
**PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *Escherichia coli*
E *Klebsiella spp* ISOLADAS DE UROCULTURA DE
COMUNIDADE DO MUNICÍPIO DE SÃO LUIS-MA
NO PERÍODO DE 2005-2008**

Tatiana Cristina Fonseca Soares de Santana,¹ Romaro Costa Maião,² Silvio Gomes Monteiro,¹ Monique Santos do Carmo³ e Patrícia de Maria Silva Figueiredo¹.

RESUMO

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das causas mais frequentes da procura de tratamento nas unidades de saúde por homens e mulheres. O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de enterobactérias isoladas de uroculturas de um laboratório particular de São Luís nos anos de 2005 a 2008. Realizou-se um estudo retrospectivo e descritivo das informações coletadas por meio de fichas protocolo dos resultados de 875 uroculturas positivas realizadas no período do estudo. Entre estas, 748 culturas mostraram-se positivas para enterobactérias, predominando as espécies *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* com 73,4% e 26,6% de frequência, respectivamente. A maioria dos casos positivos era proveniente de amostras do sexo feminino (68,9%), sendo a faixa etária de 20 a 29 anos a mais afetada (54,5%) por ambos os patógenos. Quanto à susceptibilidade aos antimicrobianos, *E.coli* e *Klebsiella spp* apresentaram índice de resistência elevada (75,6%) à amoxicilina/ácido clavulânico e ao ácido nalidixico (82,5%), o que sugere a não utilização desses antibacterianos no tratamento de infecções do trato urinário.

DESCRITORES: Infecções bacterianas. Infecções por bactérias gram-negativas. Infecções por Enterobacteriaceae. Urocultura.

ABSTRACT

Resistance profile of *Escherichia Coli* and *Klebsiella spp.* isolated from uroculture of the community of São Luis-MA, Brazil in the period 2005-2008

Urinary tract infection (UTI) is one of the causes that often leads men and women to seek treatment at health units. This study aimed to evaluate the profile of antimicrobial resistance of

-
- 1 Centro Universitário do Maranhão- UNICEUMA, São Luis, MA, Brasil
 - 2 Estudante de enfermagem do UNICEUMA
 - 3 Universidade Federal do Maranhão

Endereço de correspondência: Patrícia de Maria Silva Figueiredo. Laboratório de Microbiologia Médica – Núcleo de Doenças Endêmicas e Parasitárias, Centro Universitário do Maranhão. Avenida Josué Montelo, Bairro Renascença, CEP 65060-120, São Luis, MA, Brasil. E-mail: figueiredo.patricia@gmail.com

Recebido para publicação em 27/10/2011. Revisto em: 13/7/2012. Aceito em: 21/9/2012.

Enterobacteriaceae isolated from urine cultures collected in a private laboratory in São Luis, MA, from 2005 to 2008. A retrospective and descriptive study was conducted with information collected from study forms with the results from 1,000 urine cultures performed during the study period. Seven hundred and forty eight cultures were positive for Enterobacteriaceae species, where *Escherichia coli* and *Klebsiella spp* were predominant, with 73.4% and 26.6% frequency, respectively. Most positive cases were from females (68.9%) and the age group of 20 to 29 years was the most affected (54.5%) for both pathogens. As to sensitivity / resistance to antimicrobials, *E.coli* and *Klebsiella spp* showed high resistance index (75.6%) to amoxicillin / clavulanic acid, and nalidixic acid (82.5%), suggesting that their use should be avoided in the treatment of urinary tract infections.

KEY WORDS: Infection. Enterobacteria. Resistance. Urocultures.

INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) constitui um dos principais tipos de infecção hospitalar e uma das causas mais frequentes da procura de homens e mulheres por assistência médica (Almeida et al., 2007). Caracterizada pela presença de microrganismos na urina, mais comumente as bactérias, pode atingir qualquer nível do aparelho urinário, desde a bexiga, e causar cistite, uretrite e pielonefrite (Soares et al., 2006). As infecções do trato urinário são causa frequente de morbidade e, em determinadas situações, podem levar a mortalidade significativa. O diagnóstico das infecções do trato urinário é sempre feito em bases clínicas e laboratoriais (Carvalho et al., 2006).

