

VARIABILIDADE DE β -LACTAMASES PRESENTES EM BACIOS GRAM NEGATIVOS ISOLADOS DURANTE A PERMANÊNCIA DE PACIENTES EM HOSPITAL DE ENSINO

Isabella Harumi Yonehara Noma (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Alessandra Barrochelli da Silva Ecker, Deborah de Castro Moreira, Luiza Camila da Silva, Pedro Marquetti Pereira, Marcia Maria dos Anjos Szczerepa, Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientador), e-mail: ra90681@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Ciências da saúde e Microbiologia básica [CNPq/CAPES](#)

Palavras-chave: Infecção, colonização, β -lactamases.

Resumo:

Considerando a importância das infecções causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes (BGN-MR) provenientes de colonização e dos pacientes durante o período de permanência na unidade de terapias intensivas (UTI), o presente estudo teve como objetivo avaliar a evolução das enzimas β -lactamases nos BGN recuperados de pacientes durante a permanência hospitalar. Foram selecionados isolados bacterianos de colonização e de infecção de pacientes que permaneceram na UTI por mais de 10 dias e estavam cadastrados em banco de dados do projeto “Vigilância Epidemiológica de Bactérias Multirresistentes no Hospital Universitário de Maringá”. Estes isolados foram identificados pelo sistema automatizado Phoenix BD[™]. Todos os isolados foram investigados quanto à presença de genes do tipo beta-lactamase de espectro estendido (ESBL), oxacilinas (OXA) e metalo- β -lactamases (M β L) utilizando-se reação em cadeia da polimerase (PCR). Entre os isolados de enterobactérias todos eram resistentes à cefalosporina e em 3 pacientes os isolados adquiriram os genes *bla*_{CTX-M} durante a hospitalização. Altas taxas de resistências aos carbapenêmicos foram observadas em isolados de *A. baumannii* associadas à presença do gene *bla*_{OXA-23}. Houve nestes isolados a detecção inédita do gene *bla*_{CTX-M-15} (Genbank KT945131). A ESBL do tipo CTX-M, foi a mais frequente em isolados de *K. pneumoniae* e *E. cloacae*, acompanhada de resistência às cefalosporinas. Os resultados deste estudo reforçam a necessidade de medidas para o controle destes microrganismos multirresistentes.

Introdução

As infecções hospitalares têm se apresentado como uma importante ameaça para a saúde pública. Particularmente, os pacientes internados em na unidade de terapia intensiva (UTI) estão mais expostos á terapias

invasivas e a agentes patogênicos com alta resistência aos antimicrobianos. Dentre estes patógenos, os bacilos Gram negativos multirresistentes (BGN-MR) vêm ganhando destaque, exigindo cada vez mais a adoção de medidas e ações de vigilância e controle, uma vez que são infecções de difícil tratamento. Dentre os BGN-MR, o *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias, são os microrganismos de maior relevância.

O principal mecanismo de resistência destes BGN-MR é a produção de β -lactamase, enzimas que promovem a hidrólise do anel β -lactâmico, inativando a ação do antimicrobiano que atua na parede celular bacteriana. Atualmente, as β -lactamases de espectro estendido - ESBL do tipo TEM, SHV, PER e CTX-M constituem a principal causa da resistência as cefalosporinas de terceira geração em enterobactérias. Já em relação às carbapenemases, as enzimas mais encontradas em enterobactérias podem ser tanto da classe A de Ambler (tipos KPC, NMC, IMI, SME, GES), quanto da classe B (M β L dependentes de zinco: tipos VIM, IMP, NDM) e classe D (tipo OXA).

Considerando que o processo de colonização está relacionado na maioria das vezes ao processo de infecção e que durante a hospitalização muitos microrganismos como BGN-MR pode estar colonizando os pacientes, o presente estudo teve como objetivo avaliar a evolução das enzimas β -lactamases nos BGN recuperados dos pacientes durante a permanência dos mesmos na UTI.

