



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**Bacteremia Hospitalar por bacilos Gram-negativos
multiresistentes: Fatores de risco e detecção de ESBL,
AmpC e metalo- β -lactamase**

Raquel Cristina Cavalcanti Dantas

Uberlândia - MG
Janeiro – 2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Bacteremia Hospitalar por bacilos Gram-negativos multiresistentes: Fatores de risco e detecção de ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Parasitologia e Imunologia Aplicadas como requisito parcial a obtenção do título de mestre

Raquel Cristina Cavalcanti Dantas

Profa. Dra. Rosineide Marques Ribas (orientadora)

Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (co-orientador)

Uberlândia - MG

Janeiro – 2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- D192b Dantas, Raquel Cristina Cavalcanti, 1987-
Bacteremia hospitalar por bacilos gram-negativos multiresistentes [manuscrito]: fatores de risco e detecção de ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase / Raquel Cristina Cavalcanti Dantas. - 2011. 55 f. : il.
- Orientadora: Rosineide Marques Ribas.
Co-orientador: Paulo Pinto Gontijo Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.
Inclui bibliografia.
1. Infecção hospitalar - Teses. I. Ribas, Rosineide Marques. II. Gontijo Filho, Paulo Pinto. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU: 616.98:615.478



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas
Telefax: (034)3218-2333 E-Mail coipa@ufu.br
Av. Pará 1720 - Campus Umuarama 38400-902 Uberlândia MG



Raquel Cristina Cavalcanti Dantas

“Bacteremia Hospitalar por bacilos Gram-negativos multiresistentes: Fatores de risco e detecção de ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 24 de janeiro de 2011.

Prof. Dr. Geraldo Sadoyama Leal – UFG

Prof. Dra. Tatiana Amabile de Campos – INGEB/UFU

Prof. Dra. Rosineide Marques Ribas (orientadora) – ICBIM/UFU

"Não basta ensinar ao homem uma especialidade, porque se tornará assim uma máquina utilizável e não uma personalidade. É necessário que adquira um sentimento, senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto."

Albert Einstein

"Dedico este trabalho com todo meu carinho e amor ao meu marido Rodrigo e minha filha Sarah, meus maiores presentes"

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor e Salvador, Aquele quem devo toda honra e toda glória, ao meu Deus eterno. Aquele que esteve comigo em cada passo, que me guiou e me abençoou com saúde, força, sabedoria e incontáveis alegrias durante esta jornada.

À minha orientadora Profa. Dra. Rosineide Marques Ribas por me acolher no Laboratório de Microbiologia, por me orientar, por seus ensinamentos, pela paciência, pelo seu exemplo de profissional.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho pelo exemplo de pesquisador, pela honra de trabalhar ao seu lado, de ter alguém com tamanho conhecimento, pelo apoio e incentivo.

Aos meus pais, meus primeiros mestres, aqueles que me ajudaram a escrever minha história, que sempre confiaram e apostaram em mim, aos maiores responsáveis por tudo que sou e conquistei até hoje. Antes de se orgulharem de mim, orgulhem-se de vocês mesmos, por serem pais maravilhosos!

A toda a minha família, que sempre me incentivou e acreditou em meu potencial, em especial aos meus irmãos Paulo e Daniel por todo amor verdadeiro e aos meus avós que em memória estão sempre presentes.

Ao meu marido Rodrigo, que esteve comigo em todos os momentos dessa jornada, que com seu amor e carinho me faz ser tão feliz.

A todos os meus amigos do laboratório de Microbiologia, especialmente, Ana Paula, Deivid, Juliana e Daiane pela convivência diária, pelas conversas e conselhos, pelos momentos de descontração e ajuda durante o trabalho.

Agradeço ainda aos demais colegas pela convivência, apoio e respeito: Lizandra, Dayane Otero, Renata, Elias, Cristiane, Karine, Lílian, Mariana, Michel, Luiz Fernando, Marcília, Munick, Jaqueline, Ana Luiza, Júlia, Carol, Nayara, Sabrina, Priscila, Melina, Paola e tantos outros pela convivência, apoio e respeito.

Agradeço também aos professores da Microbiologia Prof. Dr. Geraldo e Prof. Dra Denise, pela ajuda sempre disponível.

Aos técnicos do Laboratório Claudete, Ricardo e Samuel pelo apoio técnico, pela paciência e pelas dicas de muita experiência.

As secretárias da coordenação do PPIPA, Lucélia e Lucileide pela atenção, auxílio e amizade.

A toda equipe de profissionais do Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade federal de Uberlândia, em especial a Viviene, pela grande ajuda e colaboração.

Agradeço aos integrantes da minha banca por aceitarem participar da minha defesa e pelo muito que vão acrescentar ao meu trabalho e colaborar com o meu desenvolvimento.

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma me apoiaram, me incentivaram e contribuíram com a realização deste trabalho.

A CAPES por subsidiar-me com a bolsa de estudo.

Muito Obrigado!

Lista de Abreviaturas e Siglas

AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
β	Beta
\geq	Maior ou igual
$<$	Menor
$>$	Maior
BGN	Bacilo Gram-negativo
BGN-MR	Bacilo Gram-negativo Multiresistente
BGN-não-MR	Bacilo Gram-negativo não Multiresistente
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
μg	Microgramas
μL	Microlitros
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brain and Heart Infusion, Ágar/Caldo infusão de cérebro e coração</i>
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CVC	Cateter Venoso Central
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
ESBL	β -lactamase de Espectro Estendido
<i>et al</i>	E colaboradores
h	Horas
HC-UFU	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
ICBIM	Instituto de Ciências Biomédicas
IC	Intervalo de Confiança
ICS	Infecção de Corrente Sanguínea
mL	Mililitro
mm	Milímetros
M	Molar
MBL	Metallo- β -lactamase
MH	Muller Hinton
2-MPA	Ácido 2-Mercaptopropiônico

NHSN	<i>The National Healthcare Safety Network</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
SPM-1	São Paulo Metalo- β -lactamase
TSB	Tryptic Soy Blood
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VM	Ventilação Mecânica

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3 JUSTIFICATIVA.....	20
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	21
4.1. Hospital.....	21
4.2. Desenho do estudo.....	21
4.3. Vigilância Laboratorial.....	21
4.4. Definições.....	22
4.5. Técnicas microbiológicas.....	22
4.5.1. Processamento das hemoculturas, culturas de ponta de cateter Identificação dos microrganismos.....	22
4.5.2. Armazenamento das bactérias.....	23
4.6. Triagem e detecção fenotípica de β -lactamases.....	23
4.6.1. Triagem dos isolados bacterianos.....	23
4.6.2. Detecção fenotípica de ESBL.....	23
4.6.3. Detecção fenotípica de AmpC.....	23
4.6.4. Detecção fenotípica de Metallo- β -lactamase.....	24
4.7. Análise estatística.....	24
5 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	25
6 RESULTADOS.....	26
7 DISCUSSÃO.....	40
8 CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
APÊNDICE I.....	54
ANEXO I.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Curva de sobrevivência dos pacientes com bacteremias por bacilos Gram-negativos multiresistentes em relação aquelas por bacilos Gram-negativos não-multiresistentes.....	33
Figura 2: Bacilos Gram-negativos produtores de β -lactamases isolados de hemocultura e cultura de ponta de cateter.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das principais beta-lactamases produzidas pelas enterobactérias.....	17
Tabela 2. Características dos pacientes com bacteremia por bacilos Gram-negativos internados durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	27
Tabela 3. Distribuição por clínicas de internação entre os pacientes com bacteremia por bacilos Gram-negativos internados durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	28
Tabela 4. Análise univariada dos fatores de risco associados à bacteremia por bacilos Gram-negativos Multiresistentes durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	29
Tabela 5. Análise multivariada dos fatores de risco associados à bacteremia por bacilos Gram-negativos Multiresistentes durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	30
Tabela 6. Etiologia dos episódios de bacteremias hospitalares e comunitárias e de cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	31
Tabela 7. Frequência de resistência entre isolados de sangue e ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	32
Tabela 8. Enterobactérias produtoras de AmpC- β -lactamases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	35
Tabela 9. Enterobactérias produtoras de β -lactamases de Espectro Estendido e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	36
Tabela 10. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> produtoras de metalo- β -lactamases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	37
Tabela 11. Análise univariada e multivariada dos fatores preditores de morte em pacientes com bacteremia por bacilos Gram-negativos durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.....	38