Os agentes infecciosos da ITU são geralmente provenientes da microbiota intestinal. Os agentes etiológicos dominantes responsáveis pela maioria dos casos de ITU são os bacilos gram-negativos da família *Enterobacteriaceae* (Ronald, 2003).

A família Enterobacteriaceae constitui a maior e mais heterogênea coleção de bacilos gram-negativos de importância médica. Foram descritos 32 gêneros e 130 espécies. Esses gêneros foram classificados com base nas propriedades bioquímicas, na estrutura antigênica, na hibridação e no sequenciamento dos ácidos nucleicos (Murray et al., 2004).

A ITU de origem bacteriana e seu tratamento adequado requerem a constante atualização do conhecimento do perfil bacteriológico e de resistência aos antimicrobianos habituais, principalmente em razão da resistência crescente aos antimicrobianos tanto na comunidade quanto no ambiente hospitalar. Por causa da elevada taxa de resistência bacteriana ocorrida nos últimos anos, existe a tendência de utilizar antimicrobianos que exerçam menor pressão seletiva (Foxman, 2002; Soares et al., 2006).

Com a mesma velocidade com que novos antibióticos são produzidos, é possível que os microrganismos desenvolvam resistência a eles, podendo esta ser codificada em plasmídeos transferíveis e trocados entre espécies, gêneros e até famílias de bactérias. O conhecimento dos mecanismos de desenvolvimento da resistência bacteriana aos antibióticos é fundamental para a identificação

dos medicamentos que devem ser utilizados no tratamento de ITUs e para o estabelecimento de medidas de controle da resistência (Wunder, 2004).

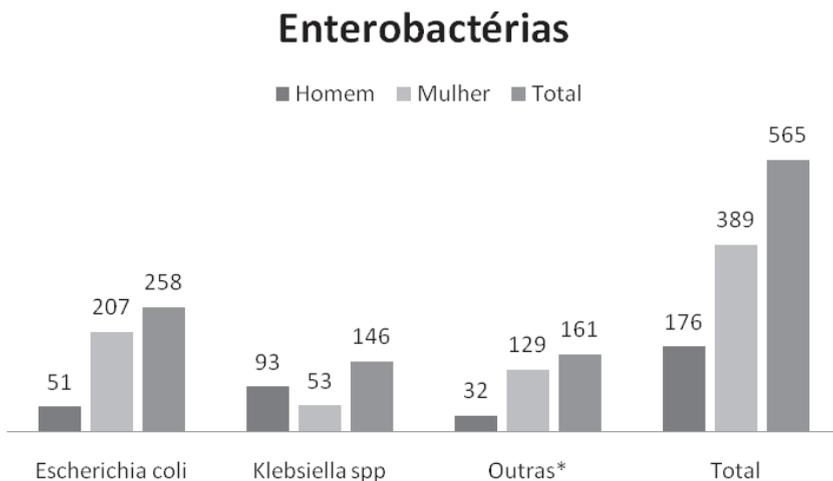
Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de enterobactérias isoladas de uroculturas de um laboratório particular de São Luís, Maranhão, Brasil, nos anos de 2005 a 2008.

MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo retrospectivo com análise quantitativa dos dados existentes nos livros de registros das uroculturas realizadas nos meses de janeiro de 2005 a junho de 2008 no Laboratório Centrolab da rede particular de laboratórios de análises clínicas do município de São Luís-MA. O instrumento de pesquisa utilizado foi a análise documental com variáveis classificatórias (sexo, idade, agente etiológico e sensibilidade aos antimicrobianos). Foram consideradas positivas as amostras com número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml) superior a 100.000, com crescimento de um único microrganismo. Consideraram-se como fator de exclusão as duplicatas, isto é, exames de um mesmo paciente, com o mesmo agente etiológico e o mesmo perfil de sensibilidade dentro de um período de quatro meses e crescimento fúngico nas culturas. As amostras de urina foram semeadas quantitativamente em CPS ID3® (bioMérieux) e Ágar Sangue® (bioMérieux) e incubadas a 36°C por 24 horas. Após este período, o CPS ID3® e o Ágar Sangue® foram examinados com a finalidade de verificar o crescimento bacteriano. A partir de então, foi realizada a contagem de colônias expressa em Unidades Formadoras de Colônias/ mililitro (UFC/ ml) de urina. Placas com crescimento bacteriano sugestivo de bacilos gram-negativos foram submetidas à prova de oxidase utilizando-se o NNNN – tetrametil-parafenilenodiamina (Probac, Brasil). Em seguida, todos os bacilos gram-negativos que apresentaram prova de oxidase negativa foram inoculados no ID32E® (bioMérieux) para identificação das enterobactérias após 24 horas de incubação a 36°C, utilizando-se o equipamento ATB Expression® (bioMérieux). Após a identificação bacteriana, foi realizado o antibiograma pela técnica de Kirby-Bauer (método de difusão em ágar), empregando-se o Ágar Müeller Hinton® (bioMérieux). Neste estudo, foi considerado apenas o resultado dos antibiogramas para os antimicrobianos tidos como de primeira escolha em ITU (ampicilina, ácido nalidíxico, cefalotina, cotrimoxazol [sulfametoxazol + trimetropim], nitrofurantoína, ciprofloxacina, norfloxacina e gentamicina). Os dados obtidos foram analisados por meio do programa BioEstat 5.0 (Ayres et al., 2007). A associação das variáveis classificatórias foi verificada por qui-quadrado de tendência e independência (χ^2), sendo os resultados apresentados na forma de tabelas. O nível de significância aplicado em todos os testes foi de 5%, ou seja, considerou-se significativo quando $p < 0,05$. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos do UNICEUMA (Protocolo nº 0072/10).

RESULTADOS

Foram analisadas 2.380 uroculturas coletadas em um laboratório particular nos anos de 2005 a 2008, tendo sido encontradas 565 (23,7%) culturas positivas para enterobactérias em amostras da comunidade. Destacaram-se *E. coli* e *Klebsiella spp* que representam 71,5% do grupo de enterobactérias isoladas nas amostras analisadas como está demonstrado na Figura 1.



χ^2 de independência = 97,247, $p < 0.0001$. * *Proteus spp*, *Serratia spp*, *Enterobacter spp*.

Figura 1. Total de Enterobactérias identificadas nas culturas positivas de um laboratório particular nos anos de 2005 a 2008, em relação ao gênero dos pacientes.

Dentre as 565 culturas confirmadas como ITU positivas para enterobactérias, a maior incidência foi em mulheres com 389 amostras (68,8%). Estatisticamente houve diferença significativa ($p < 0,0001$) na relação entre amostras coletadas de mulheres e de homens e enterobactérias isoladas.

A Figura 2 demonstra as faixas etárias de maior frequência de culturas positivas tanto para *E. coli* quanto para *Klebsiella spp*, evidenciando um elevado índice de infecção na faixa etária de 20 a 29 anos: para *E. coli*, 29,3% e para *Klebsiella spp*, 25,1%, demonstrando haver relação com a vida sexual ativa.

A Figura 3 mostra a incidência dos agentes *E. coli* e *Klebsiella spp* em homens e percebe-se um elevado índice de infecção a partir da terceira década da vida. Nas coletas, os indivíduos com idade superior a 60 anos apresentaram a maior taxa de culturas com presença de ambas as bactérias, 44,3% para *E. coli* e 41,2% para *Klebsiella*.

