

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA  
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

**BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO AMPLIADO  
(ESBL) PRODUZIDO POR ENTEROBACTÉRIAS:  
MECANISMO DE AÇÃO, DIAGNÓSTICO E  
CONTROLE**

BELO HORIZONTE

2015



AILTON ANTÔNIO DA SILVA

**BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO AMPLIADO  
(ESBL) PRODUZIDO POR ENTEROBACTÉRIAS:  
MECANISMO DE AÇÃO, DIAGNÓSTICO E  
CONTROLE**

Monografia apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientador: Dr. Flaviano dos Santos Martins

Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

BELO HORIZONTE

2015



## LISTAS DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BLIS - Inibidores de Beta-lactamases

CAZ - Ceftazidima

CCIH - Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CLSI - *Clinical Institute Laboratory Standards*

CTX - Cefotaxima

EPI - Equipamentos de Proteção Individual

ESBL - beta-Lactamase de Espectro Ampliado

EUCAST - *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

IRAS - Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde

OXA - Oxacilina

PLP - Proteínas Ligadoras de Penicilina

SCIELO - Scientific Eletronic Library Online

SDD - Sensível Dose Dependente

SHV - Sulfidril Variável

SHV-1 - Sulfidril Variável 1

TEM-1 - Temoniera 1

TEM-2 - Temoniera 2



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>1.1 Justificativa</b> .....	15
<b>1.2 Objetivos</b> .....	17
1.2.1 Objetivo geral.....	17
1.2.2 Objetivos específicos.....	17
<b>2 METODOLOGIA</b> .....	18
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	19
<b>3.1 Aspectos históricos dos antibióticos</b> .....	19
<b>3.2 Mecanismos de ação dos beta-lactâmicos</b> .....	20
<b>4 ANÁLISE DOS DADOS COLETADOS</b> .....	20
<b>4.1 Identificação de ESBLs no laboratório de rotina (análises clínicas)</b> ....	20
<b>4.2 beta-Lactamases de espectro ampliado</b> .....	23
4.2.1 Classificação das ESBLs.....	25
4.2.2 Fatores predisponentes à produção de ESBL e medidas de controle..	26
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	27
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	29





## RESUMO

A resistência bacteriana tem aumentado rapidamente nos últimos anos no Brasil e no mundo, e embora exista uma variedade de mecanismos de resistência, a beta-Lactamase de Amplo Espectro (ESBL) destaca-se como uma das principais. Este trabalho tem como objetivo descrever os mecanismos de resistência das ESBL's, apresentar seus métodos de detecção fenotípicos para fins epidemiológicos e medidas de prevenção e controle para evitar a disseminação de bactérias resistentes. Foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados MEDLINE, PubMed, *Scientific Eletronic Library Online* (SCIELO). Verificou-se que as ESBL produzidas por bastonetes Gram negativo (principalmente *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*) tornam-se altamente eficazes em inativar penicilinas, cefalosporinas e monobactams. Além disso, as enterobactérias produtoras de ESBL são frequentemente resistentes às diversas classes de antibióticos não beta-lactâmicos, tornando extremamente difícil o tratamento das infecções. No Brasil, em diferentes regiões, são descritas enzimas do tipo TEM, SHV, CTX-M, VED, DES e GES. Entretanto, as mais prevalentes em território brasileiro sejam CTX-M-2, CTX-M-8 e CTX-M-9. O laboratório de Microbiologia tem importante papel na detecção de bactérias produtoras de ESBL. A demora no diagnóstico leva a permanência do paciente no ambiente hospitalar por longo período, possibilitando a disseminação intra e inter hospitalar dessas enzimas. Testes fenotípicos para detecção de ESBL como disco aproximação, ETEST, disco combinado podem ser usados ainda para estudos epidemiológicos. Segundo o documento da CLSI 2014, foram estabelecidos novos pontos de corte considerando as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas baseadas em doses específicas. Desta forma, os resultados devem ser reportados nos laudos de antibiograma conforme testados e não mais editados para resistentes como era realizado anteriormente. Para prevenção de transmissão de agentes infecciosos no ambiente hospitalar é preconizado pela ANVISA medidas de controle. Essas medidas devem ser claras e divulgadas aos profissionais de saúde com o objetivo de minimizar a incidência de bactérias multirresistentes.

