.

A potência dos cetolídeos está diretamente associada à sua afinidade com os ribossomos. Cetolídeos podem interagir aleatoriamente com os

outros segmentos de RNAr, assim como algumas mutações de RNAr que tornam as células resistentes à pequena produção de cladinossólidos, ou que não têm efeito na sensibilidade da célula aos cetolídeos¹⁸.

A presença de mutações simples (U2609C) no RNAr 23S foi suficiente para conferir resistência para antibióticos cetolídeos, mas não para macrolídeos que contém cladinose¹⁸.

Já foi verificado que a mutação U2609 afeta a ação dos cetolídeos (envolvendo provavelmente 3 grupos cetos). Nesse caso, altera a identidade química das bases de RNA, interrompendo o contato com as drogas e causando uma redução da afinidade dessa droga ao ribossomo, o que foi exatamente observado em nossos estudos. O contato direto dos cetolídeos com U2609 poderia explicar a mais direta via de resistência aos cetolídeos observada e conferida pela mutação U2609¹⁸.

Uma transição da posição U para C na posição 2609 do RNAr 23S torna células de *E. coli*, resistentes para dois diferentes tipos de cetolídeos, telitromicina e ABT-773, mas aumenta ligeiramente sua sensibilidade para eritromicina e azitromicina, assim como para uma cladinose derivada da telitromicina. Ribossomos isolados de células mutantes têm afinidade reduzida para cetolídeos, enquanto sua afinidade para eritromicina não foi diminuída. Uma possível interação direta dos cetolídeos com posições 2609 na RNAr foi confirmada através da técnica de *footprinting* de RNA¹⁸.

Uma linhagem de *S. aureus* que carrega gene *erm A* ativo apresentou resistência para telitromicina não induzida, ABT-773, clindamicina, quinupristina, dalfopristina, ou para a combinação quinupristina-dalfopristina, depois de incubada na presença de concentrações inibitórias de qualquer umas das combinações¹⁹.

No gene *erm A*, um atenuador traducional, as alterações estruturais incluem deleções de 14, 83, 121, 131, 147 ou 157 bp, três diferentes duplicações em *tandem* de 23, 25, ou 26 bp, dois tipos diferentes de pontos de mutação, assim como os pontos de inserção de IS256. Todas essas alterações previnem

completamente a formação da estrutura secundária do RNAm do gene *erm A*, ou favorecem a formação dessas estruturas, o que permite a tradução dos transcritos de *erm A*. A deleção, que foi observada em pelo menos dois terços dos mutantes, pode ser explicada pela recombinação errada entre diferentes partes da região regulatória de *erm A*¹⁹.

Telitromicina e ABT-773 foram capazes de selecionar os mutantes *erm A* constitutivos. Todos estes apresentaram alterações estruturais no atenuador traducional de *erm A*. Independente do tipo de alteração estrutural, foram observados MICs comumente elevados de telitromicina, ABT-773, quinupristina e clindamicina. Em contraste com a deleção, com as duplicações em *tandem* e com os pontos de mutação, a expressão constitutiva de *erm A* após a inserção de IS256 na região atenuadora da tradução representa uma nova descoberta no mecanismo de resistência aos cetolídeos mediana por este gene. A observação de mutantes *erm A* constitutivos, que também apresentaram resistência aos cetolídeos, poderia sustentar a recomendação de que os cetolídeos não deveriam ser usados em infecções com *Staphylococcus* que mostre resistência induzida para antibióticos MLS_B¹⁹.

As linhagens de MLS_B com baixo nível de resistência para macrolídeos com 14 e 15 átomos e susceptíveis à telitromicina possuem o gene *erm TR*, enquanto as linhagens altamente resistentes aos macrolídeos e intermediários, ou resistentes à telitromicina apresentam o gene *erm B*³.

A resistência aos macrolídeos aumentou de 10,3%, em 1994-1995, para 26,2%, em 1999-2000, enquanto a resistência à clindamicina aumentou de 3,5% entre os anos de 1997-1998, para uma taxa de 9,2% no período de 1999-2000 (a clindamicina não foi testada em 1994-1995). A resistência à tetraciclina mais que dobrou, aumentando de 7,6% em 1994-1995, para 16,6% em 1999-2000. A resistência à tetraciclina mais que dobrou, aumentando de 7,6% em 1994-1995, para 16,6% em 1999-2000. A resistência à trimetoprim - sulfametóxiazol - TMP-SMX aumentou, de 9,1% desde 1994-1995, para uma taxa de 35,9% no período de 1999-2000, enquanto

a resistência ao cloranfenicol dobrou, de 4,3% em 1994-1995, para 8,3% durante os anos de 1999-2000²⁰.