Materiais e métodos

Foram selecionados pacientes com culturas positivas de BGN, recuperadas de colonização e infecção, que permaneceram na UTI adulto do Hospital Universitário de Maringá por no mínimo 10 dias. Trinta e dois pacientes foram selecionados. A identificação e o teste de susceptibilidade antimicrobiana foram realizados pelo sistema automatizado Phoenix BD[™]. Todos os isolados das amostras foram extraídos pelo método de fervura e foram investigadas quanto à presença de genes que codificam as ESBL, utilizando-se os primers de *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{GES} e *bla*_{PER}; OXA, utilizando-se os primers de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} e *bla*_{OXA-143}; e para detecção M β L e KPC utilizando-se os primers de *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{GIM}, *bla*_{SPM}, *bla*_{SIM}, *bla*_{NDM} e *bla*_{KPC}. O projeto foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (COPEP-621/2011).

Resultados e Discussão

Foram selecionadas 32 pacientes da UTI, onde foram isolados 277 BGN sendo 136 isolados de amostras clínicas (39 eram *A. baumannii*, 40 *P. aeruginosa* e 57 enterobactérias) e 141 isolados de amostras de vigilância (63 eram *A. baumannii*, 45 *P. aeruginosa* e 33 enterobactérias). Verificou um tempo de permanência na UTI em média de 86 dias. Dentre os pacientes selecionados, 26 pacientes apresentaram 106 isolados BGN resistentes a β -lactâmicos. As 106 bactérias positivas para os genes de beta-lactamases

eram 58 provenientes de amostras de vigilância e 48 de amostras clínicas (Tabela 1).

Os BGN mostraram um grau variável de resistência frente aos antimicrobianos testados. Nas enterobactérias foram recuperados 75 isolados (28 *Klebsiella pneumoniae*, 21 *Enterobacter cloacae*, 7 *Escherichia coli*, 6 *Proteus mirabilis*, 5 *Klebsiella oxytoca*, 4 *Serratia marcescens* e 4 *Citrobacter* spp.), todos os isolados eram resistentes à cefalosporina. A ESBL mais frequente foi do tipo CTX-M acompanhada de resistência às cefalosporinas. No Brasil, elevadas taxas endêmicas de CTX-M estão sendo relatadas em isolados de enterobactérias. Nas últimas décadas, a frequência de infecções hospitalares adquiridas na UTI, causadas por BGN-MR, como *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e enterobactérias aumentou em todo mundo, que pela redução das opções terapêuticas eficazes levam a um aumento da mortalidade. Isolados de três pacientes adquiriram os genes CTX-M durante a hospitalização. Em cinco pacientes, os isolados eram inicialmente sensíveis ao carbapenêmicos e durante a hospitalização tornaram-se resistentes mostrando que o tempo de internação prolongado, principalmente em UTI, constitui-se em um dos principais fatores de risco para a seleção de isolados resistentes. A identificação da colonização dos pacientes com BGN-MR demonstra a importância de medidas de controle como isolamento destes pacientes colonizados, pois como sabemos pacientes colonizados são valorizados como pré-requisitos de infectados, sendo que até mesmo a escolha dos antibióticos pode ser baseada no microrganismo isolado anteriormente como colonizante.

Em relação aos isolados de *A. baumannii* destacamos a alta resistência até mesmo aos carbapenêmicos. *A. baumannii* foi o microrganismo produtor de β -lactamase mais frequente (21 pacientes). Dois pacientes colonizados por *A. baumannii* inicialmente negativo OXA-23 passou a carrear os genes *bla*_{OXA23} e *bla*_{OXA51} ao longo de sua permanência na UTI. Também foi detectado em um paciente (após 213 dias de internação) um isolado de *A. baumannii* carreando o gene *bla*_{CTX-M-15}, inédito no Brasil (Genbank KT945131). A CTX-M-15 tem sido detectada em enterobactérias em todo o mundo, porém em *A. baumannii*, foi descrita anteriormente apenas na Índia e Haiti. Não foram detectados os genes que codificam as MBL (*bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{GIM}, *bla*_{SPM}, *bla*_{SIM}, *bla*_{NDM}), KPC, OXAs do tipo *bla*_{OXA24}, *bla*_{OXA58}, *bla*_{OXA143} e *bla*_{OXA48} e ESBL (*bla*_{SHV}, *bla*_{PER}, *bla*_{GES}) nas amostras analisadas.