Distribuição por idade

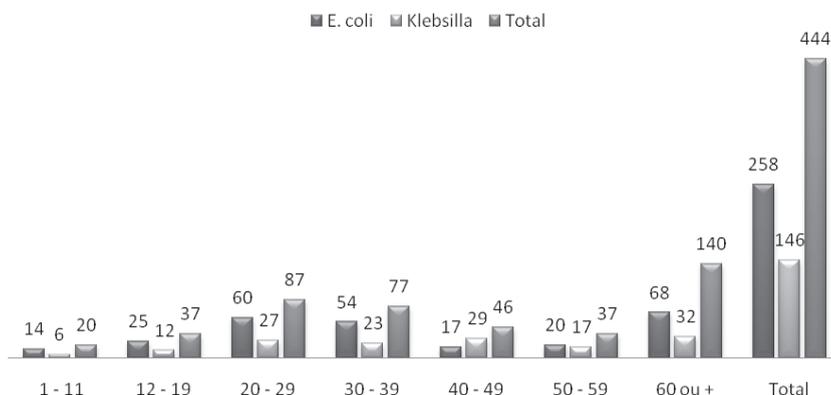


Figura 2. Distribuição de *E. coli* e *Klebsiella spp.* em uroculturas positivas de um laboratório particular do município de São Luis, MA de 2005 a 2005 de acordo com a faixa etária. χ^2 de independência = 19.552, $p = 0.0033$.

Distribuição por idade em Homens

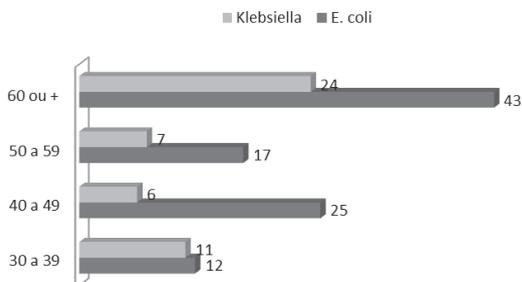


Figura 3. Distribuição de *E. coli* e *Klebsiella spp.* por faixa etária em homens.

Na Figura 4, estão demonstrados os resultados dos testes com os antibióticos realizados nas bactérias *Escherichia coli* isoladas de ambos os sexos. O maior índice de resistência apresentado foi ao ácido nalidíxico com 82,5%, seguido pela amoxicilina/ácido clavulânico com 75,6%, o que indica a ineficácia destes antibióticos contra o patógeno *E. coli* nas culturas analisadas e a não utilização desses medicamentos nos tratamentos das ITUs.

A maioria das bactérias apresentou baixa resistência aos antibióticos levofloxacina (apenas 8% de amostras resistentes), ciprofloxacina (24% de amostras resistentes), gentamicina (24% amostras resistentes), embora somente a ciprofloxacina seja disponibilizada na rede pública de saúde. Tais resultados, apresentados na Figura 5, evidenciam que os medicamentos mais eficazes foram os

que apresentaram um elevado índice de sensibilidade com taxas de resistência de, no máximo, 25,6% (norfloxacina).

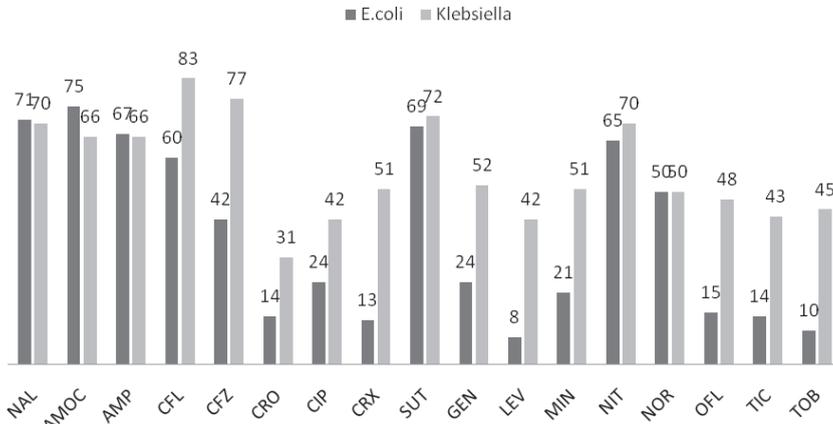


Figura 4. Percentual de resistência aos antibióticos das *Escherichia coli* e *Klebsiella* isoladas de uroculturas de um laboratório particular do município de São Luis, MA de 2005 a 2008, % = percentual das amostras resistentes, χ^2 de independência=89.725, $p < 0.0001$