A resistência aos macrolídeos nos pneumococos em geral é mediada pela metilação do RNAr 23S via metilase ou por um efluxo da droga via *mef* A, o que pode conferir insensibilidade a macrolídeos (M⁻), lincosamidas (L⁻), e estreptogramina B (S_B⁻)²¹.

Indicações clínicas

As recomendações para o tratamento empírico de pneumonia adquirida na comunidade (NAC) incluem uma monoterapia com um macrolídeo, entre as opções de tratamento domiciliar, e a associação de beta-lactâmicos com um macrolídeo, entre as opções de tratamento hospitalar⁵.

Entre estas destacam-se: 1) Seu espectro antibacteriano, mais amplo que o da penicilina, atingindo a maioria dos microrganismos causadores de faringites, como *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* e *Archaeobacterium haemolyticum*⁵; 2) A atividade frente ao *S. pyogenes*, o qual sobrevive no citoplasma celular, sendo esta uma das possíveis causas da dificuldade da penicilina para erradicar este microrganismo da faringe⁵.

Devido à excelente atividade *in vitro* do ABT-773 contra cocos Gram-positivos suscetíveis e resistentes a macrolídeos, sugere-se que este seja utilizado no tratamento de infecções respiratórias causadas por estes patógenos, particularmente estreptococos¹⁴.

Efeitos adversos

Os efeitos adversos mais frequentes nos pacientes tratados com telitromicina são os gastrointestinais (diarréia, náuseas e vômitos). Também foram descritos casos de icterícia colestásica. Além disso, os macrolídeos e a telitromicina se incluem na categoria B de fármacos administrados durante a gravidez⁵.

Interação com outros fármacos

A telitromicina é metabolizada no sistema enzimático do citocromo P-450, fundamentalmente através da isoenzima 3A4. Os metabólitos resultantes da oxidação formam complexos inativos com a CYP3A4. A depuração de outros fármacos que utilizam a mesma via metabólica se reduz em maior ou menor grau, com conseqüente aumento de sua concentração sérica. Entre estes fármacos incluem-se: carbamacepina, ácido valpróico, ciclosporina, tacrolimus, teofilina, benzodiazepinas, estatinas, bloqueadores dos canais de cálcio, warfarina, alcalóides da ergotamina, metilprednisolona e inibidores de protease. A administração conjunta de telitromicina com algum destes fármacos deve ser evitada ou então devem ser administradas doses mais baixas e ajustadas para o controle de concentração sérica⁵.

REFERÊNCIAS

1. Namour F, Wessels DH, Pascual MH, Reynolds D, Sultan E, Lenfant B. Pharmacokinetics of the new ketolide telithromycin (HMR 3647) Administered in ascending single and multiple doses. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(1):170-5.
2. Marques EP, Dias JN, Pinheiro S, Souza LBS, Santana WJ, Coutinho HDM. Antibióticos macrolídeos: microrganismos e mecanismos de resistência. *Sci Med.* 2004; 14(3):284-96.
3. Bemer-Melchior P, Juvin ME, Tassin S, Bryskier A, Schito GC, Drugeon HB. *In vitro* activity of the new ketolide telithromycin compared with those of macrolides against *Streptococcus pyogenes*: influences of resistance mechanisms and methodological factors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(11): 2999-3002.
4. Jalava J, Kataja J, Seppälä H, Huovinen P. *In vitro* activities of the novel ketolide telithromycin (HMR 3647) against erythromycin-resistant *streptococcus* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(3): 789-93.
5. Mensa J, Garcia-Vazquez E, Vila J. Macrólidos, cetólidos y estreptograminas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2003; 21(4): 200-8.
6. Bermudez LE, Inderlied CB, Kolonoski P, Wu M, Aralar P, Young LS. Telithromycin is active against

