

PREVALÊNCIA DE BETALACTAMASES DE ESPECTRO AMPLIADO (ESBL) EM ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS DO TRATO URINÁRIO DE PACIENTES AMBULATORIAIS DE SANTA MARIA - RS¹

*PREVALENCE OF EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASES
(ESBL) IN ISOLATED ENTEROBACTERIAS OF THE URINE
THERAPY (UROTHERAPY) IN AMBULATORIAL PATIENTS FROM
SANTA MARIA – RS*

**Gláucia Soares², Jaqueline Urban Moura², Éder Moraes Saucedo²,
Renata da Silva Pereira² e Roberto Christ Vianna Santos³.**

RESUMO

As betalactamases de espectro ampliado (ESBL) são enzimas capazes de hidrolizar o anel betalactâmico de fármacos como cefalosporinas e monobactâmicos. Essas enzimas são produzidas por enterobactérias, tais como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*. A produção dessas enzimas constitui um dos principais mecanismos de resistência das enterobactérias. A detecção prévia de ESBL não acarreta custos adicionais, pois os antimicrobianos necessários para tal detecção podem fazer parte do conjunto de discos utilizados na rotina laboratorial. Foram avaliadas 51 linhagens de enterobactérias, isoladas de amostras clínicas, provenientes de um laboratório privado de Santa Maria. Essas foram identificadas, bioquimicamente, por técnicas de rotina. O teste confirmatório de produção dessas enzimas foi executado pela técnica de adição de ácido clavulânico ao disco de ceftazidima. O teste de triagem detectou 7 (13,7%) amostras suspeitas de serem produtoras de ESBL, dessas 2 (3,85%) foram produtoras de ESBL. A detecção dessas cepas produtoras de ESBL é de fundamental importância, pois reduz a possibilidade de falha terapêutica.

Palavras - chave: ESBL, resistência, prevalência, enterobactérias.

1. Trabalho de Iniciação Científica – UNIFRA
2. Acadêmicos do Curso de Farmácia - UNIFRA.
3. Orientador - UNIFRA.

ABSTRACT

*The Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) are enzymes which are able to hydrolyze the ring β -lactam of pharmacologic agents as cephalosporins and monobactams. These enzymes are produced by enterobacterias, such as *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*. The production of these enzymes forms one of the main mechanisms of enterobacteria resistance. The previous detection of ESBLs does not cause additional costs, because the necessary antimicrobials for that detection might take part of the kit of discs which are used in the laboratorial routine. Fifty-one enterobacteria lineages were tested, these lineages were isolated from clinical samples, coming from a private laboratory in Santa Maria. These were identified, in a biochemistry way, by routine techniques. The test that confirms the enzyme production was taken by the technique of adding clavulanic acid to the ceftazidime disc. The selection test detected 7 (13,7%) samples which are suspected of being ESBL producers. Two of these samples were actually ESBL producers. The detection of these ESBL producers is extremely important, because it reduces the possibility of therapeutic failure.*

Keywords: *ESBLs, resistance, prevalence, enterobacterias.*

INTRODUÇÃO

Entre os principais problemas de resistência microbiana nos hospitais brasileiros, podem ser mencionadas as bactérias produtoras de betalactamases de espectro ampliado (ESBL). Atualmente, essas representam o maior grupo de betalactamases estudado mundialmente e têm sido motivo de extensivas investigações microbiológicas, bioquímicas, genéticas e epidemiológicas (PEREIRA et al., 2003). As ESBLs são enzimas que conferem resistência as cefalosporinas de amplo espectro, como a cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, e ao monobactâmico aztreonam.

São produzidas, principalmente, por *klebsiella* sp. e *escherichia coli* e a prevalência crescente dessas amostras tem sido mencionada em hospitais e, em menor escala, nas análises ambulatoriais, representando um impacto significativo nas prescrições de antimicrobianos. Atualmente, o principal mecanismo de resistência das enterobactérias é a produção dessas enzimas, que provocam uma alteração no perfil de

resistência desse grupo (HONÓRIO et al., 2001; PEREIRA et al., 2003; SANTOS et al., 2003).

