

ENTEROBACTÉRIAS DOS GÊNEROS *KLEBSIELLA*, *ENTEROBACTER* E *SERRATIA* ISOLADAS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO*

Ilka Maria LANDGRAF**
Tânia Maria Ibelli VAZ**
Kinue IRINO**
Maria de Fátima Paiva VIEIRA**
Carmo Eliás Andrade MELLES**

RIALA6/633

LANDGRAF, I.M.; VAZ, T.M.I.; IRINO, K.; VIEIRA, M.F.P. & MELLES, C.E.A. — Enterobactérias dos gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia* isoladas de líquido cefalorraquidiano. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 47(1/2): 103-107, 1987.

RESUMO: Enterobactérias isoladas de líquido cefalorraquidiano de 306 pacientes com suspeita de meningite, sendo 131 cepas de *Klebsiella*, 122 de *Serratia*, e 53 de *Enterobacter*, foram estudadas. Relacionando as bactérias isoladas com a faixa etária dos pacientes, foi verificada a predominância de *Klebsiella* e *Serratia* na faixa etária de zero a um ano, e de *Enterobacter* nas faixas etárias acima de um ano. Foram realizadas provas de sensibilidade a 14 antimicrobianos. Quando relacionado o comportamento das cepas isoladas frente a grupos de antimicrobianos, foi observado que as cepas de *Klebsiella* e *Serratia* apresentavam resistência a maior número dos antimicrobianos testados, notadamente frente aos aminoglicosídeos. A resistência a grupos de antibióticos e quimioterápicos foi menor nas cepas de *Enterobacter*. Devido ao perfil variável das cepas do grupo KES estudadas, frente aos antimicrobianos, os autores recomendam que seja sistematizada a caracterização bioquímica destas cepas e realizada a prova de sensibilidade a antimicrobianos para estes agentes, visando, além de informações de ordem terapêutica, colaborar eficazmente na detecção de possíveis infecções nosocomiais.

DESCRITORES: meningite; enterobactérias, resistência a antibióticos e quimioterápicos; *Enterobacter*; *Klebsiella*; *Serratia*.

INTRODUÇÃO

As enterobactérias, embora não sejam os mais freqüentes agentes causais da meningite bacteriana, constituem um grupo de grande importância clínica, por dois fatos principais: responsabilidade nas infecções hospitalares e gravidade da doença que desencadeiam.

O interesse dos pesquisadores no comportamento das enterobactérias dos gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia* (KES) tem se fixado nas bactérias isoladas de urina, secreções das vias respiratórias, sangue e outros exsudatos^{1,13,19}. Alguns autores no estrangeiro que demonstraram interesse nesse grupo de bactérias cultivadas a

partir de líquido cefalorraquidiano, visando principalmente o seu comportamento frente a antibacterianos, apresentaram resultados somente de um ou dois casos, isoladamente^{5,12}. Outros, como FINLAND & BARNES⁹, relataram a presença dessas bactérias em número maior de amostras de líquido cefalorraquidiano, porém, relacionando-as apenas ao índice de mortalidade que representavam para o paciente. Em revisão da literatura especializada, não tivemos informações de estudos semelhantes em nosso país.

O fato de termos isolado e identificado número significativo de bactérias do grupo KES em líquido cefalorraquidiano de pacientes com infecções bacterianas das meninges, levou-nos ao presente

* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

trabalho, no qual apresentamos o número de isolamentos e percentagem, a identificação das enterobactérias e a variabilidade de seu perfil de sensibilidade ou resistência aos antibacterianos testados, dados que, no nosso entender, oferecem interesse clínico-epidemiológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram isoladas, a partir de 25.374 amostras de líquido cefalorraquidiano purulento, 306 cepas de *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia*, provenientes de pacientes com suspeita clínica de meningite bacteriana. Os materiais (LCR) eram procedentes de diversos hospitais da rede estadual de São Paulo, sendo que a maioria foi do Hospital "Emílio Ribas". Todos os materiais foram enviados ao laboratório de Bacteriologia do Instituto "Adolfo Lutz".

As técnicas bacteriológicas utilizadas para o isolamento dessas bactérias constam no manual de "Normas Técnicas para o Diagnóstico das Meningites Bacterianas", do Ministério da Saúde³. Resumidamente, consistem na sementeira em meio seletivo para enterobactérias (Mac Conkey) e no repique de colônias isoladas para um meio presuntivo de identificação (Pessoa & Silva).

A determinação das espécies bacterianas foi feita através do estudo do comportamento bioquímico de cada cepa em cultura pura, tendo sido antes observada sua fisiologia geral, ou seja, presença de bacilos Gram-negativos pertencentes à Família *Enterobacteriaceae*, isto é, aeróbio-anaeróbios facultativos, com oxidase negativa, catalase positiva, fermentadores de glicose com ou sem produção de gás, imóveis ou móveis por flagelos peritriquios, reduzindo nitrato a nitrito e crescendo em meios comuns de cultura.

