

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM CEPAS DE *Enterococcus spp.* ISOLADAS DA UTI DE UM HOSPITAL DE CACHOEIRO DE ITAPEMIRIM – ES

Maicon Marvila Miranda¹, Ana Carolina Ambrósio Simões², Camilla Dellatorre Teixeira³

¹Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias - maiconmiranda@outlook.com

²Discente do Curso Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário São Camilo – ES, Rua São Camilo de Lélis, 01, Bairro Paraíso, Cachoeiro de Itapemirim – ES – acasimoes@yahoo.com.br

³Orientadora. Farmacêutica. Docente do Centro Universitário São Camilo – ES, Rua São Camilo de Lélis, 01, Bairro Paraíso, Cachoeiro de Itapemirim – ES – camilladellatorre@saocamillo-es.br

Resumo - A Unidade de Terapia Intensiva (UTI), local onde são internados pacientes com maior gravidade, é uma das unidades do hospital com maior índice de infecções hospitalares. Os *Enterococcus* são capazes também de exibir diferentes mecanismos de resistência adquirida a uma ampla variedade de antimicrobianos. Esta pesquisa teve como objetivo identificar a prevalência de cepas de *Enterococcus spp.* na UTI de um hospital em Cachoeiro de Itapemirim-ES, no período de 2014 à 2015, e determinar sua multirresistência aos antimicrobianos. Os dados foram coletados através do acervo documental do laboratório de análises clínicas, no setor de microbiologia. A maior prevalência da bactéria foi no gênero masculino e em amostras de urina foram fonte majoritária de isolamento. Fora verificado alta taxa de resistência a quinolonas, aminoglicosídeos e glicopeptídeos. A necessidade de uma maior vigilância no controle de infecção hospitalar com o intuito de minimizar e/ou eliminar as infecções de pacientes internados, principalmente em UTI.

Palavras-chave: *Enterococcus spp.*; Resistência; Antimicrobianos; UTI.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde

Introdução

A resistência bacteriana constitui um problema de saúde pública crescente, e está comumente associada ao aumento da morbidade e letalidade nas instituições de cuidados à saúde (DREES *et al.*, 2008). As doenças infecciosas causadas por patógenos oportunistas continuam a ser uma das principais causas de morbidade e letalidade em todo o mundo, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos ou mais vulneráveis devido a certas condições. O elevado aumento de microrganismos resistentes a antibióticos tem dificultado a aplicação de tratamentos eficazes que frequentemente são associados a dificuldade terapêutica devido a resistência a antimicrobianos (MOELLERING *et al.*, 2007). Dentre os microrganismos oportunistas existentes destacam-se algumas espécies do gênero *Enterococcus*.

Os *Enterococcus* são microrganismos comensais do trato intestinal de seres humanos e animais. Nos seres humanos, também são comumente encontrados como membros das microbiotas do trato geniturinário, trato gastrointestinal e da cavidade oral. *E. faecalis* e *E. faecium* são as espécies mais frequentemente isoladas de seres humanos (TEIXEIRA *et al.*, 2011). Por outro lado, os enterococos podem causar uma variedade de infecções oportunistas, dentre as quais se destacam as do trato urinário, bacteremias, endocardites, feridas cirúrgicas e crônicas, incluindo úlceras de decúbito (ZIRAKZADEH & PATEL, 2006).

Estes microrganismos são capazes também de exibir diferentes mecanismos de resistência adquirida a uma ampla variedade de antimicrobianos. Isso se dá por conta do potencial genético do micro-organismo, determinado pelo acúmulo de mutações, ou aquisição de genes de resistência transferíveis; e a pressão seletiva pelo uso de antimicrobianos (MURRAY, 1990; KLARE *et al.*, 2003). Em face do que fora apresentado, o presente trabalho teve como objetivo estudar o perfil de susceptibilidade de amostras de *Enterococcus* hospitalares, sabendo que tal espécie bacteriana possui mecanismos diversos de resistência.

Metodologia

Primeiramente fora realizado um estudo retrospectivo pela avaliação dos arquivos dos pacientes que estiveram ou que estão nos hospitais, também as planilhas da Comissão e Controle de Infecções Hospitalares (CCIH) para quantificar a incidência e prevalência das infecções enterocócicas atuais nas unidades hospitalares. Os registros dos pacientes estão codificados no banco de dados dos Sistemas Informatizados utilizados pelos hospitais em estudo, cuja codificação garante sigilo aos pacientes, não sendo divulgado o nome de nenhum paciente. Somente será verificado o número do registro da internação no hospital e se houve ou não infecção. No caso de infecção, será verificada quais antibióticos foram utilizados durante o tratamento intra hospitalar.