RESUMO

Nos últimos anos, a grande incidência de bacteremias por microrganismos multiresistentes associada com a emergência e disseminação de β -lactamases, tem-se tornado problema de saúde pública, uma vez que em pacientes infectados por essas cepas existe maior possibilidade de ocorrer uma terapia antimicrobiana inadequada, refletindo diretamente nas taxas de mortalidade. Foi realizada vigilância laboratorial diária na qual foram recuperados isolados de BGN de hemocultura e cultura de ponta de cateter. Um estudo caso-controle foi conduzido para determinar os fatores de risco associados à bacteremias hospitalares por bacilos Gram-negativos multiresistentes e estudo de coorte para identificar os fatores prognósticos associados com mortalidade entre os pacientes com bacteremia, no período de maio de 2009 a fevereiro de 2010 no HC-UFU. Em adição, foi determinado a prevalência dos fenótipos ESBL (vitek2) e AmpC (teste de disco com ácido borônico) entre as enterobactérias, e metalo- β -lactamase em isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (teste de sinergismo com duplo disco). A análise univariada demonstrou que o desenvolvimento de bacteremia por bacilos Gram-negativos multiresistentes (BGN-MR) foi associado com cirurgia prévia, uso > 2 procedimentos invasivos, incluindo ventilação mecânica, sonda vesical, traqueostomia e uso prévio de antimicrobianos, particularmente fluorquinolonas. Cirurgia prévia, traqueostomia e terapia antimicrobiana inadequada foram independentemente associadas a essa multiresistência. A taxa de produção de ESBL foi de 58% para *K. pneumoniae* e 32% para *E. coli*. Entre as enterobactérias, a enzima AmpC foi detectada em 8,6% entre os isolados resistentes a cefoxitina e o fenótipo metalo- β -lactamase em 34% dos isolados de *P. aeruginosa*. A maioria dos microrganismos demonstrou taxas elevadas de resistência aos antimicrobianos, associada com a terapia antimicrobiana inadequada e maiores taxas de mortalidade. Os fatores associados com a mortalidade incluíram, além de infecção por BGN-MR e terapia inadequada, fatores intrínsecos ao paciente como cardiopatia e idade > 60 anos, considerada também fator de risco independente. Observou-se ainda uma prevalência elevada dos fenótipos ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase entre os isolados, associados com maiores taxas de resistência para a maioria dos antimicrobianos.

Palavras-chave: bacilos Gram-negativos, multiresistência, ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase

ABSTRACT

The higher incidence of bacteraemia due to multiresistant microorganisms in recent years, coupled with the emergence and spread of β -lactamases, have become a great public health problem, since in patients infected with these strains is more likely to receive inadequate antimicrobial therapy, directly reflected in mortality rates. We conducted a case-control study in order to identify risk factors associated with bacteraemia due to MDR-GNB isolates and a cohort study to determine the prognostic factors associated with mortality among patients with bloodstream infection diagnosed from May 2009 through February 2010. The production of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and AmpC was determined in isolates of Enterobacteriaceae and metallo- β -lactamase (MBL) among *Pseudomonas aeruginosa* was evaluated among isolates of blood and catheter tip culture. The univariate analysis showed that the development of bacteraemia caused by multiresistant gram-negative bacilli was associated with previous surgery, use > 2 invasive procedures, including mechanical ventilation, urinary catheter, tracheotomy and use of antibiotics, especially fluoroquinolones. Previous surgery, tracheostomy and inadequate therapy were independently associated with the multidrug resistance. The rate of ESBL producing isolates was 58% and 32% for *K. pneumoniae* and *E. coli*, respectively. Among Enterobacteriaceae, the AmpC enzyme was detected in 8.6% of isolates and the MBL phenotype was detected in 34% of the *P. aeruginosa* isolates. The most microorganisms showed high rates of antimicrobial resistance. The resistance was associated with inadequate antimicrobial therapy and higher mortality rates. The risk for death was higher in patients over 60 years old, MDR-GNB bacteraemia, heart disease and inappropriate antimicrobial therapy, but just advanced age was independently associated with death. There was also a high frequency of phenotypes ESBL, AmpC and metallo- β -lactamases among isolates, associated with higher rates of resistance to most antimicrobial agents used in patients.

Keywords: Gram-negative bacilli, multidrug resistance, ESBL, AmpC and metallo- β -lactamase

1 INTRODUÇÃO

Infecções hospitalares constituem grave problema de saúde pública, devido a sua frequência, morbidade, mortalidade e custo do tratamento (FERNANDES et al., 2010). Nos Estados Unidos, pneumonia, infecção do trato urinário e infecção de corrente sanguínea são responsáveis por taxa de 68 a 77% dentre todas as infecções hospitalares. Em estudo de prevalência realizado em 17 países da Europa incluindo 1417 Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) demonstrou que as infecções mais frequentes foram: pneumonia (46,9%), seguida de infecção do trato respiratório inferior (17,8%), infecção do trato urinário (17,6%) e infecção de corrente sanguínea (12,0%) (ERBAY et al., 2003). No Brasil, uma investigação recente em UTI de hospital universitário identificou taxa de infecção hospitalar em 20,3% dos pacientes internados, sendo 37,6% do trato urinário, 25,6% pneumonia, 15,1% bacteremia, 14,1% infecção do sítio cirúrgico e 7,7% outras infecções (OLIVEIRA et al., 2010).

Infecção de Corrente Sanguínea (ICS), particularmente bacteremias e candidemias, está entre as complicações infecciosas mais frequentes e graves decorrente de hospitalização e cuidados médicos (MITT et al., 2009), estando associada a altas taxas de mortalidade e tempo de hospitalização prolongado, especialmente em pacientes críticos (MICEK et al., 2005). Nas últimas décadas, tem sido observado um aumento na incidência das ICS, refletindo, entre outros fatores, a frequente utilização de procedimentos invasivos (NNIS, 2001), particularmente, o Cateter Venoso Central (CVC), o qual é considerado um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento deste tipo de infecção (DIEKEMA et al., 2003).

Do ponto de vista epidemiológico, os cocos Gram-positivos são mais frequentemente isolados em hemoculturas, porém sua relevância clínica é menor em relação aos bacilos Gram-negativos (BGNs) (DIEKEMA et al., 2003). Entre os BGNs, as enterobactérias, em particular *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli*; e *Pseudomonas aeruginosa* são as principais causadoras de ICS nosocomial. Em estudo realizado por Wisplinghff e colaboradores (2009) em 49 hospitais dos Estados Unidos durante um período de 7 anos detectou 24,179 casos de ICS hospitalar. Embora a *Pseudomonas aeruginosa* tenha sido o sétimo isolado mais frequente, este microrganismo liderou as taxas de mortalidade bruta entre o total de pacientes (38,7%), pacientes de UTI (47,9%) e pacientes de outras enfermarias (27,6%). A taxa de mortalidade para pacientes com bacteremia por *Klebsiella* spp. e *E.coli* também foi alta em pacientes de UTI (acima de 30%).

