

Avaliação da atividade *in vitro* do meropenem contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de betalactamases de espectro expandido isoladas na Cidade de Fortaleza, Ceará

Evaluation of the *in vitro* activity of meropenem against strains of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in the City of Fortaleza, Ceará.

Everardo Albuquerque Menezes¹, Kaline Medeiros do Nascimento², Karla Pimenta Soares², Lia Nascimento Amorim², José Gadelha Lima Neto² e Francisco Afrânio Cunha¹

RESUMO

Betalactamases de espectro estendido são mediadas por plasmídios. Essas enzimas possuem a habilidade de hidrolizar antibióticos β -lactâmicos. Nesse estudo, avaliamos a atividade *in vitro* do meropenem contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs. Foram estudadas 14 cepas. A susceptibilidade dessas cepas para o meropenem foi de 100%.

Palavras-chaves: *Klebsiella pneumoniae*. Betalactamases de espectro expandido. Meropenem.

ABSTRACT

Extended-spectrum β -lactamases are plasmid-mediated. These enzymes have the ability to hydrolyze β -lactam antibiotics. In this study, we evaluated the *in vitro* activity of meropenem against ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* strains. Fourteen strains were studied. The susceptibility of these strains to meropenem was 100%.

Key-words: *Klebsiella pneumoniae*. Extended-spectrum β -lactamases. Meropenem.

O tratamento de infecções causadas por cepas de *Klebsiella pneumoniae* tem se tornado difícil pela existência de cepas carregando plasmídios, que codificam enzimas conhecidas como betalactamases, conferindo resistência a drogas betalactâmicas. Esta situação tem aumentado e causado sérios problemas em nível mundial com taxas de incidência variando de 5% nos Estados Unidos⁴ e 16% na Europa¹²; incidências maiores têm sido observadas em surtos epidêmicos hospitalares². Adicionalmente, tem-se observado que cepas produtoras de betalactamases também apresentam resistência a outras classes de drogas antimicrobianas, como as fluoroquinolonas¹. *Klebsiella pneumoniae* é conhecida por muitos médicos como causa de pneumonia comunitária, ocorrendo principalmente em pacientes imunocomprometidos⁹.

Em unidades pediátricas, infecções hospitalares por *Klebsiella* spp são consideradas um problema importante em crianças prematuras⁴. A incidência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produzindo enzimas betalactamases de espectro expandido (ESBLs), nos

Estados Unidos situa-se em torno de 5%¹. Na Europa, esta prevalência pode situar em torno de 14% a 16%¹². As ESBLs são geralmente transmitidas através de plasmídios. Como os plasmídios são facilmente transmitidos entre diferentes membros das enterobactérias, a acumulação de genes de resistência resulta em cepas que possuem plasmídios que codificam para multirresistência². As ESBLs produzidas por *Klebsiella pneumoniae* são a principal causa de aumento da resistência às cefalosporinas⁴.

O meropenem é uma droga da classe das carbapenemas apresentando amplo espectro bacteriano. O meropenem apresenta uma considerável estabilidade frente à ESBLs, sendo, portanto, uma das escolhas nas infecções causadas por cepas produtoras de ESBLs. A literatura relata surtos infecções por bactérias resistentes ao meropenem¹¹.

O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade *in vitro* do meropenem frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs isoladas de pacientes em Fortaleza, Ceará.

1. Laboratório de Microbiologia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 2. Departamento de Química, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE.

Endereço para correspondência: Prof. Everardo Albuquerque Menezes. Rua Capitão Francisco Pedro 1210, Rodolfo Teófilo, 60430-370 Fortaleza, CE, Brasil.

Tel: +55 85 3366-8266

e-mail: menezes@ufc.br

Recebido para publicação em 12/6/2006

Aceito em 17/1/2007

Foram avaliadas cepas de *Klebsiella pneumoniae* oriundas de amostras colhidas de pacientes internados em um Hospital de Fortaleza no ano de 2005 e mantidas em uma coleção no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas. As bactérias foram identificadas por provas bioquímicas tradicionais⁸. As cepas identificadas como *Klebsiella pneumoniae* foram inoculadas em meio MacConkey modificado contendo ceftazidima 2mg/L¹³. As *Klebsiella pneumoniae* que apresentaram crescimento nesse meio eram sugestivas de produtoras de ESBLs. O teste confirmatório foi realizado com o duplo disco de ceftazidima e amoxicilina+ácido clavulânico em meio Mueller-Hinton ágar⁵. As cepas positivas para ESBLs foram submetidas a determinação do MIC com o meropenem. Foi realizado o teste de difusão com discos de meropenem de 10µg em ágar Mueller-Hinton. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinado utilizando a microdiluição em caldo utilizando o meio Muller-Hinton suplementado com cátions^{5,6}. A faixa testada de meropenem variou de 0,06 a 64µg/mL. O meropenem foi gentilmente doado pela Astra-Zeneca. Como controle foi utilizado a cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 não produtora de ESBLs.