O estudo retrospectivo foi realizado avaliando os registros arquivados pelo setor de microbiologia do laboratório de análises clínicas de um hospital de médio porte da cidade de Cachoeiro de Itapemirim-ES, com início em janeiro de 2014 e fim em junho de 2016, para identificar as principais bactérias multirresistentes que causaram infecções hospitalares, além de constatar quais tiveram resistência aos antibióticos mais utilizados do hospital.

Os dados foram coletados em registros do Laboratório de Análises Clínicas, pelo setor de microbiologia, no período de agosto de 2015 a dezembro de 2016.

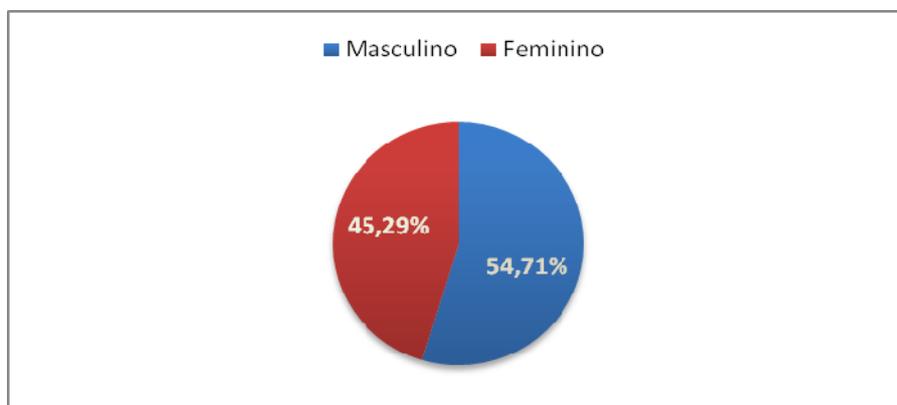
A identificação das bactérias multirresistentes foi realizada pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital parceiro, através de métodos bioquímicos de isolamento e identificação bacteriana. Fora empregado o método Kirby-Bauer (1966), de Difusão-de-disco, a partir de disco adicionado na superfície do ágar para testar *in vitro* a sensibilidade das bactérias isoladas, de acordo com a padronização estabelecida pelo CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2015).

Para a interpretação dos resultados realizar-se-á codificação apropriada de cada uma das variáveis no estudo, através de banco de dados no programa Microsoft Excel. O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) do Centro Universitário São Camilo, sob o número 1563703. Vale ressaltar que foi preenchido o termo de confidencialidade e sigilo quanto à obtenção dos dados obtidos nos hospitais, que garante que após a publicação dos resultados, todos os dados sejam descartados para que os mesmos não sejam utilizados de forma indevida.

Resultados

No período estudado, foram analisadas o quantitativo de 2219 amostras, das quais 1267 (57,09%) foram positivas para crescimento bacteriano. As amostras de *Enterococcus* spp corresponderam 4,34% do total de culturas positivas, com 53 unidades isoladas, sendo a maioria (54,71%) proveniente do sexo masculino (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Gênero, em porcentagem, dos pacientes com infecção por *Enterococcus* spp.



Fonte: Ana Carolina A. S., Maicon M. M. (2016).

O sítio de isolamento mais frequente fora a Urina com 54,79%, seguido do Sangue com 19,02%, Secreções com 15,02%, Fragmento Ósseo com 5,69% e, por fim, Swab retal com 5,48%.

Tabela 1 – Espécimes clínicos com isolados de *Enterococcus spp.* nos anos de 2014 à 2015.

Espécimes clínicos (2014-2015)		
	n	%
Urina	29	54,79
Hemocultura	10	19,02
Secreção	7	15,02
Fragmento Ósseo	3	5,58
Swab retal	3	5,58

Fonte: Ana Carolina A. S., Maicon M. M. (2016)

Com relação a resistência aos antimicrobianos, 30,18% das amostras revelaram-se resistentes a Penicilina, 45,28% revelaram-se resistentes a Vancomicina, 71,69% revelaram-se resistentes a Gentamicina e 77,39% revelaram-se resistentes ao Ciprofloxacino.

Tabela 2 – Perfil de susceptibilidade de *Enterococcus spp.* à antimicrobianos no período de 2014 à 2015.

Antimicrobianos	%
Penicilina	30,18
Ciprofloxacino	77,39
Levofloxacina	71,69
Gentamicina	71,69
Vancomicina	45,28

Fonte: Ana Carolina A. S., Maicon M. M. (2016).

Discussão

Amostras de *Enterococcus* com elevadas taxas de resistência, além de configurarem um reservatório de genes móveis, que podem vir a ser transferidos para outros patógenos com potencial de virulência mais elevada, apresentam destacada capacidade de disseminação intra e interinstitucional.