Infecções causadas por bacilos Gram-negativos multiresistentes (BGN-MR) tornaram-se um problema crescente de saúde pública (RICE et al., 2006); e bacteremia por isolados

multirresistentes podem contribuir para piores prognósticos, em termos de aumento de mortalidade, além de custos mais elevados, em comparação com aquelas por microrganismos sensíveis. (CROSGROVE et al., 2006). Um relatório da “*Infectious Disease Society of America*” cita especificamente duas importantes categorias de BGN-MR: *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. resistentes a cefalosporinas de amplo espectro; e *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. resistentes a carbapenêmicos (TALBOT et al., 2006).

Estudos demonstram que entre os fatores de risco para colonização e infecção por BGN-MR destacam-se: idade superior a 65 anos, exposição a antibióticos nos últimos 90 dias, internação hospitalar por pelo menos dois dias nos últimos 90 dias, residência em casas de repouso ou outra instituição assistencial, terapia imunossupressora, uso de cateteres (venoso e urinário), ventilação mecânica, alimentação por sonda e hemodiálise a longo prazo (FRIEDMANN et al, 2009;. NORDMANN et al, 2009). Além disso, vários estudos exploram os fatores preditores de mortalidade para pacientes com bacteremia por BGN, como: idade avançada, co-morbidades múltiplas, gravidade de doenças de base, tratamento inicial inadequado com antimicrobianos e infecção por agentes resistentes a múltiplas drogas (MICEK et al, 2005; ARNONI et al, 2006; AHMED et al, 2009;. AL-HASAN et al, 2010).

A resistência aos antimicrobianos entre as bactérias é justificada principalmente pela transmissão horizontal dos genes de resistência em sequências de inserção, integrons, transposons e plasmídeos (SNYDER; CHAMPNESS, 2007). Em relação aos BGNs, na América do Norte as frequências de isolados de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter* spp. resistentes a cefalosporinas de terceira geração em pacientes críticos foi de 1,3%, 2,6% e 9,8%, respectivamente (STREIT et al., 2004). Na Europa foram relacionadas taxas de resistência a cefalosporinas de terceira geração de 36,8% para *Enterobacter* spp., 2,4% para *E.coli* e 12,8% para *Klebsiella* spp. (HANBERGER et al., 2001). No Brasil estudos demonstram resistência a estas cefalosporinas em 61,3% dos isolados de *Enterobacter* spp. (SADER et al., 2004) e em 37,7% de *Klebsiella pneumoniae* (MENDES et al., 2005).

Os microrganismos da família Enterobacteriaceae produzem β -lactamases de amplo espectro (ESBL) e β -lactamases codificadas pelo gene *ampC*. As ESBLs são plasmidiais e inativam a maioria das penicilinas e cefalosporinas, com exceção das cefamicinas e monobactâmicos, e são produzidas mais frequentemente por *Klebsiella pneumoniae*. Segundo dados de programas internacionais de vigilância no Brasil (SENTRY e MYSTIC), a prevalência de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL é de aproximadamente 50,0%. As AmpCs podem ser cromossomais ou plasmidiais e são expressas principalmente por *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *S.*

marcescens e *Providencia* spp. (GNIADKOWSKI, 2001). Em contraste com ESBL, inibidores de β -lactamases, como ácido clavulânico, usualmente não tem efeito nas AmpCs (NATHISUWAN et al., 2001).

Vários esquemas foram propostos para classificação das β -lactamases, porém as duas mais utilizadas são as de Ambler (AMBLER, 1980) e de Bush, Jacob e Medeiros (BUSH; JACOB; MEDEIROS, 1995). Ambler utilizou a homologia na sequência de nucleotídeos para agrupá-las em quatro classes (A, B, C e D). Bush, Jacob e Medeiros também dividiram as β -lactamases em quatro grupos (1, 2, 3 e 4), com subgrupos relacionados (Tabela 1).

A resistência aos antimicrobianos varia de acordo com a localização geográfica e é diretamente proporcional ao uso empírico de antibióticos (TANEJA et al., 2006) e as bactérias produtoras de ESBL são, entre as Gram-negativas, as maiores responsáveis pela ocorrência e disseminação mundial de genes de resistência em ambientes hospitalares. Um estudo sobre a distribuição do fenótipo ESBL demonstrou que esse mecanismo de resistência parece ser mais frequente na América Latina (45,0%) e na Região Ocidental do Pacífico (25,5%) enquanto nos Estados Unidos e Canadá os isolados do fenótipo ESBL possuem menor frequência (8,0 e 5,0%, respectivamente) (WINOKUR et al., 2001). Segundo Dias e colaboradores (2008), a prevalência de enterobactérias produtoras de ESBL nos Estados Unidos é usualmente baixa, com frequência menor que 9% para *K. pneumoniae* e 4% para *E. coli*, e na Europa, essa prevalência é em torno de 15 a 20%. De modo semelhante, a produção de AmpC mediada por plasmídeos relatada em estudo realizado em 25 estados do país demonstrou taxa de 7 a 8% para *Klebsiella* spp. e de 4% para *E. coli*. (MULVEY et al., 2004). Entretanto, a verdadeira taxa de ocorrência de AmpCs plasmidiais em membros da família Enterobacteriaceae permanece pouco conhecida.

Em estudo realizado em Delhi, na Índia, foi observado altas taxas de produção de AmpC entre isolados de *K. pneumoniae* (33,3%), *E. coli* (14,3%) e *P. mirabilis* (33,3%) (DIAS et al., 2008). Gazouli e colaboradores (1998), analisando 2133 isolados de *E. coli* obtidos de 10 hospitais na Grécia, observou a produção de AmpC em 55 isolados (2,6%). No Brasil, dados de um hospital universitário terciário revelaram que 5 (41,7%) de 12 *E. coli* eram resistentes a cefoxitina produziam simultaneamente AmpC e ESBL. Neste mesmo estudo, 94% (33/35) dos isolados produtores de ESBL demonstraram resistência a cefotaxima e a taxa de resistência a ceftazidima e aztreonam foi de 77% e 74%, respectivamente (DIAS et al., 2008).

Tabela 1 - Classificação das principais beta-lactamases produzidas pelas enterobactérias

Grupo Funcional ¹	Sub grupos ¹	Classe Molecular ²	Enzimas	Substrato	Inibição por ácido clavulânico ³	Enterobactérias	Localização ⁴
1	? ₅	C	Beta-lactamases AmpC	Todos os beta-lactâmicos, exceto cefalosporinas de 4ª geração e carbapenemas	R	Grupo CESP ⁵ , <i>M. morgani</i> , <i>H. alvei</i> , <i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>K. pneumoniae</i>	Cr ou P
2	2b	A	Beta-lactamases de espectro restrito (TEM, TEM-1 e SHV-1)	Penicilinas e cefalosporinas	S	<i>Klebsiella</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>S. paratyphi</i>	Cr ou P
2	2be	A	Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL)	Penicilinas, cefalosporinas, oxiamino-cefalosporinas e aztreonam	S	<i>Klebsiella</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> spp. e outras	P
2	2br	A	Beta-lactamases IRT	Penicilinas, cefalosporinas	R	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>C. freundii</i>	P
2	2d	D	Beta-lactamases (OXA)	Penicilinas, cefalosporinas, oxiamino-cefalosporinas e carbapenemas	S ou R	<i>E. coli</i> e outras	P
2	2e	A	Cefalosporinases	Cefalosporinas e aztreonam	S	<i>Proteus</i> spp.	Cr
2	2f	A	Carbapenemases (Serina-beta-lactamase)	Penicilinas, cefalosporinas, oxiamino-cefalosporinas, cefamicinas, aztreonam e carbapenemas	S	<i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>S. marcescens</i>	P
3	3a, 3b, 3c	B	Carbapenemase (Metallo-beta-lactamase)	Penicilinas, cefalosporinas, oxiamino-cefalosporinas, cefamicinas e carbapenemas	R	<i>K. pneumoniae</i> , <i>S. marcescens</i>	P
4		? ⁵	Enzimas que não se enquadram nos grupamentos citados		-	-	-

¹Segundo BUSH; JACOB; MEDEIROS, 1995; ²Segundo AMBLER, 1980; ³S: sensível; R: resistente; ⁴Cr: cromossômico; P: plasmideal; ⁵Não determinado; Grupo CESP: *C. freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. e *Providencia* spp.