Existem alguns antimicrobianos betalactâmicos que conservam a sua atividade diante dos enterobactérias produtoras de ESBLs. Os carbapenêmicos são mais efetivos, possuem maior resistência à hidrólise por esse tipo de enzima. Seu uso, porém, também deve ser moderado, já que tem sido descrito um aumento da resistência a esses fármacos em outras espécies bacterianas, como *acinetobacter baumannii* e *pseudomonas aeruginosa* (SILVA ; SALVINO, 2000; SOUSA et al., 2004).

A diferença de resistência das ESBLs às cefalosporinas torna difícil a detecção desses microrganismos, ou seja, essas enzimas nem sempre produzem um fenótipo de resistência detectável pelo critério interpretativo do método de disco difusão, proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2000) (HONÓRIO et al., 2001). O grau de resistência irá depender da quantidade de enzima produzida, da habilidade dessa enzima em hidrolisar o antimicrobiano em questão e da velocidade com que o betalactâmico penetra pela membrana externa da bactéria (SOUSA et al., 2004).

Na maioria dos laboratórios de rotina, especialmente nos laboratórios de pequeno e médio porte, em consequência das dificuldades técnicas de detecção, a prevalência de betalactamases de espectro ampliado é geralmente subnotificada e permanece desconhecida. Desse modo, a falha na identificação de ESBLs, através de testes de rotina, pode levar a uma utilização inapropriada de cefalosporinas de terceira geração com consequente aumento de mortalidade.

Existem relatos que evidenciam a falha terapêutica, quando infecções causadas por cepas produtoras de ESBL são tratadas com cefalosporinas de terceira geração, mesmo quando testes de sensibilidade apontam essas cepas como sensíveis aos antimicrobianos utilizados (HONÓRIO et al., 2001; SANTOS et al., 2003).

Por isso, é extremamente importante avaliar a frequência de bactérias produtoras de ESBL para que se possa estabelecer, como rotina, no laboratório de microbiologia clínica, a inclusão dos antimicrobianos nos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos que auxiliam em tal identificação (SOUSA et al., 2004). Diante da preocupação existente em relação à resistência das ESBL aos antimicrobianos betalactâmicos, os laboratórios clínicos devem ter cuidados especiais com a detecção dessas bactérias através da análise crítica do antibiograma, pois muitas cepas podem ser produtoras de ESBL, mas não serão descobertas pela

ausência de suas características fenotípicas conhecidas.

Tendo em vista a disseminação de cepas produtoras de betalactamases de espectro ampliado (ESBL) ao redor do mundo, aliado o fato de haver poucos dados acerca das ESBLs relatadas em nosso Estado e não existirem dados sobre prevalência em Santa Maria, torna-se importante a realização de trabalhos desta natureza. Assim o objetivo neste trabalho foi determinar a prevalência de enterobactérias produtoras de betalactamases de Espectro Ampliado (ESBL) em pacientes ambulatoriais de Santa Maria-RS.

METODOLOGIA

Os isolados clínicos foram obtidos através de cultura bacteriológica de urina, de pacientes ambulatoriais atendidos em laboratório de médio porte, localizado em Santa Maria, Rio Grande do Sul, no período de março a outubro de 2006. As técnicas de cultura primária, identificação bacteriana e testes de sensibilidade foram desenvolvidas, conforme técnicas padrões utilizadas no setor de microbiologia do laboratório e seguindo as determinações do NCCLS (2000). O teste de triagem para ESBL foi realizado de acordo como os critérios preconizados pelo NCCLS (2000), pelo qual são estabelecidos os valores para os tamanhos dos halos de inibição, no teste de disco difusão, para triagem presuntiva de amostras potencialmente produtoras de ESBL: ≤ 25 mm para Ceftriaxona, ≤ 27 mm para Aztreonam, ≤ 22 mm para Cefotaxima e ≤ 27 mm para a Cefotaxima (NCCLS, 2000). Esses valores sugerem bactérias, possivelmente, produtoras de ESBL. O teste confirmatório para ESBL utilizado foi o método de adição do ácido clavulânico ao disco de Cefotaxima. Um aumento no halo de inibição maior que 5 mm do antimicrobiano associado ao inibidor de betalactamase, quando comparado ao halo de inibição do antimicrobiano sozinho, é indicativo da produção de ESBL. Todos os testes foram realizados no Laboratório de Microbiologia Clínica do Curso de Farmácia do Centro Universitario Franciscano-UNIFRA. O controle de qualidade foi realizado através da utilização de cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC) de *Escherichia coli* ATCC 25922 (não produtora de ESBL) e *K. pneumoniae* ATCC 700603 (produtora de ESBL).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 51 isolados bacterianos, oriundos do trato urinário, sendo que todas eram cepas de *escherichia coli*. Todas as

amostras bacterianas foram obtidas a partir de urina de jato médio.