**Palavras-chave:** *beta-Lactamases. Farmacorresistência Bacteriana. Farmacorresistência Múltipla.*

## ABSTRACT

The antimicrobial resistance has increased in Brazil and worldwide in the last years. The extended spectrum beta-lactamases (ESBL) is an important mechanism among a great variety of resistance mechanisms. This study is aimed to describe the ESBL resistance mechanism, phenotypic detection methods for epidemiology, and measures for control and prevention of multidrug-resistance bacteria dissemination. This paper aims to describe the ESBL 's resistance mechanism, present phenotypic detection methods for epidemiological purposes and control measures to prevent the spread of multidrug-resistant bacteria. The extended spectrum beta-lactamases (ESBL) produced by Gram negative rods (mainly *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*) become highly effective in inactivating penicillins, cephalosporins and monobactams. Moreover, ESBL-producing *Enterobacteriaceae* are often resistant to multiple classes of non-beta-lactam antibiotics impairing the



infections treatment. Phenotypic tests for ESBL detection as a proxy discs, Etest, combined disk can be still used for epidemiological studies. The CLSI 2014 established new breakpoints considering the pharmacokinetic and pharmacodynamics properties based on specific doses. The results should be reported in the antibiogram reports as tested and not edited for resistant as was done previously. To prevent transmission of infectious agents in the hospital is recommended by ANVISA control measures. They must be clear and available for health professionals.

**Key-words:** *beta-Lactamases. Drug Resistance, Bacterial. Drug Resistance, Multiple.*

## 1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos correspondem a uma classe de fármacos que é utilizada em hospitais e na comunidade com o objetivo de prevenir ou tratar uma infecção, diminuindo ou eliminando organismos patogênicos (ANVISA, 2000).

Nos últimos anos, tem aumentado a resistência aos antimicrobianos, gerando a necessidade do conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias que mais causam infecções e no modo de disseminação da resistência (PICOLI; MARTINS, 2011).

As bactérias utilizam-se de mecanismos genéticos e bioquímicos para desenvolver resistência bacteriana. Nos mecanismos genéticos sofrem mutações de genes celulares alterando o sítio alvo, adquirem genes de resistência transmitidos via plasmídeos e sofrem também mutações de genes adquiridos. Nos mecanismos bioquímicos as bactérias também podem modificar o antibiótico através da produção de enzimas como beta-Lactamase, acetiltransferase, fosfotransferase, modificar o sítio alvo pela alteração das proteínas ligadoras de penicilina, restringir o acesso ao alvo pela diminuição do número de porinas (OPLUSTIL, 2011).

Os antimicrobianos têm contribuído para a redução dos índices de mortalidade e morbidade das diferentes doenças infecciosas; porém, seu uso excessivo em humanos e animais, infecções hospitalares horizontais, cadeia alimentar, comércio e migração humana parecem ter contribuído para a propagação, fora dos hospitais de enzimas, tais como *beta-Lactamases de Espectro Ampliado* (ESBL) ligadas à resistência aos antibióticos beta-lactâmicos (PICOLI; MARTINS, 2011).

Assim sendo, as enterobactérias, produtoras da enzima citada, compreendem um grupo heterogêneo de bacilos Gram negativos fermentadores da glicose. A *Enterobacteriaceae* é a principal família bacteriana associada à produção de ESBL, dos quais *E. Coli* e *K. Pneumoniae* são as mais importantes embora, outras espécies não pertencentes da família *Enterobacteriaceae* também podem produzir ESBL (PICOLI; MARTINS, 2011; BROLUND, 2014).

Neste contexto, as ESBLs são enzimas não induzíveis mediadas por genes plasmidiais capazes de hidrolisar a cadeia oximino-beta-lactâmica presente na estrutura química dos antibióticos. Sendo assim, seu espectro de ação se estende aos beta-lactâmicos de amplo espectro, tais como as cefalosporinas de primeira,

segunda e terceira geração e aos monobactams e penicilinas. Porém, elas não conferem resistência às cefamicinas e carbapenêmicos (CORDOVA; BLATT; DALMARCO, 2006).

A incidência de bactérias Gram negativas produtora de ESBL é diferente em diversas regiões estudadas. Até o momento, mais de 430 ESBL foram caracterizadas, havendo descrição de muitas delas no Brasil (LINCOPAN; SILVA, 2012). Além disso, as bactérias produtoras de ESBL são resistentes com frequência a outros antibióticos não beta-lactâmicos, causando grandes dificuldades no tratamento de infecções, principalmente hospitalares. Nos últimos anos, o uso não racional de antibióticos também é um fator preponderante para o aparecimento de resistência bacteriana (PICOLI; MARTINS, 2011; BROLUND, 2014).

A falta de opções terapêuticas a curto e médio prazo para tratamento das infecções causadas por bactérias e o aumento da incidência da multirresistência bacteriana reforçam a importância de medidas preventivas contra a disseminação destas. Apesar da disponibilização de novos antibióticos, o ritmo do desenvolvimento de resistência bacteriana nos diferentes patógenos Gram positivos e negativos é um desafio constante em todo o mundo, afirmam os mesmos autores. Além disso, o aumento do uso de carbapenêmicos como meropenem, por exemplo, para tratamento de ESBL, levou ao surgimento de outros tipos de resistência como a *klebsiella pneumoniae* carbapenemase - KPC (LINCOPAN; SILVA, 2012; BROLUND, 2014).

Com o uso de equipamentos modernos, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), tem-se aumentado a longevidade da população e, com isso, há certa dificuldade no manejo adequado das intercorrências infecciosas bacterianas, fúngicas, viróticas em que os pacientes são acometidos (LINCOPAN; SILVA, 2012).