Fonte: Baseado em AMBLER, 1980; BABIC; HUJER; BONOMO, 2006; BUSH, 2001; BUSH; JACOB; MEDEIROS, 1995; JACOB, 2006; LIVERMORE, 1995; LIVERMORE; WOODFORD, 2006; PATERSON, 2006; SHAH et al., 2004.

Pseudomonas aeruginosa é outro patógeno hospitalar importante em todo mundo e as infecções por esse microrganismo ocorrem principalmente em pacientes imunocomprometidos e sob ventilação mecânica, internados em UTI, com frequências altas

em todas as regiões geográficas, destacando-se por ordem decrescente América Latina e regiões da Ásia-Pacífico (11,4%), Europa (9,3%), EUA (8,7%) e Canadá (8,6%) (GALES, et al., 2001; RUIZ et al., 2004). No geral, as infecções hospitalares por este microrganismo correspondem a aproximadamente 10% das infecções, com participação importante nas infecções de trato urinário (12%), corrente sanguínea (10%) e de sítio cirúrgico (8%), além de ser o principal agente de pneumonia em hospitais brasileiros (45,7%) onde as infecções por amostras de patógenos multiresistentes vem aumentando, principalmente em unidades críticas (SADER et al., 2001; POOLLACK, 2003).

Pseudomonas aeruginosa apresenta vários mecanismos de resistência intrínsecos, incluindo: impermeabilidade da membrana externa, sistema de bombas de efluxo (MexAB-OprM) e produção de β -lactamases do tipo AmpC cromossomal (FLAHERTY, STOSOR, 2004), além de mecanismos de resistência adquiridos, via elementos genéticos móveis como plasmídeos, transposons e integrons, destacando-se a produção de Metallo- β -lactamases (MBLs) (JACOBY-MUNHOZ-PRICE, 2005).

Nos últimos anos, a produção de MBLs por *P. aeruginosa*, com capacidade de hidrolisar todos os antimicrobianos do grupo β -lactâmico, incluindo os carbapenêmicos, assumiu grande importância epidemiológica em relação a este patógeno (MENDES et al., 2006). No Brasil, a identificação de MBL em *P. aeruginosa* ocorreu pela primeira vez em 2001, com a presença da subclasse SPM-1 em amostra de urina em hospital de São Paulo. Desde então, amostras produtoras dessa enzima têm sido isoladas em diversos centros no Brasil incluindo São Paulo, Brasília, Salvador, Fortaleza, Santo André, Londrina, Curitiba e Maringá (GALES et al., 2003; CIPRIANO et al., 2007). Um estudo realizado em dois hospitais de Uberlândia, envolvendo um surto por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem em 68 pacientes, 66,0% das amostras foram produtoras de MBL (CEZARIO et al., 2009).

Em função da importância das Infecções Hospitalares no Brasil, além da falta de recursos humanos e financeiros nos hospitais, a vigilância epidemiológica torna-se uma ferramenta importante e necessária para melhor controle e prevenção de infecções graves, como as ICS, particularmente por BGN-MR.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Determinar os fatores de risco associados à bacteremias hospitalares por bacilos Gram-negativos multiresistentes e caracterizar a frequência de fenótipos ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase entre os isolados de sangue e ponta de cateter.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a epidemiologia das infecções de corrente sanguínea por bacilos Gram-negativos no Hospital de clínicas da UFU.
- Determinar o impacto da multiresistência na taxa de mortalidade e os fatores prognósticos entre os pacientes com bacteremias por bacilos Gram-negativos.
- Determinar os agentes etiológicos de bacteremias, perfil de resistência e multiresistência dos microrganismos isolados de hemocultura e cultura de ponta de cateter.
- Determinar a prevalência de ESBL e AmpC entre os membros da família Enterobacteriaceae obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter e a produção de Metallo- β -lactamase em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a ceftazidima e/ou carbapenêmicos.

3 JUSTIFICATIVA

A elaboração deste trabalho levou em consideração a importância que as infecções hospitalares apresentam dentro do contexto de morbi-mortalidade e custos em pacientes internados em hospital terciário, assim como, a pouca disponibilidade de informações microbiológicas e, sobretudo, epidemiológicas no país e a necessidade de implementação de políticas de controle de antibióticos e de infecções adquiridas nesses hospitais. Entre os pontos que justificam essa investigação podem ser destacados os seguintes:

- Estudos relativos à epidemiologia de infecções hospitalares são difíceis de serem realizados e pouco existentes no país, sendo recomendados pelas agências de fomento e pesquisa.
- Devido à rápida disseminação dos genes de resistência e ao impacto negativo na terapêutica empírica antimicrobiana relacionada, é fundamental um melhor esclarecimento da epidemiologia das infecções por microrganismos resistentes e multiresistentes, particularmente nos hospitais de grande porte e de países em desenvolvimento.
- Avaliar a participação de fenótipos como ESBL, AmpC e Metallo- β -lactamase entre os bacilos Gram-Negativos é de grande importância, devido ao aumento de sua frequência no mundo todo, sendo considerados hoje um dos maiores problemas terapêuticos em muitas instituições.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1. Hospital

O estudo foi realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), em conjunto com profissionais do laboratório de microbiologia do hospital e laboratório de microbiologia da Universidade. O HC-UFU, situado na região do Triângulo Mineiro, caracteriza-se como instituição de ensino, com 530 leitos, que oferece nível terciário de atendimento.

4.2. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo observacional prospectivo de pacientes com bacteremia por BGN no período de maio/2009 a fevereiro/2010 através de sistema de vigilância laboratorial. Todos pacientes com bacteremia hospitalar, considerando o primeiro episódio de infecção, foram incluídos no estudo. Para análise dos fatores de risco associados com bacteremia por BGN-MR foi realizado um estudo caso (pacientes com bacteremias por BGN-MR) *versus* controle (pacientes com bacteremias por BGN-não-MR). Os fatores associados com mortalidade nos pacientes com bacteremia por BGN foram avaliados através de um estudo de coorte. Os dados demográficos, clínicos e epidemiológicos dos pacientes foram obtidos através de revisão dos prontuários médicos utilizando uma ficha individual, seguindo os modelos do NHSN (do inglês, *The National Healthcare Safety Network*) (APÊNDICE I). em adição, foi realizado um estudo de prevalência dos fenótipos ESBL, AmpC e metalo-B-lactamase, no qual foram incluídos todos os isolados de hemocultura e culturas de ponta de cateter.

4.3. Vigilância Laboratorial

Os microrganismos isolados do sangue de pacientes com bacteremia e os isolados de ponta de cateter foram obtidos através de vigilância laboratorial diária realizado no Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), e foram subcultivados e estocados para posterior detecção fenotípica de ESBL, AmpC e metalo- β -lactamase.

4.4. Definições

As definições de infecções hospitalares foram aquelas recomendadas pelo “*Centers for Disease Control*” (GAYNES; HORAN, 1995):

Infecção Hospitalar: é aquela que não está presente ou em incubação no momento da admissão do paciente no hospital e que se manifeste após 48 horas de internação ou após alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares.