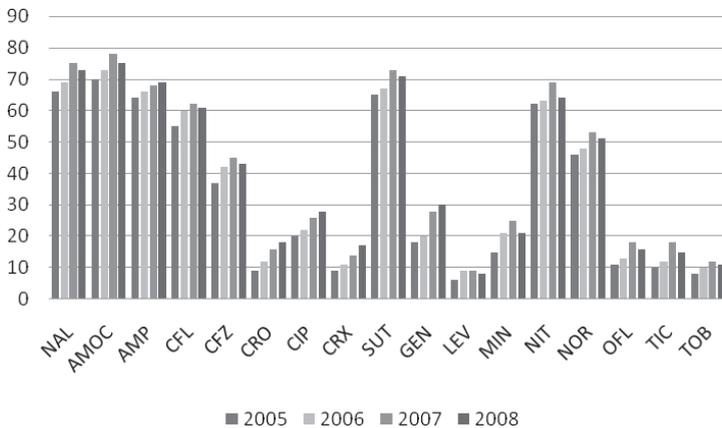


Figura 5. Frequência relativa de resistência aos antimicrobianos por ano, χ^2 de tendência =1.9286, $p=0.1649$

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As enterobactérias são anaeróbios facultativos que podem ser cultivados em vários meios de cultura, como ágar MacConkey (meio seletivo) ou ágar sangue

(não seletivo), possuem exigências nutricionais simples, fermentam a glicose com produção de ácidos. Além disso, todos os anaeróbios pertencentes a essa família reduzem o nitrato ao nitrito e não formam esporos (Murray et al., 2004).

Na Figura 1, pode-se observar que os agentes etiológicos mais frequentes foram *E. coli* com 258 (45,7%) e *Klebsiella spp* com 146 (25,8%). Estes microrganismos são os maiores causadores das infecções do trato urinário por terem a capacidade de aderir às células do local, evitando, assim, sua eliminação em consequência da mobilidade intestinal e da ação do fluxo urinário. A *Klebsiella spp* possui a beta-lactamase cromossômica (SHV1) que lhe confere resistência intrínseca à ampicilina (82,9%). Graças à resistência antimicrobiana intrínseca, estes patógenos podem sobreviver ou proliferar até mesmo em condições drásticas de pressão seletiva por antibióticos.

A ITU incide mais frequentemente em mulheres por causa de alguns fatores intrínsecos do aparelho feminino, como a extensão da uretra e a colonização da região periuretral. Por terem essas características, as mulheres são mais suscetíveis tanto às infecções comunitárias quanto às de origem hospitalar (Wilson & Gaido, 2004).

E. coli foi o patógeno mais prevalente e permanece como a causa mais frequente de ITUs. A porcentagem de 45,7% ficou abaixo do que tem sido normalmente encontrado por outros autores, como no estudo realizado por Wilson & Gaido (2004), no qual identificaram 80% de presença de *E. coli*. Este patógeno possui vários fatores de virulência especializados que fazem com que seja a bactéria mais frequente em estudos relacionados a ITUs. Suas adesinas e exotoxinas garantem a colonização da uretra, que ascende até a bexiga, podendo migrar e chegar aos rins (Murray et al., 2004).

Um fator de risco significativo para a aquisição de ITUs, segundo estudo realizado por Leone et al. (2003), em relação ao sexo feminino, é provavelmente a curta extensão da uretra feminina que facilita o acesso de microrganismos da microbiota perineal para a bexiga.

Segundo Soares et al. (2006), em mulheres jovens sexualmente ativas, a incidência de ITU sintomática é alta e o risco é fortemente associado a relação sexual recente, uso de diafragma com espermicida e história de infecções recorrentes do trato urinário. Os resultados deste estudo coincidem com outros nos quais mulheres na faixa etária de 12 a 39 anos aparecem com 56,8% das infecções estudadas. De acordo com a literatura, a prevalência de ITUs aumenta em homens com idade acima de 50 anos, provavelmente pela hipertrofia da próstata e instrumentação do trato urinário inferior (Bass et al., 2003).

