

Enterobactérias produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing enterobacteria in urine cultures of renal transplanted patients: frequency and resistance profile

Flávio Cristiano Barbosa Rodrigues¹

Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita²

Resumo

Objetivo: Determinar a frequência e o perfil de resistência de enterobactérias produtoras de ESBL em uroculturas de pacientes transplantados renais delineando o referido problema neste grupo de risco. **Métodos:** Foram analisados laudos do arquivo do laboratório Escola ASCES entre janeiro de 2012 e março de 2014. **Resultados:** Durante o período do estudo foram analisadas 202 amostras de urina das quais 63 amostras foram positivas para enterobactérias. Dentre essas amostras positivas, 28,57% (18) foram positivas para ESBL. A bactéria mais frequentemente isolada foi *E. coli* (50%), seguida por *K. pneumoniae* (11,1%) e *K. oxytoca* (5,5%). Com relação ao perfil de resistência, as cepas ESBL positivas demonstraram 100% de resistência aos beta-lactâmicos. **Conclusão:** A frequência de enterobactérias ESBL positivas encontrada neste estudo foi elevada e *E. coli* foi a bactéria mais isolada. Porém, mais estudos devem ser realizados, relacionando resistência bacteriana e a transmissão desta bactéria em pacientes transplantados.

Palavras-chave

Infecções urinárias; Transplante de rim; *Enterobacteriaceae*; Beta-lactamases; Farmacorresistência bacteriana

INTRODUÇÃO

Infecções do trato urinário (ITUs) constituem uma das principais causas de consultas médicas em todo o mundo e, no Brasil, elas são responsáveis por 8% dessas consultas. Entre os indivíduos internados, a ITU é a infecção bacteriana mais comum, 12% a 30% dessas pessoas apresentam um episódio de infecção por ano.⁽¹⁻³⁾

Os principais fatores de risco para as ITUs são: diabetes, atividade sexual e gravidez nas mulheres e imunossupressão em pacientes transplantados renais. A prevalência desta doença nestes pacientes varia de 35% a 80%, ocorrendo principalmente nos primeiros três meses após o transplante.^(2,4,5)

Diversas espécies bacterianas podem causar ITU, entretanto os principais gêneros pertencem à família *Enterobacteriaceae*, sendo *Escherichia coli* a enterobactéria mais frequente em infecções urinárias, responsável por 70% a 90% dos casos. Esses índices são semelhantes em diferentes regiões do mundo, entretanto o perfil de resistência

dessas bactérias aos antimicrobianos possui grande variação e estrita relação com o histórico de utilização de antimicrobianos de cada população e região.^(2,5,6)

O crescente aumento da resistência bacteriana em uroculturas tem motivado a contínua avaliação dos perfis de sensibilidade das bactérias isoladas na urina. Embora existam pesquisas relatando uma grande variedade de mecanismos de resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, um dos mais importantes é a produção de enzimas. Uma dessas importantes enzimas é a beta-lactamase, responsável por hidrolisar o anel beta-lactâmico de antimicrobianos como penicilinas e cefalosporinas, tornando-os inativos.⁽⁷⁻¹⁰⁾

Essas beta-lactamases conhecidas como clássicas, foram denominadas de TEM-1, TEM-2 e SHV-1. Posteriormente foram descobertas mutações nessas enzimas, as quais passaram a ser chamadas de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBL), capazes de hidrolisar o anel beta-lactâmico de cefalosporinas de terceira geração e dos monobactâmicos.^(8,9,11)

¹Graduado em Biomedicina. Associação Caruaruense de Ensino Superior - ASCES, Caruaru, PE, Brasil.

²Biomédica. Mestre. Universidade federal de Pernambuco – UFPE – Recife, PE, Brasil.

Instituição: Associação Caruaruense de Ensino Superior - ASCES – Caruaru, PE, Brasil.