Bacteremia: presença de bactérias na corrente sanguínea, comprovada laboratorialmente.

Terapia antibiótica inapropriada: quando o microrganismo isolado no sangue apresentar resistência *in vitro* ao antibiótico utilizado no tratamento do paciente e/ou ausência de terapia durante 24 h após o diagnóstico microbiológico de infecção.

Multiresistência: resistência ≥ 3 classes diferentes de antimicrobianos.

Mortalidade total (hospitalar): relação entre o número de óbitos de pacientes com bacteremia durante a internação hospitalar, independentemente da causa, considerando até 30 dias após o diagnóstico microbiológico da infecção.

O uso prévio de antimicrobianos foi considerado até dois meses antes do diagnóstico da bacteremia.

4.5. Técnicas microbiológicas

4.5.1. Processamento das hemoculturas, culturas de ponta de cateter e Identificação dos microrganismos

As hemoculturas foram processadas através do sistema automatizado *BacT/ALERT*® e as pontas de cateteres através do método sem-quantitativo de Maki e colaboradores, 1977, pelo laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas. A identificação das amostras e os testes

de susceptibilidade aos antimicrobianos foram realizados por automação utilizando o sistema Vitek2®.

4.5.2. Armazenamento das bactérias

Os isolados foram transferidos para caldo BHI com 10-15% de glicerol e mantidas a -20 °C. Para reativação gradativa do metabolismo bacteriano, confirmação da pureza e viabilidade das colônias, alíquotas das culturas estocadas foram semeadas em ágar MacConkey antes de serem submetidas aos experimentos.

4.6. Triagem e detecção fenotípica de β -lactamases

4.6.1. Triagem dos isolados bacterianos

Para a triagem inicial das amostras possivelmente produtoras de ESBL foi considerando uma diminuição da sensibilidade a cefalosporinas de terceira geração. A triagem para produção de AmpC foi realizada por uma diminuição na sensibilidade a cefoxitina; e diminuição na sensibilidade a ceftazidima e/ou carbapenêmicos foi utilizada para triar os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* possivelmente produtores de metalo- β -lactamase.

4.6.2. Detecção fenotípica de ESBL

A confirmação da produção de ESBL entre os isolados de *K. pneumoniae* e *E. coli* foi realizado através do sistema automatizado Vitek2®, utilizando o ácido clavulânico como inibidor da enzima.

4.6.3. Detecção fenotípica de AmpC (TENOVER et al., 2009).

Para detecção da enzima AmpC as amostras foram submetidas ao teste de disco com ácido borônico como inibidor. As amostras foram subcultivadas em caldo TSB, a suspensão incubada a 37°C até atingir a turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland e em seguida semeadas em placas de *Petri* contendo ágar Muller Hinton de modo a obter um crescimento confluyente. Como inibidor foi utilizado solução de ácido borônico (120mg) dissolvido em 6 mL de água. Foram acrescentados sobre o ágar discos de cefoxitina (30µg) e cefotetam

(30µg) sem o inibidor, e os mesmos discos acrescidos de 30 µL da solução de ácido borônico. Depois de incubados por 24 horas a 37°C, foi caracterizado como teste positivo a presença de um aumento de 5 mm ou mais do halo de inibição entre qualquer um dos discos contendo o inibidor em relação aos discos sem o inibidor. Como cepas padrão foram utilizadas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (controle positivo) e *E.coli* ATCC 25922 (controle negativo).

4.6.4. Detecção fenotípica de Metallo-β-lactamase (ARAKAWA, 2000).

As amostras de *Pseudomonas aeruginosa* com resistência a ceftazidima e/ou carbapenêmicos foram submetidas ao teste de sinergismo com duplo disco; como inibidores foram utilizadas soluções de ácido 2-mercaptopropiônico (2-MPA) e ácido-etil-diamino-tetracético (EDTA); e como indicadores discos de imipenem (10µg) e ceftazidima (30µg). As amostras foram subcultivadas em caldo TSB e a suspensão incubada a 37°C até atingir a turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland e em seguida semeadas em placas de *Petri* contendo ágar Muller Hinton de modo a obter um crescimento confluyente. Foram acrescidos discos de ceftazidima (30µg) e imipenem (10µg) distantes 25 mm de um disco de papel-filtro esterilizado contendo 3 µL de 2-MPA e a distância de 10 mm daqueles contendo 8 µL de EDTA 5M. Após incubação a 37°C, por 24 horas a determinação de um aumento na zona de inibição ou a presença de um halo de inibição em torno do disco de ceftazidima e/ou imipenem caracterizou o teste como positivo para a presença de metalo-β-Lactamase. Como cepas controles foram utilizadas *P. aeruginosa* ATCC 27853 (controle negativo) e *P. aeruginosa* P-319 (controle-positivo).

4.7. Análise estatística

A análise estatística dos fatores de risco foi realizada utilizando-se o teste do X^2 para comparação entre os valores quando o n foi maior que 5 e o teste exato de Fisher quando o n foi menor ou igual a cinco. Os fatores de risco foram comparados individualmente contra uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas de contingência do tipo dois por dois (2 x 2). Para evitar o enlear, que muitas vezes surge como uma consequência da própria análise univariada, este foi reajustado através da estratificação que é a estimação de medidas de associação (*Odds Ratio*) para cada uma das categorias da variável. As variáveis que demonstraram significância estatística foram submetidas à análise multivariada através de

modelo de regressão logística. O teste t de *Student* foi utilizado para comparar médias. A significância estatística foi definida por um valor de *P* menor que 0,05. A análise das variáveis foi realizada utilizando-se os programas estatísticos GraphPad Prism 4 e o EpiInfo Software versão 2000 (CDC, Atlanta). A diferença de sobrevivência entre casos e controles foi comparada utilizando a curva de Kaplan-Meier utilizando o teste Log Rank.

5 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia sob o número de protocolo 550/09 (ANEXO I).

6 RESULTADOS

Durante maio/2009 a fevereiro/2010 foi realizado vigilância da incidência de bacteremias por bacilos Gram-negativos fermentadores e não fermentadores de glicose no laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas da UFU. Neste período, 131 pacientes foram incluídos no estudo, considerando o primeiro isolado de sangue. As características demográficas, clínicas e epidemiológicas dos pacientes incluídos no estudo estão na tabela 2.

Do total de pacientes, a maioria (58,8%) foi do gênero masculino com idade média de 47 anos (0 – 93 anos). Dentre as causas de internação, 95 pacientes (72,5%) foram clínicos, seguido de 25,9% cirúrgicos. As principais co-morbidades observadas incluíram: cardiopatia (36,6%), nefropatia (24,4%) e diabetes mellitus (21,4%). Em relação ao uso de procedimentos invasivos observou-se maior frequência no uso de cateter venoso central (77,1%), sonda vesical (55,0%) e ventilação mecânica (43,5%). A média do tempo de internação entre os pacientes foi de 55,8 dias (1- 193 dias) com taxa de mortalidade total de 31,3%. A maioria dos pacientes fez uso prévio de antibióticos (59,5%) com destaque para cefalosporinas de 3^a e 4^a geração (45,0%) e carbapenêmicos (23,0%).