Neste estudo, das 51 amostras bacterianas analisadas, 7 (13,7%) amostras foram suspeitas de serem possíveis produtoras de ESBL, sendo então submetidas ao teste de confirmação da produção de ESBL, através da técnica da adição de ácido clavulânico ao disco de ceftazidima, conforme pode ser visualizado na tabela 1.

Entre as 51 amostras analisadas, 2 (3,85%) foram caracterizadas como produtoras de ESBL, em isolados do trato urinário.

Tabela 1. Prevalência de bactérias produtoras de ESBL.

Número total de amostras	Amostras suspeitas	Amostras negativas
51 (100%)	7 (13,7%)	44 (86,3%)

Existe hoje uma grande variedade de trabalhos de prevalência de ESBL, relatando a porcentagem de microrganismos produtores de ESBL em diversas partes do mundo. As bactérias isoladas com maior frequência na produção de ESBL são cepas do gênero *klebsiella*, seguidas por isolados de *escherichia coli*. Contudo, existem casos isolados, nos quais o número de amostras estudadas é pequeno, aumentando a porcentagem final.

A prevalência de ESBL varia de acordo com diferentes regiões ou o tipo de paciente, se ambulatorial ou hospitalizado. Em um estudo com mais de 3000 cepas de *enterobacteriaceae*, de 43 hospitais britânicos, foram encontrados somente 1 % de isolados, produtores de ESBL (SOUSA et al., 2004). Em hospitais brasileiros, é reportada a prevalência de 9% de *e. coli* e 50% de *k. pneumoniae*, produtores de ESBL. Em Ribeirão Preto, São Paulo, os índices de positividade para ESBL, variaram de 29% para cepas de *k. oxytoca*, 6,6% em cepas de *k. pneumoniae* e 1,6% para *e. coli*. Em Porto Alegre, houve 1,5% de positividade para *e.coli*, e 21,4% para *k pneumoniae*. Nenhuma amostra de *klebsiella oxytoca* foi produtora de ESBL (FONTANA, 2002; SANTOS et al., 2003). Outro estudo, realizado em João Pessoa, Paraíba, demonstrou uma positividade para ESBL de 10,2% (HONÓRIO et al., 2001; FREITAS et al., 2003).

Através do estudo realizado, pode-se perceber que a prevalência de ESBL não foi muito elevada em comparação aos dados já existentes. Isso se deve, possivelmente, ao local onde o estudo foi realizado. O laboratório estudado é um particular, de porte médio que atende, exclusivamente, a pacientes de ambulatório, e não a chamados hospitalares, nos quais a disseminação dessas cepas é maior.

O método de adição de ácido clavulânico ao disco de ceftazidima pode ser realizado em qualquer laboratório de microbiologia, porém acarreta custos adicionais. O disco comercializado de ceftazidima/ácido clavulânico apresenta custo três vezes maior em comparação à adição manual de ácido clavulânico ao disco de ceftazidima. Aqueles laboratórios que não possuem uma rotina tão grande podem, seguramente, utilizar a técnica de adição de ácido clavulânico preparada no laboratório, já que seu custo é menor e sua sensibilidade e especificidade já foram comprovados em diversos estudos (HONÓRIO et al.2001; FREITAS et al., 2003; SANTOS et al., 2003).

Além de gerar dados incorretos de prevalência, a ausência de detecção dessas amostras leva à utilização de uma terapêutica incorreta com conseqüências graves para o paciente. A resistência bacteriana, decorrente da produção de ESBL, pode também ser induzida durante uma terapêutica, gerando um problema que independe do procedimento laboratorial adotado anteriormente, ou seja, quando a amostra bacteriana é detectada pelo laboratório de microbiologia, ela é, aparentemente, sensível às cefalosporinas de terceira geração de penicilinas de amplo espectro, porém, durante o tratamento, ocorre a indução da produção de grandes quantidades de enzimas e o paciente começa a não evoluir, ocorrendo recidiva da infecção. Então uma nova amostra da bactéria é isolada e essa poderá se mostrar resistente a um antimicrobiano, para o qual, a bactéria era inicialmente sensível, podendo até ser interpretada como erro laboratorial, quando da avaliação da primeira amostra.