Uma provável redução do uso de antibióticos indiscriminadamente pode ocorrer devido à exigência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) da apresentação da prescrição médica para comprá-los. Porém, infecções hospitalares de trato respiratório e urinário são responsáveis por grande parte das prescrições de antibióticos e, na maioria das vezes, esses pacientes não fazem exames microbiológicos, tendo assim o tratamento de forma empírica (LINCOPAN, SILVA; 2012; ANVISA, 2013).

O uso inapropriado dos antibióticos pode estar relacionado a diversos fatores, tais como: dose subterapêutica, falta de atividade do antibiótico escolhido, esquemas terapêuticos curtos, baixa penetração nos locais da infecção, idade, estado de imunidade dos pacientes, falta de uniformização de linguagens técnicas entre clínicos e microbiologistas. A falha na comunicação entre clínicos e laboratórios é muito importante na liberação de laudos equivocados e tratamentos inadequados. Por isso, a estruturação de grupos de controle de infecção hospitalar multidisciplinares tem como uma de suas funções racionalizarem o uso de antibióticos de acordo com a realidade do hospital (LINCOPAN; SILVA, 2012; ANVISA, 2013).

As ESBLs tornaram-se um dos principais problemas de saúde pública no país, no que diz respeito às infecções hospitalares e da comunidade causadas por enterobactérias destacando-se a rápida disseminação dessas enzimas e o surgimento constante de novas variantes do tipo Temoniera (TEM), Sulfidril Variável (SHV), Cefotaxima (CTX-M), Oxacilina (OXA), BES, GES e VEB (LINCOPAN; SILVA, 2012).

As beta-Lactamases, frequentemente encontradas em território brasileiro, incluem os grupos CTX-M-2, CTX-M-8 e CTX-M-9. O surgimento de novas variantes e a prevalência de beta-Lactamases em isolados de origem comunitária, ambiental e em alimentos têm demonstrado a complexidade em se estabelecer a origem da resistência (LINCOPAN; SILVA, 2012).

Existem medidas preconizadas pela ANVISA com o objetivo de evitar que ocorra a disseminação de bactérias multirresistentes como, por exemplo, associação de antibióticos uma vez que o tratamento com utilização de monoterapias pode levar ao rápido desenvolvimento de resistência bacteriana (ANVISA, 2013).

## **1.1 Justificativa**

A escolha deste trabalho se deve à importância clínica e epidemiológica dos diversos mecanismos de resistência bacteriana, tais como ESBLs produzidos por bastonetes Gram negativos e positivos. Atualmente, várias bactérias possuem habilidade de desenvolver mecanismos de resistência enzimática, sendo este um

grande problema na escolha do antibiótico para o tratamento do paciente (DALMARCO, et al., 2006)

Na família *Enterobacteriaceae*, a produção de ESBL, mais comumente encontrada em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, é um mecanismo de alta importância em saúde pública. A pesquisa e o conhecimento sobre essa enzima são relevantes, a fim de minimizar a sua disseminação, contribuindo para a redução dos índices de morbidade e mortalidade ligados a diferentes doenças infecciosas, nas quais é importante a vigilância microbiológica junto com a ação do serviço de infecção hospitalar (STRYNADKA et al., 2005)

O surgimento de ESBL no âmbito hospitalar vem sendo evidenciado como desafio a ser considerado visto que se trata de um problema que acomete tanto hospitais públicos quanto privados. Aos impactos econômicos e ambientais também são aplicáveis, uma vez que existem ESBL de origem ambiental que contribuem para disseminação dos mecanismos de resistência por meio do despejo de efluentes dos recursos aquáticos. Em relação aos impactos econômicos destacam-se implicações para o agronegócio brasileiro (LINCOPAN; SILVA, 2012).

Diante desse contexto, faz-se importante a realização de estudos adicionais que possam auxiliar no desenvolvimento de práticas clínicas seguras na escolha e indicação do uso de antibióticos (LINCOPAN; SILVA, 2012).

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo geral**

Apresentar os mecanismos de resistência enzimáticos ESBL que desafiam o ambiente clínico hospitalar e as medidas de controle que possam minimizar a disseminação dessas enzimas.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Descrever os mecanismos de ação das ESBLs,
- Apresentar métodos de diagnóstico fenotípicos para identificação e confirmação de ESBL,
- Apresentar medidas preventivas que permitem minimizar a disseminação de ESBL pelas enterobactérias.



## 2 METODOLOGIA

Tratou-se de uma revisão bibliográfica composta de estudos disponíveis em publicações nacionais e internacionais em revistas científicas, artigos, notas técnicas e resoluções, com abordagem do tema proposto. Para obtenção do material, foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados MEDLINE, PubMed, *Scientific Eletronic Library Online* (SCIELO), teses e dissertações.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Aspectos históricos dos antibióticos

Contextualmente, o século XIX evidenciou a descoberta dos micro-organismos. Foram utilizados desde métodos caseiros até os mais sofisticados à época, para tentar estabelecer uma correlação entre micro-organismos / doenças / óbitos. A introdução de culturas de pesquisas em animais aponta para o desenvolvimento no aprofundamento de observação de doenças consideráveis (MARTINS; PICOLI, 2011).