Tabela 2. Características dos pacientes com bacteremia por bacilos Gram-negativos internados durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Características	Pacientes N= 131 (%)
Idade, anos - média (variação)	47,2 (0 - 93)
Gênero masculino	77 (58,8)
Tempo hospitalização, dias – média (variação)	55,8 (1- 193)
Causa Internação	
Clínico	95 (72,5)
Trauma	17 (13,0%)
Cirúrgico	34 (25,9)
Presença UTI¹	46 (35,1)
Cirurgia prévia	41 (31,3)
Co-morbidades	
Diabetes Mellitus	28 (21,4)
Cardiopatía	48 (36,6)
Nefropatia	32 (24,4)
Neoplasia	18 (13,7)
Doença vascular	13 (9,9)
AIDS ²	8 (6,1)
DPOC ³	5 (3,8)
Procedimentos invasivos	
Uso > 2	71 (54,2)
Cateter Venoso Central	101 (77,1)
Dreno	19 (14,5)
Ventilação mecânica	57 (43,5)
Cateter urinário	72 (55,0)
Traqueostomia	35 (26,7)
Uso prévio de antibiótico	78 (59,5)
Carbapenêmicos	30 (22,9)
Cefalosporinas 3 ^a /4 ^a	59 (45,0)
Fluorquinolonas	19 (14,5)
Aminoglicosídeos	5 (3,8)
Terapia Inapropriada	53 (40,5)
Mortalidade total	41 (31,3)

¹ Unidade de Terapia Intensiva; ² do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*; ³ Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.

Dos 131 pacientes incluídos no estudo, 44 tiveram bacteremia por BGN-MR (grupo caso) e 87 por BGN-não-MR (controles). A maioria dos pacientes com bacteremia, sendo por BGN multiresistente ou não, estava internada em unidades de clínica cirúrgica (28,2%), seguido de clínica médica (24,4%) e UTI (22,1%), com pouca variação entre as unidades quando foi considerada a presença de BGN-MR e BGN-não-MR (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição por clínicas de internação entre os pacientes com bacteremia por bacilos Gram-negativos internados durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Clínicas	Bacteremia		Total N=131 (%)
	BGN-MR ¹ N=44 (%)	BGN-não-MR ² N=87 (%)	
Clínica Médica	9 (20,5)	23(26,4)	32 (24,4)
Cirúrgica	15 (34,1)	22 (25,3)	37 (28,2)
UTI ³	10 (22,7)	19 (21,8)	29 (22,1)
Pronto Socorro	4 (9,1)	4 (4,6)	8 (6,1)
Moléstia Infecciosa	6 (13,6)	5 (5,7)	11 (8,4)
Pediatria/Berçário	1 (2,3)	14 (16,1)	15 (11,5)

¹Bacilo Gram-negativo Multiresistente; ²Bacilo Gram-negativo não Multiresistente ³ Unidade de Terapia Intensiva adultos, neonatal e pediátrica.

Para análise dos fatores de risco, os pacientes do grupo caso (bacteremia por BGN-MR) foram comparados com os pacientes do grupo controle (bacteremia por BGN-não-MR). A análise univariada demonstrou que os fatores associados com bacteremia por BGN-MR foram: cirurgia prévia ($P = 0,007$); uso de mais de dois procedimentos invasivos ($P = 0,00007$), incluindo ventilação mecânica ($P = 0,01$), sonda vesical ($P = 0,006$) e traqueostomia ($P = 0,01$); e uso prévio de antibióticos ($P = 0,0004$), em particular fluorquinolonas ($P = 0,03$). Além disso, terapia inapropriada foi significativamente maior para os pacientes do grupo caso (63,6%; $P = 0,0002$) (Tabela 4). A presença de cirurgia prévia e traqueostomia foram fatores independentes associados ao desenvolvimento de bacteremia por BGN-MR (Tabela 5).

Tabela 4. Análise univariada dos fatores de risco associados à bacteremia por bacilos Gram-negativos Multiresistentes durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Fatores de Risco	BGN-MR¹	BGN-não-MR²	P	OR³ (IC-95%)⁴
	N=44 (%)	N= 87 (%)		
Idade, anos - média (variação)	55 (0-91)	42 (0-83)	0,36	NA ⁸
Gênero masculino	27 (61,4)	50 (57,5)	0,06	1,18 (0,53-2,64)
T. hospitalização prévia, dias média (variação)	21,3	29,1	0,08	NA ⁸
Presença UTI⁵	15 (34,1)	31 (35,6)	0,98	0,93 (0,41-2,14)
Cirurgia prévia	21 (47,7)	20 (23,0)	0,007*	3,06 (1,32-7,15)
Comorbidades				
Diabetes Mellitus	10 (22,7)	18 (20,7)	0,96	1,13 (0,43-2,93)
Cardiopatia	17 (38,6)	31 (35,6)	0,88	1,14 (0,50-2,57)
Nefropatia	9 (20,5)	23 (26,4)	0,59	0,52 (0,27-1,85)
Neoplasia	4 (9,1)	14 (16,1)	0,40	0,52 (0,13-1,86)
Vascular	6 (13,6)	7 (8,0)	0,35	1,80 (0,49-6,53)
AIDS ⁶	5 (11,4)	3 (3,4)	0,11	3,59 (0,70-20,16)
DPOC ⁷	2 (4,5)	3 (3,4)	1,00	1,33 (0,15-10,34)
Procedimentos invasivos				
Uso > 2	35 (79,5)	36 (41,4)	0,00007*	5,51 (2,20-14,12)
Cateter Venoso Central	37 (84,1)	64 (73,6)	0,25	1,90 (0,69-5,42)
Dreno	9 (20,5)	10 (11,5)	0,26	1,98 (0,67-5,88)
Ventilação mecânica	26 (59,1)	31 (35,6)	0,01*	2,61 (1,16-5,89)
Sonda vesical	32 (72,7)	40 (46,0)	0,006*	3,13 (1,34-7,44)
Traqueostomia	18 (40,9)	17 (19,5)	0,01*	2,85 (1,19-6,87)
Uso prévio de antibiótico				
Carbapenêmicos	13 (29,5)	17 (19,5)	0,28	1,73 (0,69-4,32)
Cefalosporinas 3 ^a /4 ^a	24 (54,5)	35 (40,2)	0,17	1,78 (0,81-3,96)
Fluorquinolonas	11 (25,0)	8 (9,2)	0,03*	3,29 (1,10-10,00)
Aminoglicosídeos	-	5 (5,7)	0,16	0,00 (0,00-2,29)
Terapia Inapropriada	28 (63,6)	25 (28,7)	0,0002*	4,34 (1,88-10,12)

¹ Bacilo Gram-negativo Multiresistente; ² Bacilo Gram-negativo não Multiresistente; ³ Odds ratio; ⁴ Intervalo de confiança; ⁵ Unidade de Terapia Intensiva; ⁶ do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*; ⁷ Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica; ⁸ Não aplicável; *P≤0,05

Tabela 5. Análise multivariada dos fatores de risco associados à bacteremia por bacilos Gram-negativos Multiresistentes durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Fatores de Risco	P	OR¹	IC² – 95%
Cirurgia prévia	0,006*	4,78	1,56-14,68
Use > 2 Procedimentos Invasivos	0,10	3,24	0,78-13,42
Ventilação mecânica	0,23	0,44	0,12-1,68
Cateter Urinário	0,49	1,46	0,49-4,34
Traqueostomia	0,04*	3,47	1,01-12,00
Uso prévio Antibiótico	0,23	2,00	0,63-6,36
Fluorquinolona	0,33	1,89	0,52-6,88
Terapia Inadequada	0,0007*	5,48	2,05-14,68

¹Odds ratio; ² Intervalo de confiança ³ Unidade de Terapia Intensiva; *P≤0,05

A etiologia dos episódios de bacteremias, hospitalares e comunitárias, e cultura de ponta de cateter por BGN está na tabela 6. Os principais agentes etiológicos das bacteremias hospitalares foram os microrganismos da família Enterobacteriaceae (62,3%), com destaque para *Klebsiella pneumoniae* (34,9%). Entre os não fermentadores (37,7%) houve uma proporção semelhante de *Pseudomonas aeruginosa* (47,0%) e *Acinetobacter baumannii* (36,4%). Não houve recuperação de não fermentadores entre as bacteremias comunitárias, observando-se maior frequência entre os isolados de *Escherichia coli* (75,0%). Entre os microrganismos isolados de ponta de cateter predominaram BGN não fermentadores, com *P. aeruginosa* como principal microrganismo isolado (55,2%), seguido de enterobactérias, principalmente *K. pneumoniae* e *S. marcescens* (39%, ambos).