Das cepas avaliadas foram selecionadas 14 cepas de *Klebsiella pneumoniae* e os resultados estão mostrados na Tabela 1. Para o meropenem a literatura preconiza que cepas com MIC $\leq 4\mu\text{g/mL}$ e halo $\geq 16\text{mm}$ são consideradas sensíveis³. Todas as cepas mostraram-se sensíveis ao meropenem.

Em um estudo realizado com 25 hospitais europeus no qual foram avaliadas 215 cepas de *Klebsiella pneumoniae* ficou evidenciado uma sensibilidade de 99,5% dessas cepas para o meropenem⁷.

Tabela 1- Avaliação da susceptibilidade do meropenem contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs.

Cepa	MIC(µg/mL)										Halo (mm)									
	$\leq 0,06$	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	24	25	26	27	28	29	30		
KP6	x																		x	
KP7		x																	x	
KP11			x																x	
KP17			x																x	
KP18			x																x	
KP30		x																	x	
KP36	x																		x	
KP39			x																x	
KP42		x																	x	
KP51	x																		x	
KP120	x																		x	
KP126			x																x	
KP129	x																		x	
KP131	x																		x	
<i>E. coli</i>																				
25922	x																		x	

E: Escherichia

Em um estudo realizado na Turquia, com 54 cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs, ficou evidenciado uma sensibilidade de 100% dessas cepas para o meropenem³. Em um estudo reunindo 15 hospitais americanos, foram analisadas 281 cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs, entre essas cepas foi encontrado 99,6% de sensibilidade ao meropenem¹⁰.

De acordo com os resultados mostrados em nosso estudo é possível concluir que o meropenem apresenta boa atividade *in vitro* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBLs.

REFERÊNCIAS

1. Ardanuy C, Liñares J, Domínguez MA, Hernández-Allés S, Benedí VJ, Martínez-Martínez L. Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples and activity of cephalosporins and carbapenems. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42: 1636-1640, 1998.
2. French GL, Shannon KP, Simmons N. Hospital outbreak of *Klebsiella pneumoniae* resistant to broad-spectrum cephalosporins and β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 β -lactamase. *Journal Clinical Microbiology* 34: 358-363, 1996.
3. Kizirgil A, Demirdag K, Ozden M, Bulut Y, Yakupogullari Y, Toraman ZA. *In vitro* activity of three different antimicrobial agents against ESBLs producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* blood isolates. *Microbiological Research* 2:135-140, 2005.
4. Martínez-Martínez L, Hernández-Alles S, Alberti S, Tomas TM, Benedí VJ, Jacoby GA. *In vivo* Selection of Porin-Deficient Mutants of *Klebsiella pneumoniae* with Increased Resistance to Cefoxitin and Expanded-Spectrum Cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40: 342-348, 1996.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - fifth edition: approved standard NCCLS document M7-A5. Wayne, 2000.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 12th informational Supplement Document 21:210, 2002.
7. Nijssen S, Florijn A, Bonten MJM, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24:585-591, 2004.
8. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimentos Básicos em Microbiologia Médica*. Sarvier, São Paulo, 2000.
9. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews* 11: 589-603, 1998.
10. Quale JM, Landman D, Bradford PA, Visalli M, Ravishankar J, Flores C, Mayorga D, Vangala K, Adedeji A. Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection. *Clinical Infection Diseases* 35: 834-841, 2002.
11. Shah PM, Isaacs RD. Ertapenem, the first of new group of carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52: 538-542, 2003.
12. Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 36: 19-34, 1995.
13. Soares KP, Nascimento KM, Menezes EA, Cunha FA. Elaboração de um meio de cultura presuntivo para a detecção de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) de cepas de *Klebsiella pneumoniae* mantidas em um coleção de bactérias. *In: Resumos do XIV Congresso Brasileiro de Química*, Belém, p. 145, 2005.