- Mycobacterium Avium* in mice despite lacking significant activity in standard *in vitro* and macrophage assays and is associated with low frequency of resistance during treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(8):2210-4.
7. Martins GPR, Portela MC, Santana WJ, Souza LBS, Coutinho HDM. Diagnóstico e tratamento de infecções por *Mycobacterium avium intracellulare*. *Rev Méd Ana Costa.* 2005; 10(2):33-5.
 8. Saunders T, Queiroz L, Benício L, Cordeiro LN, Souza LBS, Santana WJ, et al. Bactérias Gram-positivas resistentes a antibióticos. *Rev Bras Med.* 2005; 62(1/2):23-6.
 9. Melo AGR, Matos CP, Lima JST, Mello MVO, Souza LBS, Santana WJ, et al. Aspectos epidemiológicos de *Bordetella pertussis*. *Sci Med.* 2004; 14(2):159-64.
 10. Kenny G, Cartwright F. Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M. pneumoniae*, and *Ureaplasma urealyticum* to GAR-936, Dalbapristin, Dirithromycin, Evernimicin, Gatifloxacin, Linezolid, Moxifloxacin, Quinupristin-Dalbapristin, and telithromycin compared to their susceptibilities to reference Macrolides, Tetracyclines, and Quinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(9):2604-8.
 11. Linhares Neto GC, Rocha HMC, Silva JA, Santana WJ, Souza LBS, Coutinho HDM. fatores de virulência do gênero *Porphyromonas*. *Rev Ciên Méd.* 2005; 14(2):213-8.
 12. Kozlov RS, Bogdanovitch TM, Appelbaum PC, Ednie L, Stratchounski LS, Jacobs MR, et al. Antistreptococcal activity of telithromycin compared with seven other drugs in relation to macrolide resistance mechanisms in Russia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(9):2963-8.
 13. Nagai K, Davies TA, Ednie LM, Bryskier A, Palavecino E, Jacobs MR, et al. Activities of a new fluoroketolide, hmr 3787, and its (des)-fluor derivative RU 64399, compared to Those of Telithromycin, Erythromycin A, Azithromycin, Clarithromycin, and Clindamycin against Macrolide-Susceptible or -Resistant *Streptococcus pneumoniae* and *S. Pyogenes*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(11): 3242-5.
 14. Shortridge VD, Zhong P, Cao Z, Beyer JM, Almer LS, Ramer NC, et al. Comparison of *In Vitro* Activities of ABT-773 and Telithromycin against Macrolide-Susceptible and -Resistant Streptococci and Staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(3):783-6.
 15. Singh KV, Malathum K, Murray BE. *In Vitro* Activities of a New Ketolide, ABT-773, against Multidrug-Resistant Gram-Positive Cocci. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(12):3640-3.
 16. Morosini MI, Cantón R, Loza E, Negri MC, Galán JC, Almaraz F, et al. *In Vitro* Activity of Telithromycin against Spanish *Streptococcus pneumoniae* Isolated with characterized Macrolide Resistance Mechanisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(9):2427-31.
 17. Silveira JA, Filho JES, Souza LEO, Souza LBS, Santana WJ, Coutinho HDM. Fatores de virulência e características epidemiológicas de *Helicobacter pylori*. *Rev Méd Ana Costa.* 2005; 10(2):28-31.
 18. Garza-Ramos G, Xiong L, Zhong P, Mankin A. Binding site of macrolide antibiotics on the ribosome: new resistance mutation identifies a specific interaction of ketolides with rRNA. *J Bacteriol.* 2001; 183(23): 6898-907.
 19. Schmitz FJ, Petridou J, Jagusch H, Astfalk N, Scheuring S, Schwarz S. Molecular characterization of ketolide-resistant *erm(A)*-carrying *Staphylococcus aureus* isolates selected *in vitro* by telithromycin, ABT-773, quinupristin and clindamycin. *J Antimicrob Chemother.* 2002; 49(4):611-7.
 20. Doern GV, Heilmann KP, Huynh HK, Rhomberg PR, Coffman SL, Brueggemann AB. Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance rates since 1994-1995. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45(6):1721-9.
 21. Tait-Kamradt A, Davies T, Appelbaum PC, Depardieu F, Courvalin P, Petitpas J, et al. Two new mechanisms of macrolide resistance in clinical strains of *Streptococcus pneumoniae* from Eastern Europe and North America. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(12):3395-401.

Recebido em: 31/8/2004

Versão final reapresentada em: 17/1/2006

Aprovado em: 7/2/2006