No Brasil, dados relativos à diversidade da resistência aos antimicrobianos entre amostras de *Enterococcus* ainda são limitados a determinadas localidades ou instituições. Torna-se, portanto, fundamental o monitoramento mais amplo e contínuo desses microrganismos para determinar a evolução das características de resistência a antimicrobianos, permitindo esclarecer aspectos de seu surgimento e disseminação, visando contribuir para o desenvolvimento de estratégias mais adequadas para o controle das infecções e da transmissão de amostras multirresistentes.

TEIXEIRA (2007) em seus estudos, de amostras oriundas de hospitais da cidade do Rio de Janeiro, verificou que a maioria das espécies também foram isoladas da urina, demonstrando resultados similares ao nosso trabalho.

A resistência intrínseca aos beta-lactâmicos é devido à baixa afinidade de suas proteínas ligadoras de penicilina - PBPs (do inglês *penicillin binding proteins*) a estes agentes, tais como PBP4 em *E. faecalis* e PBP5 em *E. faecium*. Entre os beta-lactâmicos, a ampicilina é o antimicrobiano mais efetivo contra os enterococos e, em geral, as cefalosporinas são as menos ativas, não apresentando relevância para o tratamento das infecções (MURRAY, 1990; TORRES *et al.*, 1993; ARIAS, CONTRERAS & MURRAY, 2010).

Os mecanismos adquiridos proporcionam níveis elevados de resistência aos beta-lactâmicos e estão mais associados a mutações pontuais e cumulativas nos sítios ativos das PBPs (particularmente nas regiões de ligação ao antimicrobiano), hiperprodução dessas proteínas ou a produção de enzimas beta-lactamases; sendo estes dois últimos eventos considerados extremamente raros entre os enterococos (KAK & CHOW, 2002; JUREEN *et al.*, 2003; RICE *et al.*, 2003).

Os aminoglicosídeos atuam, primariamente, inibindo a síntese de proteínas constituintes do ribossomo. A resistência intrínseca dos enterococos a baixos níveis de aminoglicosídeos (CMI - Concentração Mínima Inibitória para a estreptomomicina em torno de 250 µg/mL e para a gentamicina de 8 - 64 µg/mL) é, na maioria das vezes, decorrente de um defeito na energização oxidativa da membrana citoplasmática, resultando em uma redução do transporte ativo da droga para o interior da célula bacteriana. Em contrapartida, os mecanismos adquiridos determinam resistência a níveis elevados de aminoglicosídeos, caracterizando o fenótipo conhecido por HLR-A (do inglês, *high-level resistance to aminoglycosides*) (MURRAY, 1990).

Os glicopeptídeos (como vancomicina e teicoplanina) atuam ligando-se com alta afinidade ao pentapeptídeo precursor do peptideoglicano, componente básico da parede celular, especificamente na porção C-terminal do dipeptídeo D-alanina-D-alanil (D-Ala-D-Ala). Sendo assim, bloqueia a transglicosilação dos demais precursores da cadeia de peptideoglicano nascente; e evita a subsequente ligação cruzada das moléculas para a formação da parede celular, através de transpeptidação. A resistência é devido à presença de operons que codificam enzimas para a síntese de precursores com baixa afinidade pelo antimicrobiano, nos quais o resíduo C-terminal D-Ala é substituído por D-lactato (D-Lac) ou D-serina (D-Ser), modificando, portanto, o sítio de ligação da vancomicina (ARIAS & MURRAY, 2012).

A emergência do VRE, descrita em várias partes do mundo, foi acompanhada de um impacto considerável na terapia das enterococcias graves. Na Europa, este fenômeno foi detectado inicialmente em 1986, provavelmente vinculado a fatores comunitários, especialmente ao extenso uso de derivados de glicopeptídeos (avoparcina) em rações para alimentação de animais, mantido até 1997. Nos EUA, os glicopeptídeos não foram inseridos na alimentação de animais e a presença do VRE foi inicialmente descrita em 1987, associada primariamente ao uso de vancomicina nos hospitais (TACCONELLI & CATALDO 2008).

O gênero *Enterococcus* consegue sobreviver em ambiente hospitalar devido a sua resistência intrínseca a inúmeros antimicrobianos que são regularmente prescritos. Através de mutação ou recebendo algum material genético diferente por intermédio de plasmídeos e transposons, os *Enterococcus* conseguiram apresentar resistência aos antimicrobianos utilizados na atualidade (HORNER *et al.*, 2005). Os enterococos encontrados no presente estudo mostraram uma taxa de resistência à vancomicina de 45,28%, correspondendo a 11 amostras, tal taxa mostrou-se superior a estudos brasileiros realizados por TEIXEIRA (2007) e COELHO (2013).