Tabela 6. Etiologia dos episódios de bacteremias hospitalares e comunitárias e de cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Microrganismo	Hemocultura		Ponta cateter N= 52 (%)
	Hospitalar	Comunitária	
	N= 175 (%)	N= 8 (%)	
Não fermentador	66 (37,7)	-	29 (55,8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31 (47,0)	-	16 (55,2)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	24 (36,4)	-	11 (37,9)
Outros ¹	11 (16,7)	-	2 (6,9)
Enterobacteriaceae	109 (62,3)	8 (100,0)	23 (44,2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	38 (34,9)	2 (25,0)	9 (39,1)
<i>Escherichia coli</i>	21 (19,3)	6 (75,0)	1 (4,3)
<i>Serratia marcescens</i>	19 (17,4)	-	9 (39,1)
<i>Enterobacter</i> spp.	24 (22,0)	-	3 (13,0)
<i>Citrobacter</i> spp.	3 (2,8)	-	1 (4,3)
Outros ²	4 (3,7)	-	-

¹ *Stenotrofomonas maltophilia* (N=4); *Burkholderia cepacea* (N=3); *Acinetobacter haemolyticus* (N=1); *Achromobacter xylosoxidans* (N=1); *Achromobacter denitrificans* (N=2); *Pseudomonas putida* (N=2); ² *Proteus mirabilis* (N=2), *Morganella morganii* (N=1); *Klebsiella oxytoca* (N=1)

A tabela 7 demonstra a frequência de resistência entre isolados recuperados de sangue e ponta de cateter multiresistentes e não-multiresistentes. Do total de BGN, predominaram as enterobactérias (59,6%) com *Klebsiella pneumoniae* (35,0%) sendo o microrganismo mais frequente. A taxa de isolados não-fermentadores foi de 40,4%, com destaque para *Pseudomonas aeruginosa* (49,5%). Entre os isolados multiresistentes a maioria foi não fermentadores (61,4%), principalmente *Acinetobacter baumannii* (54,9%) e *P. aeruginosa* (41,2%). A frequência dos fenótipos de resistência relevantes como *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos, e *K. pneumoniae* e *E. coli* resistentes a cefalosporinas de 3ª geração foi maior que 60,0% entre o grupo multiresistente.

Tabela 7. Frequência de resistência entre isolados de sangue e ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Microorganismo	Sangue e ponta de cateter		
	Total	BGN-MR ¹	BGN-não-MR
	N=235 (%)	N=83 (%)	N= 152 (%)
Não fermentadores	95 (40,4)	51 (61,4)	44 (28,9)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47 (49,5)	21 (41,2)	26 (59,1)
Resistente carbapenêmicos	28 (60,0)	21 (100,0)	7 (26,9)
Resistente fluorquinolonas	20 (52,6)	19 (90,5)	1 (3,8)
Resistente cefalosporina 3 ^a /4 ^a	24 (51,1)	21 (100,0)	3 (11,5)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	35 (36,8)	28 (54,9)	7 (15,9)
Resistente carbapenêmicos	17 (48,6)	17 (60,7)	-
Outros ²	13 (13,7)	2 (3,9)	11 (25,0)
Enterobacteriaceae	140 (59,6)	32 (38,6)	108 (71,1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	49 (35,0)	19 (59,3)	30 (27,8)
Resistente cefalosporina 3 ^a /4 ^a	31 (63,3)	18 (94,7)	13 (43,3)
<i>Escherichia coli</i>	28 (20,0)	5 (15,6)	23 (21,3)
Resistente fluorquinolonas	6 (21,4)	5 (100,0)	1 (4,3)
Resistente cefalosporina 3 ^a /4 ^a	11 (39,3)	5 (100,0)	6 (26,1)
<i>Serratia marcescens</i>	28 (20,0)	1 (3,1)	27 (19,4)
Resistente cefalosporina 3 ^a /4 ^a	7 (25,0)	1 (100,0)	6 (22,2)
<i>Enterobacter</i> spp.	27 (19,3)	6 (18,7)	21 (19,4)
Resistente cefalosporina 3 ^a /4 ^a	13 (48,1)	6 (100,0)	7 (33,3)
<i>Citrobacter</i> spp.	4 (2,9)	-	4 (3,7)
Resistente cefalosporina 3 ^a /4 ^a	2 (50,0)	-	2 (50,0)
Outros ³	4 (2,9)	1 (3,1)	3 (2,8)

¹ Bacilo Gram-negativo Multiresistente; ² Bacilo Gram-negativo não Multiresistente; ³ *Stenotrofomonas maltophilia* (N=4); *Burkodelia cepacea* (N=3); *Acinetobacter haemolyticus* (N=1); *Achromobacter xylosoxidans* (N=1); *Achromobacter denitrificans* (N=2); *Pseudomonas putida* (N=2); ³ *Proteus mirabilis* (N=2), *Morganella morganii* (N=1); *Klebsiella oxytoca* (N=1)

A curva de sobrevida (Kaplan-Meier) demonstrou que os pacientes com bacteremia por BGN-MR tiveram menor probabilidade de sobrevivência em relação ao grupo não-MR ($P = 0,005$) (Figura 1). A taxa de mortalidade hospitalar foi significativamente maior para o grupo caso (45,5%; $P = 0,0006$).

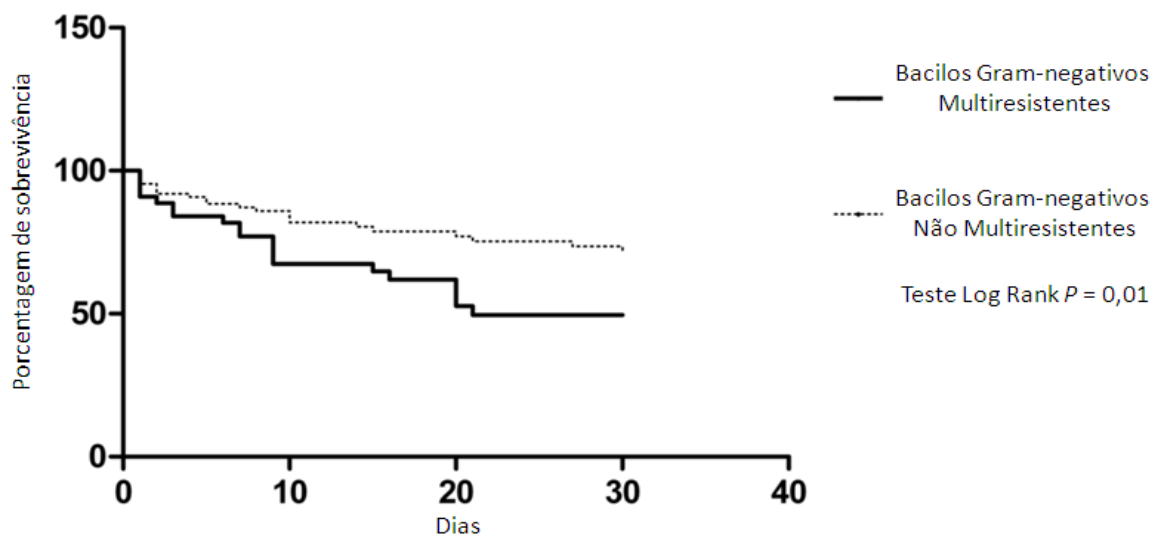


Figura 1. Curva de sobrevivência dos pacientes com bacteremias por bacilo Gram-negativo multiresistente em relação aquelas por bacilo Gram-negativo não-multiresistente.