No século XX (1912), Paul Ehrlich anunciou o descobrimento do primeiro agente quimioterápico específico para a cura da sífilis e, em 1929, publicou o primeiro trabalho no *Journal British Journal of Experimental Pathology* sobre a penicilina e sua ação sobre as bactérias Gram positivas.

Em 1940, a penicilina foi produzida em grande escala dando origem à Era dos antibióticos, considerada a maior revolução na saúde pública e na medicina (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Em 1941, foi observado por Charles Fletcher que a penicilina não é tóxica quando injetada em seres humanos e, em 1942, deu-se o nome de antibiótico para substâncias químicas e preparações produzidas por micro-organismos que tinham propriedades antimicrobianas (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Em 1944, foi descoberta a estreptomicina pelos cientistas Schatz; Bugie e Selman, com efeito específico contra Gram-negativos, que rapidamente é utilizado para o tratamento de tuberculose. Park e Strominger concluíram, em 1952, que a penicilina age inibindo na síntese da parede celular e essa foi à primeira descoberta do mecanismo de ação de um antibiótico contra uma determinada bactéria. Em 1959, Sawada demonstra que a resistência aos antibióticos pode ser transferida entre cepas de *Shigella* e *Escherichia coli* por plasmídeos (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

#### 3.2 Mecanismos de ação dos beta-lactâmicos

O grupo dos antimicrobianos beta-lactâmicos, composto com penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos, são muito utilizados como

escolha na antibioticoterapia (WILK; LOVERING; STRYNADKA, 2005). Isto ocorre em razão da sua efetividade, efeitos adversos mínimos aos pacientes, e ainda o baixo custo. Constitui uma grande família de diferentes grupos de compostos que contem em sua estrutura um anel beta-lactâmico.

Os antibióticos beta-lactâmicos têm como ação interferir na síntese do peptidoglicano (responsável pela integridade da parede celular) quando é penetrado na bactéria através das porinas presentes na membrana externa da parede celular bacteriana. As beta-Lactamases produzidas pelas bactérias ligam-se e inibem as Proteínas Ligadoras de Penicilina (PLP), responsáveis pelo passo final da síntese da parede bacteriana (NIKAIDO, 2009).

Os mecanismos de resistência aos beta-lactâmicos possuem três principais formas:

- A Produção de beta-Lactamases - como meio mais eficiente e comum das bactérias se tornarem resistentes aos antimicrobianos beta-lactâmicos;
- Modificações estruturais das PLP codificadas pelo gene mecA;
- Na diminuição da permeabilidade bacteriana ao antimicrobiano através de mutações e modificações nas porinas - proteínas que permitem a entrada de nutrientes e outros elementos para o interior da célula (NIKAIDO, 2009).

## **4 ANÁLISE DOS DADOS COLETADOS**

### **4.1 Identificação de ESBL no laboratório de rotina (análises clínicas)**

A identificação fenotípica de bactérias produtoras de ESBL em um isolado clínico de enterobactérias é efetuada por comparação do grau de inibição de crescimento bacteriano, por uma cefalosporina na presença ou ausência de um inibidor de beta-Lactamase, como por exemplo, o ácido clavulânico. (MARTINS; PICOLI, 2011). Os resultados positivos do teste de ESBL variam de acordo com a metodologia usada (disco difusão, Etest, ou sistemas automatizados) (QUADRO 2).