Artigo recebido em 29/01/2015

Artigo aprovado em 01/02/2016

Existem diversos estudos relatando a ocorrência de bactérias produtoras de ESBL.^(11,14) Entretanto, poucos descrevem a ocorrência desse grupo de microrganismos em pacientes transplantados, especialmente em transplantados renais.^(15,16) Devido a esse fato, o presente estudo objetivou determinar a frequência e o perfil de resistência de enterobactérias produtoras de ESBL em uroculturas de pacientes transplantados renais atendidos no Laboratório Escola ASCES no município de Caruaru, Pernambuco, delineando o referido problema neste grupo de risco.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo transversal, de levantamento documental de caráter quantitativo das uroculturas de pacientes transplantados renais realizadas no Laboratório Escola ASCES no município de Caruaru, Pernambuco, no período de janeiro de 2012 a março de 2014.

A análise dos documentos foi realizada de acordo com as seguintes variáveis classificatórias: sexo, idade, agente etiológico e sensibilidade aos antimicrobianos, sendo cuidadosamente analisados os dados de pacientes com uroculturas positivas para enterobactérias produtoras de ESBL.

As bactérias presentes na urina, cujo crescimento foi igual ou superior a 100.000 UFC/mL, foram identificadas através da coloração de Gram e provas bioquímicas de identificação como: fermentação de carboidratos, motilidade, produção de H₂S, gás, indol, utilização do citrato como fonte de carbono. O perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos foi determinado pela metodologia de disco-difusão, de acordo com as normas do CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*). A triagem fenotípica para produção de ESBL foi realizada pela técnica de disco aproximação também segundo as normas do CLSI.⁽¹⁷⁾

Ética

O levantamento dos dados foi realizado de forma a garantir total sigilo e anonimato dos nomes dos pacientes e demais dados obtidos nos livros de registro de laudos analisados.

O estudo proposto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade ASCES, protocolo nº 797.544.

RESULTADOS

Durante o período do estudo foram analisadas 202 amostras de urina das quais 63 foram positivas para enterobactérias. Dentre essas amostras positivas, 28,57% (18) foram positivas para ESBL. A bactéria mais frequentemente isolada foi *E. coli*, representando 50% das amostras, seguida por *K. pneumoniae* (11,1%) e *K. oxytoca* (5,5%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Enterobactérias produtoras de ESBL isoladas em amostras de urina

| Microrganismos | Número de amostras ESBL positivas |
|--------------------------|-----------------------------------|
| <i>E. coli</i> | 9 (50,0) |
| <i>K. pneumoniae</i> | 2 (11,1) |
| <i>K. oxytoca</i> | 1 (5,5) |
| <i>Klebsiella</i> spp. | 1 (5,5) |
| <i>E. aerogenes</i> | 1 (5,5) |
| <i>Enterobacter</i> spp. | 1 (5,5) |
| <i>P. vulgaris</i> | 1 (5,5) |
| <i>C. koseri</i> | 1 (5,5) |
| <i>Serratia</i> spp. | 1 (5,5) |
| Total | 18 (100%) |

Os perfis de resistência dos isolados estão demonstrados na Tabela 2. Com relação ao perfil de resistência aos antimicrobianos, as cepas ESBL positivas demonstraram 100% de resistência aos beta-lactâmicos.

Tabela 2 - Perfil de resistência das bactérias ESBL positivas

| Antimicrobianos | Nº (%) de cepas resistentes |
|-------------------------------|-----------------------------|
| Norfloxacina | 18 (100) |
| Ciprofloxacina | 18 (100) |
| Ampicilina + sulbactam | 18 (100) |
| Ceftazidima | 18 (100) |
| Aztreonam | 18 (100) |
| Cefotaxima | 18 (100) |
| Ceftriaxona | 18 (100) |
| Amoxicilina - ac. Clavulanico | 18 (100) |
| Cefepime | 18 (100) |
| Cefalotina | 18 (100) |
| Sulfametoxazol+trimetoprim | 18 (100) |
| Piperacilina + tazobactam | 15 (83,3) |
| Nitrofurantoina | 12 (66,6) |
| Gentamicina | 8 (44,4) |
| Cefoxitina | 8 (44,4) |
| Linezolid | 4 (22,2) |
| Imipenem | 0 |
| Meropenem | 0 |