A baixa susceptibilidade de *E. coli* à ampicilina, tanto na infecção comunitária (48,8%) quanto hospitalar (42,1%), tem sido relatada também em outros estudos e existe uma cosseleção de resistência à ampicilina e à trimetoprima que é explicada pela existência de plasmídeos transmissíveis em *E. coli* que codificam resistência a ambos.

Conclui-se que as enterobactérias foram responsáveis por 748 casos de ITUs, com o maior percentual em mulheres na faixa etária de 20 a 29, para *E. coli* 29,3% e para *Klebsiella spp* 25,1%. Os dados demonstram a existência de relação com a vida sexual ativa, o que pode estar associado à má higienização e à falta de cuidados com a própria saúde.

Com base nos dados obtidos, é necessário que se dê ênfase na importância ao tratamento eficaz contra esse tipo de infecção, pois os uropatógenos vêm desenvolvendo resistência crescente aos antimicrobianos tanto na comunidade quanto no ambiente hospitalar.

Em razão do aumento nas taxas de resistência bacteriana ocorrido nos últimos anos, existe a tendência ao uso de antimicrobianos que exerçam menor pressão seletiva. Por outro lado, a disseminação de resistência bacteriana tem exigido o uso de antimicrobianos mais potentes e com espectro mais ampliado.

Porém os antimicrobianos testados com maior sensibilidade aos microrganismos isolados, em sua maioria, não são disponibilizados pelo SUS. Contudo, o setor de saúde não pode se acomodar, especialmente com relação à infecção urinária, um problema que pode ser facilmente evitado. Da mesma forma, a análise dos dados sobre o perfil de sensibilidade nos permite concluir que a situação é altamente preocupante e que devemos controlar a resistência bacteriana de modo urgente e eficaz. Para isso, devemos considerar que esse processo requer uma visão multidisciplinar, em que a equipe clínica tenha participação efetiva seja na redução de prescrições inadequadas ou nos cuidados simples para evitar a infecção.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA (processos números: BATI 502/10 – Diogo Marcelo Lima Ribeiro e BATI 03905/10 – Monique Santos do Carmo).

REFERÊNCIAS

1. Almeida MC, Simoes MJS, Raddi MSG. Ocorrência de infecção urinária em pacientes de um hospital universitário. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 28: 215-219, 2007.
2. Ayres M, Ayres Jr M, Ayres DL, Santos AS. *BioEstat Versão 5.0*. Sociedade Civil Mamirauá. MCT-CNPq, Belém,Pará, Brasil, 2007.
3. Bass III PF, Jarvis JAW, Mitchell CK. Urinary tract infections. *Prim Care Office Pract* 30: 41-61, 2003.
4. Bochicchio GV, Joshi M, Shih D, Bochicchio K, Tracy K, Scalea TM. Reclassification of urinary tract infections in critically ill trauma patients: a time-dependent analysis. *Surg Infect* 4: 379-385, 2003
5. Carvalhal GF, Rocha LCA, Monti PR. Urocultura e Exame comum da urina: considerações sobre sua coleta e interpretação. *Rev AMRIGS* 50: 59-62, 2006.
6. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 113: 5-13, 2002.

7. Leone M, Albanèse J, Garnier F, Sapin C, Barrau K, Bimar MC, Martin C. Risk factors of nosocomial catheter-associated urinary tract infection in a polyvalent intensive care unit. *Intensive Care Med* 29: 1077-1080, 2003.
8. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica*. 4ª edição. Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2004.
9. Ronald A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Dis Mon* 49:71-82, 2003.
10. Soares LA, Nishi CYM, Wagner HL. Isolamento das bactérias causadoras de infecções urinárias e seu perfil de resistência aos antimicrobianos. *Rev Bras Med Fam e Com* 2: 84-92, 2006.
11. Wilson ML, Gaido L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients *Clin Infect Dis* 38: 1150-1158, 2004.
12. Wunder RS. Principais patógenos bacterianos em UTIs: avaliação da resistência em cinco anos. *Arq Bras Med Naval* 65: 7-21, 2004.