## QUADRO 2

### Metodologias utilizadas para identificação fenotípica de ESBL

E-TEST	<p>Consiste de uma fita plástica com um gradiente exponencial para CAZ, CTX de cefepima em uma das extremidades e na outra, um gradiente do antibiótico associado ao ácido clavulânico.</p> <p>A bactéria é produtora de ESBL quando a relação entre a (CIM) com o antibiótico isolado e a (CIM) com este associado ao ácido clavulânico for <math>\geq 8</math> mg/ml.</p> <p>Normalmente, são utilizadas fitas de Etest de cefotaxima combinada para cepas produtoras de ESBL que, em geral, inferem sensibilidade a ceftazidima. Quando não se sabe qual é o substrato preferencial das bactérias produtoras de ESBL, o ideal é testar os dois antibióticos.</p>
Disco aproximação	<p>Pode ser utilizado na rotina de antibiograma para bactérias Gram negativas. É de fácil execução, baixo custo, mas tem como desvantagem a inexistência de uma distância padrão ideal para ser aplicada entre os discos. Ao realizar o antibiograma na rotina de um laboratório de microbiologia para bactérias Gram negativas, deve ser colocado no centro da placa de Mueller-Hinton o disco de amoxicilina/ácido clavulânico e ao redor deste na distância de 25 a 30 mm os antibióticos marcadores.</p> <p>O uso de três ou mais antibióticos aumentam a sensibilidade do teste. Após incubação por 18 a 20 hs a <math>35 \pm 2^\circ \text{C}</math>, deve-se fazer a leitura. A formação de uma zona fantasma (<i>ghost zone</i>) entre qualquer marcador antimicrobiano marcador e o disco contendo ácido clavulânico é positiva para ESBL.</p>
Sistemas automatizados	<p>A combinação dos antibióticos por cada sistema é em geral o mesmo que foi citado em métodos anteriores. Há cartões específicos ou placas para detectar ESBL ou para <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Klebsiella oxytoca</i> além de outras enterobactérias. Estes sistemas possuem alertas para mostrar os usuários que a cepa que produz ESBL e podem modificar ou não automaticamente o resultado das cefalosporinas, 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, penicilinas e monobactams. A recomendação para a realização desses testes no laboratório de análises clínica foram substancialmente revistos durante os últimos anos pela CLSI (<i>Clinical Institute Laboratory Standards</i>) enquanto os próprios testes não mudaram.</p>

FONTE - MARTINS; PICOLI, 2011; MZALI; CHANAWONG; BIRKENHEAD, 2000

Segundo as orientações da CLSI publicados antes de 2010, os testes fenotípicos para produção de ESBL foram recomendados para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* quando aqueles de sensibilidade padrão, tal como o método de disco difusão indicava redução na sensibilidade de cefalosporinas e monobactams (CURELLO; MACDOUGALL, 2014). O grau de redução da sensibilidade pode ser de tal modo que o micro-organismo estaria na categoria intermediária ou sensível, mas a Concentração Inibitória Mínima (MIC) seria maior que o do isolado selvagem. Para *Escherichia Coli* não produtora de ESBL o seu MIC seria  $< 0,5$  mcg/l para ceftriaxona. Entretanto, um MIC de 1,0 mcg/l de ceftriaxona em um isolado de *Escherichia coli* mostraria um teste de ESBL

positivo, embora isolados com MIC inferior ou igual a 8 mcg/l seria considerado sensível. Relatórios de sensibilidade para beta-lactâmicos seriam liberados de acordo com os MIC já que o resultado do teste fenótipo para ESBL foi negativo, afirmam os mesmos autores.

Com um resultado positivo para ESBL, todas cefalosporinas, penicilinas e monobactams seriam liberadas como resistentes, independentemente dos valores do MIC (ROSSI; ANDREAZZI, 2005). Muitos laboratórios de microbiologia liberariam uma observação alegando que a produção de ESBL foi identificada para seu isolado.

Desde 2010, o comitê de microbiologia do CLSI e do grupo europeu *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) revisaram as indicações do teste fenotípico para detecção de ESBL. Os dados *in vitro* publicados por Craig et al., 2005 demonstraram que a presença, ou não, do gene que codifica ESBL não era fator determinante para prever ação bactericida, mas o índice de relação entre a exposição da droga e a MIC (mcg/ml). A partir deste trabalho foram estabelecidos novos pontos de corte baseados em doses específicas.

Com a adoção de novos pontos de corte para as enterobactérias diante das cefalosporinas, a presença, ou não, do fenótipo ou do gene de ESBL não deve modificar os resultados obtidos no antibiograma. Os resultados devem ser reportados nos laudos do antibiograma conforme testados e não mais editados para resistentes (como era realizado anteriormente). Atualmente, na escolha do tratamento para uma cepa ESBL positiva, os valores da MIC, da categoria sensível, possuem um bom valor preditivo de sucesso, desde que o antibiótico utilizado seja na dose preconizada. O documento CLSI M100S-24 traz uma novidade para a cefepima: o estabelecimento de uma nova categoria interpretativa-SDD - Sensível Dose Dependente.

A nova categoria *Smart Dedicated Dose* (SDD) para cefepima estabelece que para MIC entre 4 mg/ml e 8 mg/ml, a dose mínima deve ser obrigatoriamente de 1 grama a cada 8 horas, ou 2 a cada 12 horas (ROSSI, ANDREAZZI, 2014).

Contudo, diferentes publicações científicas mostram que pode ocorrer falha terapêutica quando infecções por *Klebsiella pneumoniae* ou *Escherichia coli* (ESBL positiva), sensível a cefalosporinas de amplo espectro e com baixos valores de concentração inibitória mínima (MIC), são tratadas com esses antibióticos. (MARTINS; PICOLI, 2011).

Entre pacientes (0-17 anos) com infecção sanguínea causada por *E. Coli* ou *Klebsiella pneumoniae* tratados com cefalosporinas, em que a bactéria era sensível, a resposta clínica favorável foi observada em 9 de 17 pacientes (52,9%), infectados com bactérias produtora de ESBL, em comparação com 47 de 50 pacientes (94%), infectados com bactéria não produtora de ESBL (KIM et al., 2002).