DISCUSSÃO

Embora infecções com enterobactérias produtoras de ESBL sejam reconhecidas como uma importante causa de morbidade após o transplante de órgãos sólidos, as pesquisas neste grupo de pacientes ainda são muito limitadas.⁽¹⁵⁾ Entretanto, existem diversos trabalhos relatando o isolamento e a resistência desses microrganismos em diversas partes do mundo.^(14,18,19)

Em nosso estudo, das 63 amostras positivas para enterobactérias 28,57% apresentaram positividade para ESBL. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Lago et al.⁽¹¹⁾ em Passo Fundo, no Rio Grande do Sul, e por Mendes et al.⁽²⁰⁾ No primeiro estudo, os pesquisadores analisaram diversas amostras biológicas de origem hospitalar e concluíram que 24,8% dos isolados foram enterobactérias produtoras de ESBL. No segundo trabalho, os autores encontraram uma positividade de 29% para enterobactérias produtoras de ESBL também em amostras de origem hospitalar.

A literatura relata que *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli* são os principais reservatórios dos genes que codificam ESBL dentro do ambiente hospitalar. No entanto, outros gêneros bacterianos como *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. e *Serratia* spp. já foram identificados com a mesma resistência.⁽²¹⁾

Nosso estudo ratifica essas informações, visto que, dos 28,57% das cepas ESBL positivas, 50% foram de *E. coli* e 22,1 % foram de *Klebsiella* spp. Pesquisas realizadas por Silva e Salvino⁽²¹⁾ em Vitória, Espírito Santo, evidenciaram também uma positividade para cepas de *Klebsiella* spp. (69,7%) e *E. coli* (17%), porém com uma frequência diferente da encontrada em nosso estudo para as referidas espécies bacterianas. Porém, os resultados deles corroboram com os nossos em relação à positividade para *E. coli*, produtora de ESBL (50,8%).

Com relação ao perfil de resistência das cepas isoladas, chama atenção a forte relação encontrada entre bactérias produtoras de ESBL e resistência aos inibidores da síntese do folato (sulfametoxazol-trimetoprim). Nosso estudo revelou que 100% das cepas ESBL positivas também foram resistentes aos inibidores da síntese do folato. Segundo, Fox et al.,⁽²²⁾ isso acontece porque esse antibiótico é utilizado na fase pós-transplante para prevenir a ocorrência de infecções urinárias.

Outro fato relevante observado em nosso estudo foi a resistência aos inibidores de beta-lactamases, como ampicilina-sulbactam e amoxicilina-ácido clavulânico, que chegou a 100%, e piperacilina-tazobactam, com 83,33% de cepas resistentes, resultado muito acima do encontrado por Lago et al.,⁽¹¹⁾ que, em seus estudos, observaram 32,6% de resistência a piperacilina-tazobactam. De acordo com esses valores encontrados, os pesquisadores sugerem a presença de outro mecanismo de resistência associado além de ESBL.

Observamos também uma resistência significativa à gentamicina (44,44%), porém menor do que a encontrada por Lago et al.,⁽¹¹⁾ que obtiveram resistência de aproximadamente 70% à gentamicina. Quanto aos carbapenêmicos (imipenem e meropenem), não foi verificada nenhuma cepa resistente a esses antimicrobianos. Isso ratifica a escolha dos mesmos como drogas de escolha para o tratamento de

infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL. Contudo, lembramos que já existem relatos na literatura de cepas resistentes a estas drogas, o que sugere que o uso destes fármacos deve ser moderado e até mesmo evitado, sempre que possível, para que não se estimule o surgimento de mais cepas multirresistentes.^(23,24)

CONCLUSÃO

Através do presente estudo podemos concluir que a frequência de enterobactérias produtoras de ESBL em ITU's de transplantados renais foi alta e semelhante à de espécimes isolados de diversas amostras obtidas em ambiente hospitalar, sendo *E. coli* a principal bactéria responsável pelas infecções urinárias neste grupo de pacientes.