O tipo de fermentação utilizado pela bactéria foi evidenciado pelas reações de Voges-Proskauer (VP) e vermelho de metila (VM), utilizando-se o meio de Clarck & Lubs para se pesquisar a acetoina (VP) e medir grosseiramente o pH (VM).

A fermentação dos açúcares foi verificada utilizando-se um meio base, água peptonada com indicador de pH, azul de bromotimol, ao qual foi acrescentada solução de cada açúcar, dando uma concentração final de 0,5 a 1%. Os açúcares utilizados foram: adonitol, arabinose, glicerol, inositol, maltose, manitol, melibiose, rafinose, ramnose, sacarose, sorbitol e sorbose. No tubo contendo água peptonada com glicose foi introduzido o tubo de Durham e verificada a produção de gás.

Outras provas foram realizadas para caracterização das cepas:

- Estudo do metabolismo de substâncias nitrogenadas, onde foi observada a descarboxilase da lisina, ornitina e arginina; do metabolismo do triptofano, através da triptofanase (produção de indol) e da triptofano-desaminase; e estudo da produção de urease.
- Verificação do crescimento das bactérias pela utilização de sais de ácidos orgânicos, como citrato de sódio (Simmons) e malonato de sódio.
- Pesquisa das enzimas extracelulares: gelatinase, pela técnica de Frazier, hidrólise do Tween 80, lecitinase e DNase^{4,6,11}.

A prova da sensibilidade ou resistência *in vitro* aos antimicrobianos foi realizada de acordo com a técnica de BAUER et alii², utilizando-se os seguintes antibióticos e quimioterápicos nas respectivas concentrações: ácido nalidíxico, 30 µg; amicacina, 30 µg; ampicilina, 10 µg; canamicina, 30 µg; cefalotina, 30 µg; cefoxitina, 30 µg; colistina, 10 µg, cloranfenicol, 30 µg; estreptomina, 10 µg; fosfomicina, 50 µg; gentamicina, 10 µg; netilmicina, 30 µg; sulfametoxazol/trimetoprina, 25 µg; tetraciclina, 30 µg.

RESULTADOS

Das 306 cepas de enterobactérias isoladas de líquido cefalorraquidiano de pacientes com meningite purulenta, foram identificadas 131 (42,8%) cepas de *Klebsiella*, 122 (39,8%) de *Serratia* e 53 (17,3%) de *Enterobacter*. Das 131 cepas de *Klebsiella*, 129 foram caracterizadas como *K. pneumoniae* ssp. *pneumoniae*, e 2 como *K. oxytoca*. As cepas de *Serratia* foram todas identificadas como *S. marcescens*. Das de *Enterobacter*, 49 eram *E. cloacae*, 3 eram *E. aerogenes* e 1 era *E. agglomerans* b, grupo 2.

Verificamos que 161 (63,6%) dos 253 pacientes com meningite purulenta em que foi identificada a *Klebsiella* ou *Serratia* eram crianças menores de um ano. Em 36 (67,9%) dos 53 casos em que o agente etiológico foi identificado como *Enterobacter*, os pacientes estavam nas faixas etárias acima de um ano (tab. 1).

Em relação aos resultados das provas de sensibilidade aos antibacterianos testados, observamos que as cepas de *Serratia* apresentaram resistência a maior número de antibacterianos (tab. 2).

TABELA 1

Relação entre enterobactérias do grupo KES isoladas de líquido cefalorraquidiano e faixa etária

Faixa etária meses	<i>Klebsiella</i>		<i>Serratia</i>		<i>Enterobacter</i>	
	nº	%	nº	%	nº	%
0 - 12	78	59,54	83	68,03	17	32,08
> 12	27	20,61	24	19,67	34	64,15
i.d.	26	19,85	15	12,30	2	3,77
Total	131	—	122	—	53	—

i.d. = idade desconhecida.