A desconexão entre as relações *in-vitro* e os organismos produtores de ESBL tornou-se um paradigma. Um mecanismo em que se observa uma falta de correlação entre os testes de sensibilidades e os resultados da terapêutica para organismos produtores de ESBL foi observado na forma do efeito do inóculo. A quantidade padrão de bactérias utilizadas na maioria dos testes de sensibilidade *in-vitro* é dez organismos, enquanto em infecções graves, o número de bactérias pode ser dez a cem vezes maiores (CURELLO; MAcDOUGALL, 2014).

#### 4.2 beta-Lactamases de espectro ampliado

As ESBLs são produzidas por enterobactérias e também por outras espécies que hidrolisam a cadeia oximino-beta lactâmica presente nos antibióticos beta lactâmicos inativando a ação das cefalosporinas de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> geração, monobactâmicos e penicilinas (CURELLO; MAcDOUGALL, 2014).

As infecções causadas por bactérias que produzem ESBL possuem um tratamento dificultado, pois essas bactérias são frequentemente resistentes a classes de antibióticos não beta-lactâmicos (CORDOVA; BLATT; DALMARCO, 2006). Tais infecções estão associadas ao aumento da mortalidade entre os adultos e crianças. Este é um mecanismo de resistência bacteriana mais comum entre as bactérias Gram negativas.

As ESBLs são produzidas principalmente por *Klebsiella sp* e *Escherichia coli*, mas podem ser encontrados com menor frequência em outras espécies de enterobactérias, tais como *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter spp*, *Proteus sp*, *Morganella morgani*, *Salmonella spp*, *Serratia sp* (THONSON; SANDERS, 1992; WERCAUTEREN et al., 1997).

As ESBLs foram descritas pela primeira vez em isolado de *Klebsiella* em 1983 na Alemanha e teve sua primeira grande eclosão na França em 1985. Foram primeiramente descritas como resultados de genes presentes em plasmídios, tais

como TEM-1, TEM-2 e SHV-1. A enzima denominada SHV-1 foi a primeira mutação observada na produção de ESBL, embora em um hospital universitário tenha sido identificada uma mutação e caracterizada molecularmente como TEM/CTX-1. Estas enzimas proliferam por meio de pressão antibacteriana seletiva e por plasmídeos (MEYER et al., 1993).

Embora, as ESBLs estejam amplamente disseminadas entre os membros das famílias *Enterobacteriaceae* e seja descrito como enzimas do tipo TEM, SHV, CTX-M, VEB, BES e GES em diferentes estados do país, as mais prevalentes em território brasileiro são as enzimas dos grupos: CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9. (LINCOPAN; SILVA, 2011).

Estas enzimas pertencem a duas classes de beta-lactâmicos filogeneticamente denominado serina-betalactamases, metallo-betalactamase que juntos formam grupos capazes de degradar e inativar antibióticos beta-lactâmicos (SHAH et al., 2004).

A maioria das infecções causadas por enterobactérias produtoras de ESBL ocorrem no trato urinário, mas também pode causar infecções graves, por exemplo, na corrente sanguínea e no sistema nervoso central. Neste sentido, o aumento da prevalência de cepas produtora de ESBL é preocupante, principalmente por estar associado às infecções relacionadas à assistência à saúde - IRAS (LINCOPAN; SILVA, 2011).

Sendo assim, o conhecimento e uma melhor compreensão de como o tratamento com antibióticos e outros fatores de risco afetam a persistência da enterobactérias produtoras de ESBL é essencial para combater ou reduzir a preocupante tendência de aumento dessas bactérias (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

#### **4.2.1 Classificação das ESBLs**

As ESBLs podem ser classificadas em quatro classes, baseando na similaridade entre as sequências de aminoácidos (AMBLER et al.; 1991); outro modelo de classificação das ESBLs foi proposto por Busch et al. (1995; 2001). As ESBLs podem ser classificados em A, B, C, D, segundo o modelo descrito por Ambler et al. (1991). As beta-Lactamases SHV e TEM pertencem à classe A (LINCOPAN; SILVA, 2011). As metallo-betalactamases pertencem à classe B e

necessitam de um zinco para sua ação. As classes A, C, D têm o mecanismo de ação baseados em serinas. Na classe C, têm-se as bactérias produtoras de amp C. Já as oxa-derivadas são bactérias produtoras de beta-Lactamase de espectro estendido pertencente à classe D, complementam.

O modelo proposto por Bush et al. (1995); Bush (2001) classificam as bactérias produtoras de beta-Lactamase de amplo espectro de acordo com o substrato, característica física como peso molecular e ponto isoelétrico. Por sua vez, em 1995, criaram um novo modelo de classificação no qual dividiram as enzimas em quatro grandes grupos (1-4) e subgrupos (a-f):

**Grupo 1** - corresponde às cefalosporinas que não são inativadas pelos inibidores de beta-Lactamase como o ácido clavulânico.