Com relação ao perfil de resistência, nosso estudo revelou que, apesar de guardar uma semelhança com os perfis encontrados em outros espécimes clínicos, no grupo em estudo a resistência às combinações de beta-lactâmicos e inibidores de beta-lactamases foi bem maior, o que ratifica a importância da realização da triagem para cepas produtoras de ESBL durante a realização do antibiograma.

Mesmo não sendo o objetivo do nosso estudo, durante o levantamento de dados nos arquivos do Laboratório Escola ASCES observamos que, quando uma cepa ESBL positiva era isolada, geralmente, poucas semanas após, outras cepas surgiam. Este fato sugere uma possível transmissão entre os pacientes, visto que eles frequentam o mesmo ambiente hospitalar. Essa observação é bastante relevante porque essa transmissão pode favorecer a ocorrência de infecções comunitárias, visto que os transplantados, apesar de frequentarem regularmente o hospital, não são pacientes internos. Porém, mais estudos devem ser realizados relacionando resistência bacteriana e a transmissão desta em pacientes transplantados.

Abstract

Objective: Determine the frequency and the resistance profile of ESBL-producing Enterobacteriaceae in urine cultures of kidney transplant patients outlining the aforementioned problem in this risk group. **Methods:** File lab reports of ASCES School between January 2012 and March 2014 were analyzed. **Results:** During the study period were analyzed 202 urine samples which 63 samples were positive for enterobacteria. Among these positive samples, 28.57% (18) were positive for ESBL. The most frequently isolated bacteria were *E. coli* (50%), followed by *K. pneumoniae* (11.1%) and *K. oxytoca* (5.5%). With respect to the resistance profile, the ESBL positive strains showed 100% resistance to beta-lactams. **Conclusion:** The prevalence of ESBL-positive enterobacteria found in this study was high, and *E. coli* was the most commonly isolated bacteria. However, more studies should be done by linking bacterial resistance and the transmission of this in transplant patients.

Keywords

Urinary tract infections; Kidney transplantation; Enterobacteriaceae; Beta-lactamases; Pharmaco-resistance; Bacterial