TABELA 2

Resistência das enterobactérias do grupo KES, isoladas de líquido cefalorraquidiano, aos antibióticos e quimioterápicos testados

Antibióticos e quimioterápicos	Cepas testadas								
	<i>Klebsiella</i>			<i>Enterobacter</i>			<i>Serratia</i>		
	Nº	resistentes		Nº	resistentes		Nº	resistentes	
		nº	%		nº	%		nº	%
Ácido nalidíxico	131	9	6,87	53	3	5,66	122	2	1,64
Amicacina	131	57	43,51	53	3	5,66	50	9	18,00
Ampicilina	131	125	95,42	53	47	88,68	122	122	100,00
Canamicina	131	92	70,23	53	11	20,75	122	106	86,89
Cefalotina	131	87	66,41	53	52	98,11	122	121	99,18
Cefoxitina	131	4	3,05	21	21	100,00	24	10	41,67
Colistina	131	17	12,98	53	6	11,32	122	92	75,41
Cloranfenicol	131	97	74,04	53	15	28,30	122	91	74,59
Estreptomicina	131	95	72,62	53	21	39,62	122	103	84,43
Fosfomicina	122	122	100,00	29	25	86,21	29	15	51,72
Gentamicina	131	86	65,65	53	5	9,43	122	85	69,67
Netilmicina	63	49	77,78	23	3	13,04	28	17	60,71
Sulfametoxazol- -trimetoprina	54	47	87,04	21	19	90,48	27	23	85,19
Tetraciclina	131	90	68,70	53	39	73,58	122	111	90,98

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No período de 1974 a 1985, foi possível diagnosticar laboratorialmente 25.374 casos de meningite bacteriana, dentre as 66.803 amostras de líquido cefalorraquidiano analisadas na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. Naquelas

amostras, foram identificadas 24.795 bactérias e, destas, 1.234 (4,98%) eram enterobactérias. Entre estas enterobactérias, as do grupo KES corresponderam a 393 (31,84%) cepas, mas foram estudadas 306.

Segundo nossos resultados, consideramos de

grande interesse clínico-epidemiológico o fato de encontrarmos maior ocorrência de *Enterobacter* em pacientes de faixa etária acima de um ano, ao contrário do que ocorre na maioria das meningites bacterianas. Esta observação leva à suposição de que estas infecções não tenham tido origem hospitalar, fato que é reforçado, ainda, por mostrarem estas cepas menor resistência ou maior sensibilidade aos antibacterianos.

As infecções por *Klebsiella* e *Serratia* ocorreram predominantemente na faixa etária inferior a um ano, caracterizando-se estas bactérias, na sua maioria, por multirresistência aos quimioterápicos e antibióticos empregados.

Vários pesquisadores⁷ observaram, com relação ao grupo KES, que o uso de determinado antibiótico pode promover a seleção das cepas a ele resistentes, e FINLAND⁶ descreve a evolução da resistência de cepas de *Klebsiella* e *Serratia* à gentamicina.

MACARTHUR & ACKERMAN¹² estudaram cepas de *Serratia* isoladas de vários materiais, segundo a patologia da infecção, dos quais 2 eram líquido cefalorraquidiano, e encontraram cerca de 32% de cepas resistentes aos antibióticos por eles testados. Estes autores também observaram diferentes padrões de sensibilidade antimicrobiana em diversos isolados da mesma bactéria, obtidos de uma mesma pessoa.

No nosso estudo, observamos que, em uma cepa de *S. marcescens* isolada em dias sucessivos do mesmo paciente, houve variação do perfil de sensibilidade antimicrobiana, pois a mesma cepa que fora sensível à estreptomomicina, canamicina, cloranfenicol e gentamicina tornou-se resistente a estes mesmos antibióticos, quando da segunda cultura.

Considerando-se os grupamentos de antibióticos, segundo sua estrutura química, ficou evidente a resistência acentuada aos aminoglicosídeos das cepas de *Klebsiella* e de *Serratia*, com exceção da amicacina. Esta resistência não ocorreu quando se tratava de cepas de *Enterobacter*. No entanto, em relação a este último gênero, houve resistência quase total às cefalosporinas testadas, o que outros autores já haviam observado^{5, 7}. Resistência semelhante à ampicilina foi verificada nos três gêneros de bactérias por nós estudadas.

Como já foi observado por outros autores^{7, 11}, o ácido nalidixico é antibacteriano muito ativo contra enterobactérias do grupo KES. Por este motivo, incluímos em nosso estudo a observação da ação deste quimioterápico, muito embora ele não tenha indicação clínica para combater estas bactérias sediadas no líquido cefalorraquidiano. Analisando os resultados por nós obtidos (tab. 2), verificamos que este antibiótico se mostrou eficaz para os três gêneros estudados.

O cloranfenicol, que é antibiótico muito difundido na prática terapêutica, mostrou ação moderada nas cepas de *Enterobacter*, enquanto que nas cepas de *Klebsiella* e *Serratia* ele foi pouco eficaz, em virtude da resistência acentuada que estas bactérias apresentam.

Embora o grupo KES seja um agente etiológico pouco freqüente^{10, 15, 16}, pode-se, através de sua detecção, surpreender pequenos surtos de meningite infecciosa originados por infecção hospitalar.