**Grupo 2** - Correspondem as penicilinas, cefalosporinas que são inativadas pelo inibidor de beta-Lactamase; ácido clavulânico.

Devido ao aparecimento de ESBL mutantes foram criadas várias sub classes como 2a, 2b, 2be, 2br 2c, 2d, 2e e 2f; cada uma dessas sub classes apresentam ESBL capazes de inativar penicilinas e cefalosporinas.

**Grupo 3** - São beta-Lactamases que precisam do zinco no seu sitio ativo para exercerem seu efeito sendo chamado de metalo-beta-Lactamases.

**Grupo 4** - Existem as penicilinas que não são inibidas pelo ácido clavulânico, não tendo um grupo molecular definido.

#### **4.2.2 Fatores predisponentes à produção de ESBLs e medidas de controle**

Existem fatores que aumentam o risco de produção de ESBLs. O principal é o tempo de permanência do paciente em Centro de Tratamento Intensivo (CTI) (BISON et al., 2002; KIM et al., 2002; MENASHE et al., 2001; LUCET et al., 1996); outro fator seria casos de internações anteriores em que o paciente fez uso de cefalosporinas de amplo espectro. Um fator também importante seria pacientes submetidos a procedimentos invasivos, tais como cateteres venoso central, arteriais e urinários (MENASHE et al., 2001; LUCET et al., 1996; HO et al., 2002; KIM et al., 2002; PENA et al., 1997), além de mecanismos de ventilação pulmonar artificial e



doenças severas - doenças malignas e falha cardíaca (MENASHE et al.; PENÃ et al., 1997; HO et al., 2002; PIROTH et al., 1998).

Embora, a maneira mais comum de transmissão seja a que acontece no ambiente hospitalar, favorecida pela pressão seletiva de antimicrobianos, pode ocorrer também a transmissão interpessoal entre os profissionais de saúde, que manipulam o paciente que está colonizado e acabam transmitindo o micro-organismo a outros pacientes até então infectados (BROLUND, 2014).

Medidas de controle para evitar uma possível disseminação de bactérias multirresistentes são preconizadas pela ANVISA (2013), tais como:

- Enfatizar a importância da higienização das mãos para todos os profissionais de saúde, visitantes e acompanhantes;
- Disponibilizar materiais para correta higienização das mãos;
- Disponibilizar Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) e Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC's) para manejo de pacientes e suas secreções;
- Reforçar aplicação de precauções de contato;
- Estabelecer uma área de isolamento de pacientes ou coorte exclusivo para pacientes colonizados/ infectados pelo mesmo microrganismo multiresistente;
- Avaliar necessidade de implantar coleta de culturas de vigilância de acordo com o perfil epidemiológico da instituição;
- Manter o sistema de vigilância epidemiológica das infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) que permita o monitoramento de patógenos multirresistentes;
- Fortalecer a política de uso racional de antimicrobianos;
- Disponibilizar equipamentos e utensílios para uso individual do paciente (estetoscópio, esfigmomanômetro, termômetro, talheres, copos e outros);
- Avaliar a necessidade de programar medidas de corte em relação a profissionais de saúde e pacientes;
- Enfatizar as medidas gerais de prevenção de IRAS no manuseio de dispositivos invasivos.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aparecimento de bactérias multirresistentes é um dos maiores desafios no controle de infecções nos serviços de saúde. A emergência da resistência é um sinal evidente de que medidas preventivas devem ser tomadas com o objetivo de reduzir a disseminação desses micro-organismos.

A utilização deve ser criteriosa quanto ao uso de antibióticos e o laboratório de microbiologia o suporte fundamental para importantes ações de controle. O uso indiscriminado de antibióticos, sem dúvida foi o que levou até a atual situação e selecionou micro-organismos altamente resistentes.

A área multidisciplinar da saúde precisa ser informada, treinada e conscientizada do real e grande problema que isso significa. O estudo sobre a resistência bacteriana tem se tornado essencial, possibilitando esclarecimentos quanto às medidas a serem tomadas para auxiliarem na queda e erradicação das IRAS.

A via mais comumente associada à disseminação das IRAS é a contaminação de micro-organismos entre as mãos dos profissionais de saúde e paciente. Entretanto, o âmbito hospitalar tem contribuição importante na disseminação dos micro-organismos multirresistentes. Isso acontece porque os locais onde os pacientes que estavam infectados ou colonizados por essas bactérias multirresistentes ficam contaminados. A dificuldade da descontaminação desses ambientes pode favorecer a disseminação de bactérias resistentes (ANVISA, 2013).

Apesar de a CLSI ter colocado novos pontos de corte para Cefalosporinas e que não seria necessário à identificação fenotípica de ESBL e, sim, liberar um antibiograma de acordo com o resultado obtido. Publicações recentes alertam para falhas terapêuticas quando a bactéria é ESBL positiva e os antibióticos são liberados de acordo com os resultados *in vitro*.