É de extrema importância que o laboratório clínico esteja preparado para a detecção de mecanismos de resistência. Deve-se ter uma atenção especial ao detectar possíveis bactérias produtoras de ESBL, fazendo uma análise detalhada do antibiograma, já que, muitas vezes, essas bactérias induzem a um resultado falso negativo, acarretando em falha terapêutica no tratamento do paciente. Isso porque muitas bactérias podem ser produtoras de ESBL, mas não são descobertas, pois ainda não se tem conhecimento de suas características fenotípicas.

Por isso, é muito importante o trabalho conjunto do profissional que prescreve o antimicrobiano com o analista clínico, já que, dessa forma, evitaria a prescrição de um antimicrobiano ineficaz ao paciente e ainda ocasionaria menos gastos, diminuiria a resistência antimicrobiana e evitaria o uso indiscriminado de medicamentos.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que, no laboratório, em que foi realizada a

pesquisa, a prevalência de enterobactérias produtoras de ESBL é baixa. O fato de ser um laboratório particular, de porte médio e com uma rotina pequena no setor de microbiologia justifica os resultados.

Existe, porém, uma pequena prevalência e, por isso, é de fundamental importância que se realizem mais estudos em Santa Maria, que afinal é um município que conta com grandes centros hospitalares, os quais comportam um grande número de pacientes de diversas regiões do estado. Sendo assim uma ampla variedade de amostras e antibiogramas são analisadas diariamente, sendo essas provenientes de diferentes sítios infecciosos e portando relatando uma variedade maior de enterobactérias, ou seja, não só de *Escherichia coli* como no laboratório estudado, o que reportaria, provavelmente, em um número maior de amostras possíveis produtoras de ESBL.

Conforme o que foi analisado, ficou provada a importância de um estudo clínico detalhado dos antibiogramas, da detecção de cepas resistentes por técnicas que ainda não são rotina nos laboratórios, visto que, dessa forma, poderão ser evitadas possíveis falhas terapêuticas. O crescente aumento da resistência pode ser evitado, assim como muitas mortes ocasionadas por essas falhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FONTANA, A. **Comparação dos métodos de disco – difusão comercial e adição de ácido clavulânico ao disco de ceftazidima frente à detecção de bactérias produtoras de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL)**. 2002. 20fl. Porto Alegre, 2002. Monografia (Graduação em Farmácia). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

FREITAS, A.L.P. et al. Extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella* spp and *Escherichia coli* obtained in a Brazilian Teaching Hospital: Detections, Prevalence and Molecular Typing. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, n. 34, p. 344-348, 2003.

HONÓRIO, L.C. et al. Análise do perfil de resistência de enterobactérias produtoras de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL) isolados em João Pessoa, PB. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Rio de Janeiro, v. 33, n. 4, p. 179-182, 2001.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance standards for antimicrobial suscepti-**

bility tests. Approved standard M-7 A-5, 5th ed. Wayne, PA. National Committee for clinical Laboratory Standards, 2000.

PEREIRA, A.S. et al. Avaliação da acurácia de testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtora de betalactamase de espectro estendido. **Jornal Brasileiro de Patologia e medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v.39, n.4, p. 301-308, 2003.

SANTOS, R. C. V. et al. Prevalência de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* produtoras de β -Lactamases de Espectro Estendido (ESBL) em pacientes do Hospital Divina Providência, Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Rio de Janeiro, v. 35, n. 2, p. 55-57, 2003.

SILVA, C. H. P. M.; SALVINO, C. R. Importância do reconhecimento das enterobactérias hospitalares produtoras de Beta-Lactamases de Espectro Estendido (ESBL) e suas implicações terapêuticas. **NewsLab**. São Paulo, ed. 41, p. 104-112, 2000.

SOUSA, M. A. J. et al. Betalactamases de espectro ampliado (ESBL): um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no Laboratório Clínico. **NewsLab**. São Paulo, v. 63, p.152-174, 2004.