A caracterização bioquímica destes agentes bacterianos e o estudo da resistência aos antibacterianos, geralmente apresentando um perfil amplo de resistência, se sistematizados, virão colaborar eficazmente na detecção de possíveis infecções nosocomiais.

RIALA6/633

LANDGRAF, I.M.; VAZ, T.M.I.; IRINO, K.; VIEIRA, M.F.P. & MELLES, C.E.A. — Enterobacteria of genera *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia* isolated from cerebrospinal fluid. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 47(1/2):103-107, 1987.

ABSTRACT: The enterobacteria isolated from the cerebrospinal fluid of 306 patients suspected of meningitis included 131 strains of *Klebsiella*, 122 of *Serratia* and 53 of *Enterobacter*. *Klebsiella* and *Serratia* strains were more frequently isolated from the spinal fluid of children less than one year old while *Enterobacter* strains were isolated from older children. *Klebsiella* and *Serratia* strains were resistant to a greater number of antibiotics, particularly to those of the aminoglycoside group than *Enterobacter* strains.

DESCRIPTORS: meningitis; drug resistance, bacterial; *Enterobacter*; *Klebsiella*; *Serratia*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ATKINSON, B.A. & LORIAN, V. — Antimicrobial agents susceptibility patterns of bacteria in hospitals from 1971 to 1982. *J. clin. Microbiol.*, 20:791-6, 1984.
2. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, F.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. clin. Pathol.*, 45:493-6, 1966.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas da Saúde. Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública — Normas técnicas para o diagnóstico das meningites bacterianas. Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1986. 49 p. (Série A: Normas e manuais técnicos, 32).
4. BRENNER, D.J. — Family I. *Enterobacteriaceae*. In: KRIEG, N.R. & HOLT, J.G., ed. — *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore, Williams and Wilkins, c1984. v. 1, p.408-516.
5. DANS, P.E.; BARRET, F.F.; CASEY, J.I. & FINLAND, M. — *Klebsiella-Enterobacter* at Boston City Hospital, 1967. *Arch. intern. Med.*, 125:94-101, 1970.
6. EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. — *Identification of Enterobacteriaceae*. 4th ed New York, Elsevier, 1986. 583 p.
7. FINLAND, M. — Emergence of antibiotic resistance in Hospitals, 1935-1975. *Rev. infect. Dis.*, 1:4-21, 1979.
8. FINLAND, M. — Nosocomial epidemics seriatim. *Arch. intern. Med.*, 137:585-7, 1977.
9. FINLAND, M. & BARNES, M.W. — Acute bacterial meningitis at Boston City Hospital during 12 selected years — 1935-1972. *J. infect. Dis.*, 136:400-15, 1977.
10. GRABER, C.D.; HIGGINS, L.S. & DAVIS, J.S. — Seldom-encountered agents of bacterial meningitis. *J. Am. med. Assoc.*, 192:956-60, 1965.
11. GRIMONT, P.A.D.; GRIMONT, F.; ROSNAY, D.H.L.C. & SNEATH, P.H.A. — Taxonomy of the genus *Serratia*. *J. gen. Microbiol.*, 98:39-66, 1977.
12. MACARTHUR, B.S. & ACKERMAN, N.N.B. — The significance of *Serratia* as an infectious organism. *Surg. Gynecol. Obstetr.*, 146:49-53, 1978.
13. NICOLELIS, M.A.L.; MARTINS, M.A.; MEIRELLES, L.P. & BIROLINI, D. — Análise dos padrões de incidência e sensibilidade bacteriana em uma unidade cirúrgica com o uso de microcomputador. *Rev. Assoc. méd. bras.*, 32: 134-40, 1986.
14. SANFORD, J.P. — Sensitivity tests of *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia*. *J. infect. Dis.*, 119:388-90, 1969.
15. SHEDDEN, W.I. — Meningitis due to *Serratia marcescens*. *Arch. Dis. Child.*, 38:87, 1963.
16. THOMPSON, J.L. — Meningitis caused by *Bacillus prodigiosus* — report of a case. *Med. Ann. D.C.*, 12:145-6, 1943.
17. THORNTON, G.F. & ANDRIOLE, V.T. — Antibiotic sensitivities of non-pigmented *Serratia marcescens* to gentamicin and carbenicillin. *J. infect. Dis.*, 119:393-4, 1969.
18. WATANABE, T. — Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bact. Rev.*, 27:87-115, 1963.
19. WILFERT, J.N.; BARRET, F.F.; EWING, W.H.; FINLAND, M. & KASS, E.H. — *Serratia marcescens*: biochemical, serological and epidemiological characteristics and antibiotic susceptibility of strains isolated at Boston City Hospital. *Appl. Microbiol.*, 19:345-52, 1970.

Recebido para publicação em 4 de janeiro de 1988.