Conclusões

A transmissão paciente-a-paciente de BGN-MR tem sido associada ao ambiente hospitalar contaminado, desinfecção inadequada de objetos de uso comum além da colonização de pacientes. Os resultados demonstram que, durante a permanência dos pacientes em UTI os BGN colonizantes podem adquirir ou expressar genes de resistência aos carbapenêmicos e cefalosporinas e que a vigilância epidemiológica dos pacientes colonizados como BGN-MR é de extrema importância para o controle da disseminação desses microrganismos.

Tabela 1. Distribuição dos isolados de Bacilos Gram-negativos recuperados de pacientes ao longo de sua permanência em UTI.

Dados por pacientes					
Pacientes	Idade/Gênero	Permanência na UTI (dias)	Nº de Isolados/ Nº de espécies de BGN		Presença de beta-lactamases
			Colonização	Infecção	
AJS	76/M	25	2/1	4/1	NAO
AOB	68/M	64	3/2	4/1	NAO
AAG	21/F	84	4/2	7/2	NAO
MAS	70/F	17	1/1	3/2	OXA 23 e 51; CTX
CRA	80/F	59	2/1	5/2	NAO
CP	78/M	154	3/2	7/3	OXA 23 e 51
CML	72/M	156	10/1	8/2	NAO
FHG	17/M	27	4/2	6/4	OXA 23 e 51; CTX
FTS	39/M	23	3/2	2/1	OXA 23 e 51; CTX
GMS	90/F	21	2/2	3/2	CTX
GC	21/M	106	1/1	3/1	OXA 23 e 51
HR	82/M	83	7/2	3/2	OXA 23 e 51
HMM	74/F	110	2/1	4/1	CTX
IAM	58/F	161	9/3	4/3	OXA 23, 51; CTX
JCR	43/M	32	3/2	4/2	OXA 23, 51; CTX
JEER	54/M	46	7/4	3/2	CTX
JMT	58/M	81	4/1	3/1	OXA 23 e 51
JMB	80/F	10	2/1	2/1	CTX
JQM	82/F	154	3/1	9/6	OXA 23 e 51
JCS	19/F	180	1/1	3/3	OXA 23 e 51; CTX
LSC	71/F	160	8/2	6/2	OXA 23 e 51; CTX
MAM	78/F	35	2/2	2/1	OXA 23 e 51; CTX
MRGS	22/M	259	21/2	13/5	OXA 23 e 51; CTX
NMCS	25/F	83	1/1	2/1	OXA 23 e 51
OS	82/M	62	3/1	4/3	CTX
PAP	24/F	63	3/1	2/2	NAO
RBE	83/F	149	8/2	6/2	OXA 23 e 51
RSO	52/F	34	3/2	2/2	OXA 23 e 51
SRS	63/M	159	9/2	5/2	OXA 23 e 51
SLS	81/M	67	6/2	3/2	OXA 23 e 51; CTX
TK	49/M	46	1/1	2/2	OXA 51; CTX
VC	45/M	48	3/1	2/1	OXA 23 e 51

M: Masculino

F: Feminino

Agradecimentos

Ao PIBIC/CNPq/UEM pelo apoio financeiro.

Referências

Zago M. C. B., Viana G. F., Ecker A. B. S., Nishiyama S. A. B., Zarpellon M. N., Dias J. R. C., et al. First report of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* in Brazil. **Journal of Hospital Infection**. 92(3):298-9, 2016

Siegel J. D., Rhinehart E., Jackson M., Chiarello L. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. **Am J Infect Control**. 35 (10 Suppl 2), S165-93, 2007.