REFERÊNCIAS

1. Andreu A, Alós JI, Gobernado M, Marco F, Rosa M, García-Rodríguez JA. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad: Estudio nacional multicêntrico. España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(1):4-9.
2. Braoios A, Turatti TF, Meredija LCS, Campos TRS, Denadai FHM. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: Etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. *Brasil. J Bras Patol Med Lab*. 2009 Dec;45(6):449-56.
3. Roriz-Filho JS, Vilar FC, Mota LM, Leal CL, Pisi PCB. Infecção do trato urinário. *Brasil. Rev FMRP*. 2010;43(2):118-25.
4. Ferreira AC, Heilberg IP. Infecção do trato urinário no pos-transplante renal em crianças. *Brasil, J Bras Nefrol*. 2001;23(1):18-24.
5. Silva JCA, Farias TFF, Santos AL, Françolin AC, Svidzinsk TIE. Infecções urinárias de origem bacteriana diagnosticadas em Umuarama-PR. *Brasil. RBAC*. 2007;39(1):59-61.
6. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer AJ, Stamm WE. Guidelines for antimicrobial treatment uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in woman. *Infectious diseases society of america (IDSA)*. USA. *Clin Infect Dis*. 1999; 29: 745-58.
7. Camargo CBS, Pedro CC, Lourenço DS, Gironi RHAR, Martinez R. Infecção de vias urinárias na comunidade de Ribeirão Preto-SP: Etiologia, sensibilidade bacteriana a antimicrobianos e implicações terapêuticas. *Brasil. Rev FMRP*. 2002 Apr-Jun;35:173-78.
8. Dalmarco EM, Blatt SL, Córdova CMM. Identificação laboratorial de b-lactamases de espectro estendido (ESBLs) - revisão. *Brasil. RBAC*. 2006;38(3):171-77.
9. Junior MAS, Ferreira ES, Conceição GC. Betalactamases de espectro ampliado (ESBL): Um importante mecanismo de resistência bacteriana e sua detecção no laboratório clínico. *Brasil. Rev NewsLab*. 2004;63:152-74.
10. Sturenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. USA. *J Infect*. 2003 Nov;47(4):273-95.
11. Lago A, Fuentefria SR, Fuentefria DB. Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Brasil. Rev Soc Bras Med Trop*. 2010 Jul-Aug;43(4):430-34.
12. Menegol D, Picoli SU, Ferreira MC. Pesquisa de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL) em enterobacteriaceae uropatogênicas isoladas em laboratório de Caxias do Sul. *Brasil. RBAC*. 2012; 44(2):97-100.
13. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, Cornely OA, Vehreschild JM. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing enterobacteriaceae in high-risk patients - review of the literature from a clinical perspective. USA. *Crit Rev Microbiol*. 2016 Feb;42(1):1-16.
14. Brolund A. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infect Ecol and Epidem*. 2014 Oct;4:245-55.
15. Aguiar EB, Maciel LC, Halpern M, de Lemos AS, Ferreira AL, Basto ST, et al. Outcome of bacteremia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae after solid organ transplantation. *Transpl Proceedings*. 2014 Jul-Aug;46(6):1753-56.
16. Ramadas P, Rajendran PP, Krishnan P, Alex A, Siskind E, Kadiyala A, et al. Extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria related urinary tract infection in renal transplant recipients and effect on allograft function. *PLoS One*. 2014 Mar 17;9(3):e91289.
17. Clinical and Laboratory Standards institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. USA. Documento M100-S23, 2012.
18. Emary KR, Carter MJ, Pol S, Sona S, Kumar V, Day NP, et al. Urinary antibiotic activity in paediatric patients attending an outpatient department in north-western Cambodia. *Trop Med Int Health*. 2015 Jan;20(1):24-8.
19. González-López JJ, Piedra-Carrasco N, Salvador F, Rodríguez V, Sánchez-Montalvá A, Planes AM, et al. ESBL-producing *Salmonella enterica* serovar Typhi in traveler returning from Guatemala to Spain. *Emerg Infect Diseases*. 2014 Nov;20(11):918-20.
20. Mendes C, Hsiung A, Kiffer C, Oplustil C, Sinto S, Mimica I, et al; Mystic Study Group. Evaluation of the in vitro activity of 9 antimicrobials against bacterial strains isolated from patients in intensive care units in Brazil: MYSTIC Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis*. 2000 Oct;4(5):236-44.
21. Silva CHPM, Salvino CR. Importância do reconhecimento de enterobactérias hospitalares produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e suas implicações terapêuticas. *Brasil. Rev NewsLab*. 2000;41:104-12.
22. Fox BC, Sollinger HW, Belzer FO, Maki DG. A prospective, randomized, double-blind study of trimethoprim-sulfamethoxazole for prophylaxis of infection in renal transplantation: Clinical efficacy, absorption of trimethoprim-sulfamethoxazole, effects on the microflora, and the cost-benefit of prophylaxis. USA. *Am J Med*. 1990 Sep;89(3):255-74.
23. Gonzalez-Padilla M, Torre-Cisneros J, Rivera-Espinar F, Pontes-Moreno A, López-Cerero L, Pascual A, et al. Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Mar;70(3):905-13.
24. Moayednia R, Shokri D, Mobasherizadeh S, Baradaran A, Fatemi SM, Merrikhi A. Frequency assessment of β -lactamase enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in patients with urinary tract infection. *J Res Med Sci*. 2014 Mar;1(19):41-5.

Correspondência

Flávio Cristiano Barbosa Rodrigues
Avenida Portugal, 584 – Bairro Universitário
55016-400 – Caruaru – PE, Brasil