A prevenção é a principal forma de combater as IRAS devido à complexidade e custos no tratamento. Desta forma, os profissionais de saúde são importantes para que essas ações sejam eficientes.

Destaca-se, ainda, o papel do microbiologista diante do problema atual de ESBL e outros mecanismos de resistência como de suma importância dentro de um laboratório, mantendo-se atualizado e com relacionamento constante com outros

profissionais de saúde, com serviço de epidemiologia e CCIH, além de participar e estabelecer programas de controle de qualidade para garantir resultados confiáveis.

## 6 REFERÊNCIAS

AMBLER R. P. The structure of beta-lactamases. **Philos Trans R Soc London Ser B.**, v. 289, p. 321-331, 1980.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Curso básico de controle de infecção hospitalar**. Brasília: Anvisa; 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Nota Técnica Nº 01/2013. Medidas de prevenção e controle de infecções por enterobactérias multiresistentes. Brasília, 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect>. acessado em: 20/10/13.

BROLUND, Alma. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. **J Infect Ecol Epidemiol**, 2014.

BUSH K. Is it important to identify extended-spectrum beta lactamase-producing isolates? **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.**, v. 15, p. 361-364, 2001.

BUSH K. et al. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrob Agent Chemother**, v. 39, p. 1211-1233, 1995.

CORDOVA, Caio Maurício Mendes; BLATT, Solange Lucia; DALMARCO, Eduardo Monguilhott. Identificação Laboratorial de Beta Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs). **RBAC**, v. 38, n. 3, p. 171-177, Blumenau, 2006.

HO, Y. et al. Systematic identification of protein complexes in *Saccharomyces cerevisiae* by mass spectrometry. **Nature**, v. 415, p. 180–183, 2002.

KIM, E. M. et al. Phosphorylation of Rph1, a damage-responsive repressor of PHR1 in *Saccharomyces cerevisiae*, is dependent upon Rad53 kinase. **Nucleic Acids Res**, v. 30, n. 3, p. 643-648, 2002.

LINCOPAN Nilton; SILVA Ketrin Cristina. **Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio**. São Paulo, 2012.

LUCET, J. C. et al. Outbreak of multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. **Clin. Infect. Dis.**, v. 22, p. 430-436, 1996.

MARTINS, Alexandre Costa; PICOLI, Simone Ulrich. Métodos Alternativos para detecção de betalactamase de espectro estendido em *Escherichia Coli* e *Klebsiella pneumoniae*. **Rev. Bras. Patol. Med. Lab**, v. 47, n. 4, p. 421-426, ago. 2011.

MENASHE, I. et al. Different noses for different people. **Nat. Genet.**, v. 34, p.143–144, 2001.

MEYER, J. P.; ALLEN, N. J. & SMITH, C. A. Commitment to organizations and occupations: extension and test of a three-component conceptualization. **J Appl Psychol**, v. 78, n. 4, p. 538-551, 1993.

MZALI F. H.; CHANAWONG A.; KERR K. G.; BIRKENHEAD D.; HAWKEY P. M. Detection of extended spectrum beta lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison os the MAST DD test, the double disk and the Etest ESBL. **J. Antimicrob Chemother**, v. 45, n. 6, p. 881-885, jun. 2000.

NIKAIDO H. Multidrug Resistance in Bacteria. Review in Advance first posted online on February 20, 2009.

OPLUSTIL, 2011; Atualização das metodologias de detecção de resistência. Disponível em <http://www.medcorp.com.br/medcorp/upload>. Acesso em: 12 de março de 2015.

PEÑA, R. S. et al. Influência da temperatura nos parâmetros de modelos bi-parametricos que predizem isotermas de adsorção de umidade do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó. **SBCTA**, v. 17, n. 3, p. 229-232. 1997.

PICOLI, Simone Ulrich; MARTINS, Alexandre Costa; Métodos Alternativos para detecção de betalactamase de espectro estendido em *Escherichia Coli* e *Klebsiella pneumoniae*. **Rev. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 47, n. 4, p. 421-426, ago. 2011.

PIROTH, L. et al. Spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* are  $\beta$ -lactamase inhibitors of therapeutic value? **Clin. Infect. Dis.**, v. 27, p. 76-80, 1998.

ROSSI, Flávia; ANDREAZZE, Denise. **Resistência Bacteriana: Interpretando o antibiograma**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

THOMSON K. S.; SANDERS C. C. Detection of extended-spectrum beta lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 36, n. 9, p.1877-1882, sep. 1992.

VERCAUTEREN, E. et al. 1997. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and their prevalence among blood isolates of *E. coli* and *Klebsiella* spp. in a Belgian teaching hospital. **J. Clin. Microbiol**, 35, 1997.

WILK, M. S.; LOVERING, A. L.; STRYNADKA, N. C. J. B-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. **Curr. Opin. Microbiol**, New York, v. 8, p. 525-533, 2005.