Conclusão

Em hospitais públicos ou particulares, a UTI é o local com o maior número de infecções, sendo uma preocupação constante para os profissionais da saúde, pois nesta unidade estão internados os pacientes com estado de saúde mais grave, ou seja, pacientes mais suscetíveis a contraírem uma infecção. De acordo com os resultados apresentados, constata-se que as amostras de *Enterococcus spp.* relatadas no hospital apresentam multirresistência aos antimicrobianos, principalmente as quinolonas, aminoglicosídeos e glicopetídeos culminando numa terapia farmacológica ineficaz.

Os resultados desse estudo colaboram para apoiar outros trabalhos sobre controle de infecção, demonstrando a importância de uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) formada por uma equipe multidisciplinar nos hospitais, para que elaborem e executem programas que minimizem e/ou eliminem o risco de infecção dos pacientes internados, principalmente em UTI.

Referências

ARIAS, C.A.; CONTRERAS, G.A.; MURRAY, B.E. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. **Clin. Microbiol. Infect.** 16, 555-562, 2010.

ARIAS, C.A.; MURRAY, B.E. The rise of the *Enterococcus*: beyond the vancomycin resistance. **Nat. Rev. Microbiol.** 10, 266-278, 2012.

COELHO, M.R. Caracterização de cepas hospitalares de *enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE): suscetibilidade a antimicrobianos e fatores de virulência, Dissertação de Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade Federal do Espírito Santo, 69p., 2013.

DREES, M.; SNYDMAN, D.R.; SCHMID, C.H.; BAREFOOT, L.; HANSJOSTEN, K.; VUE, P.M. CRONIN, M.; NASRAWAY, S.A; GOLAN, Y. Prior environmental contamination increases the risk of acquisition of vancomycin-resistant enterococci. **Clin Infect Dis.** 46 (5), 678-85, 2008.

JUREEN, R.; TOP, J.; MOHN, S.C.; HARTHUG, S.; LANGELAND, N.; WILLEMS, R.J.L. Molecular Characterization of Ampicillin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolates from Hospitalized Patients in Norway. **J. Clin. Microbiol.** 41, 2330-2336.

KAK, V.; CHOW, J.W. Acquired antibiotic resistance in enterococci. In: GILMORE, M.S.; CLEWELL, D.B.; COURVALIN, P.; DUNNY, G.M.; MURRAY, B.E.; RICE, L.B. (eds). The enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance. **ASM Press**, 355-383, 2002.

KLARE, I.; KONSTABEL, C.; BADSTUBNER, D.; WERNER, G.; WITTE, W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. **Int. J. Food Microbiol.** 88, 269-290, 2003.

MOELLERING JR, R.C.; GRAYBILL, J.R.; MCGOWAN JR, J.E.; COREY, L. Antimicrobial Resistance Prevention Initiative - An Update: Proceedings of an Expert Panel on Resistance. **Am J Infect Control** 35, S1-S23, 2007.

MURRAY, B.E. The life and times of the *Enterococcus*. **Clin. Microbiol. Rev.** 3, 46-65, 1990.

RICE, L.B.; CARIAS, L.; RUDIN, S.; VAEL, C.; GOOSSENS, H.; KONSTABEL, C. A potential virulence gene, *hylEfm*, predominates in *Enterococcus faecium* of clinical origin. **J. Infect. Dis.** 187, 508-512, 2003.

TACCONELLI, E.; CATALDO, M.A. Vancomycin-resistant enterococci (VRE): transmission and control. **Int J Antimicrob Agents.** 31, 99-106, 2008.

TEIXEIRA, C.D. Estudo de amostras de *Enterococcus* isoladas de quatro hospitais de Niterói- RJ: Caracterização fenotípica e genotípica. Dissertação em Patologia Clínica, Universidade Federal Fluminense, 141p., 2007.

TEIXEIRA, L.M.; CARVALHO, M.G.; SCHEWMAKER, P.L.; FACKLAM, R.R. *Enterococcus*. In: LANDRY, J.H.; WARNOCK, M.L.; D.W. Manual of Clinical Microbiology. Edited by VERSALOVIC **American Society for Microbiology**, Washington, D.C. 350-364, 2011.

TORRES, C.; TENORIO, C.; LANTERO, M.; GASTAÑARES, M.J.; BAQUERO, F. High-level penicillin resistance and penicillin-gentamicin synergy in *Enterococcus faecium*. **Antimicrob. Agents Chemother.** 37, 24-2., 1993.



ZIRAKZADEH, A.; PATEL, R. Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. **Mayo Clinic Proceedings**, 81, 529-536, 2006.