A taxa de isolados produtores de ESBL entre *K. pneumoniae* e *E. coli* foi de 58% e 32%, respectivamente. A produção de MBL foi detectada em 34% dos isolados de *P. aeruginosa* (Figura 2). Do total de enterobactérias recuperadas (N=132), *K. pneumoniae*, *E. coli* e *Enterobacter* spp. representam um total de 104 (74,3%), com uma taxa de produção de AmpC em 8,6% dos isolados.

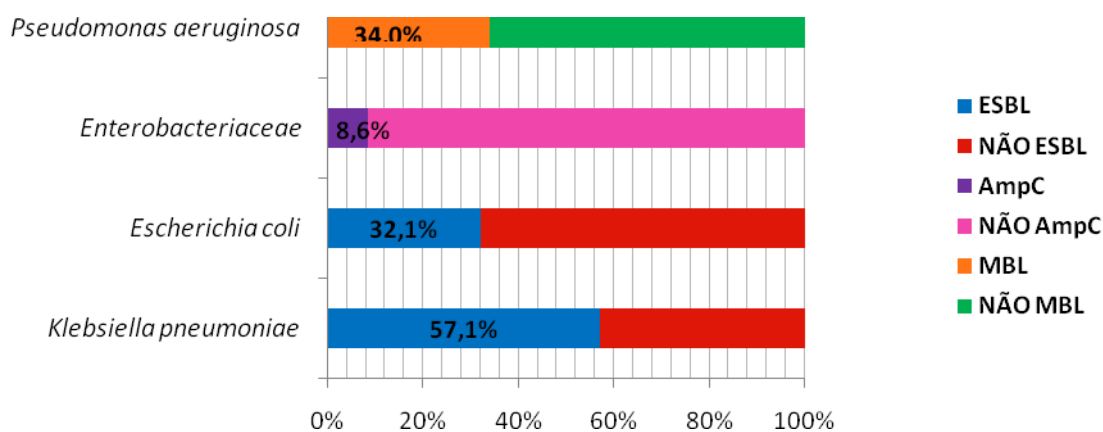


Figura 2. Bacilos Gram-negativos produtores de β -lactamases isolados de hemocultura e cultura de ponta de cateter.

Os isolados de *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* foram submetidos à triagem inicial e subsequente detecção da enzima AmpC. Do total de isolados (N = 104), 19

(18,3%) foram resistentes a cefoxitina e destes, 9 (47,4%) foram positivos para cefalosporinase AmpC usando o teste de disco com ácido borônico. Dos 9 isolados produtores de AmpC, 3 também foram produtores de ESBL e a resistência aos β -lactâmicos foi superior a 88%, não sendo detectado isolados resistentes a amicacina e carbapenêmicos. Dados evidenciados na tabela 8.

A produção de ESBL foi testada para os isolados de *K. pneumoniae* e *E. coli* (N = 77) através do sistema automatizado vitek2®. Do total de isolados 42 (54,5%) tiveram reduzida susceptibilidade a cefalosporinas de 3ª geração e a produção de ESBL foi detectada em 37 (88%) destes microrganismos. Os isolados produtores de ESBL demonstraram menores taxas de resistência à gentamicina e fluorquinolonas e nenhuma cepa foi resistente a amicacina e carbapenêmicos (Tabela 9).

Entre os isolados de *P. aeruginosa*, 59,6% foram resistentes a ceftazidima e/ou carbapenêmicos e desses 60,7% foram positivos para a produção de MBL pelo teste de sinergismo com duplo disco. Esses isolados apresentaram altas taxas de resistência ao aztreonam, cefepime, gentamicina e fluorquinolonas. Entretanto, apenas 18% dos microrganismos foram resistentes a amicacina e não houve resistência a polimixina (Tabela 10).

Tabela 8. Enterobactérias produtoras de AmpC- β -lactamases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Microorganismo	Triagem ¹	AmpC ²	Resistência N (%)								
	Positiva N (%)	Positivo N (%)	β -lactam. /Inibidor ³	AMP ⁴	Cef.1 ^{a5}	CRO ⁶	CPM ⁷	AMI ⁸	GEN ⁹	Fluor. ¹⁰	Carbap. ¹¹
<i>K.pneumoniae</i>	2 (4,1)	2 ^a (100,0)	2	2	2	2	2	0	1	0	0
N=49 (%)			(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	-	(50,0)	-	-
<i>E.coli</i>	3 (10,7)	2 ^b (66,7)	2	2	2	2	2	0	1	1	0
N=28 (%)			(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	-	(50,0)	(50,0)	-
<i>Enterobacter</i> spp.	14 (51,8)	5 (35,7)	5	5	5	5	4	0	1	0	0
N=27 (%)			(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	(80,0)	-	(20,0)	-	-
Total	19 (18,3)	9 (47,4)	9	9	9	9	8	0	3	1	0
N=104 (%)			(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	(88,9)	-	(33,3)	(11,1)	-

¹ Resistência a cefoxitina; ² AmpC- β -lactamase – Teste com Ácido Borônico; ³ β -lactâmico associado a inibidor de β -lactamase; ⁴ Ampicilina; ⁵ Cefalospirina de 1ª Geração; ⁶ Ceftriaxone; ⁷ Cefepime; ⁸ Amicacina; ⁹ Gsenticina; ¹⁰ Fluorquinolonas; ¹¹ Carbapenêmicos; ^a Produção de ESBL (N=2); ^b Produção de ESBL (N=1)

Tabela 9. Enterobactérias produtoras de β -lactamases de Espectro Estendido e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Microorganismo	Triagem ¹	ESBL ²	Resistência N (%)								
	Positiva N (%)	Positivo N (%)	β -lactam. /Inibidor ³	AMP ⁴	Cef.1 ^{a5}	CFO ⁶	CPM ⁷	AMI ⁸	GEN ⁹	Fluor. ¹⁰	Carbap. ¹¹
<i>K. pneumoniae</i> N=49 (%)	31 (63,3)	28 (90,3)	28 (100,0)	28 (100,0)	28 (100,0)	2 (7,1)	28 (100,0)	0 -	16 (57,1)	15 (53,6)	0 -
<i>E. coli</i> N=28 (%)	11 (39,3)	9 (81,8)	9 (100,0)	9 (100,0)	9 (100,0)	3 (33,3)	9 (100,0)	0 -	5 (55,6)	6 (66,7)	0 -
Total N=77 (%)	42 (54,5)	37 (88,1)	37 (100,0)	37 (100,0)	37 (100,0)	5 (13,5)	37 (100,0)	0 -	21 (56,7)	21 (56,7)	0 -

¹ Resistência a cefalosporina 3^a geração; ² β -lactamase de espectro estendido – Teste automatizado vitek2; ³ β -lactâmico associado a inibidor de β -lactamase; ⁴ Ampicilina; ⁵ Cefalosporina de 1^a Geração; ⁶ Cefoxitina; ⁷ Cefepime; ⁸ Amicacina; ⁹ Gentamicina; ¹⁰ Fluorquinolonas; ¹¹ Carbapenêmicos

Tabela 10. *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de metalo- β -lactamases e perfil de resistência aos antimicrobianos entre os isolados obtidos de hemocultura e cultura de ponta de cateter durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Microrganismo	Triagem ¹	MBL ²	Resistência N (%)				
	Positiva N (%)	Positivo N (%)	ATM ³	Fluorquinolona	AMI ⁴	GEN ⁵	Polimixina
<i>P. aeruginosa</i>	28 (59,6)	17 (60,7)	12	10	3	10	0
N=47 (%)			(70,6)	(58,8)	(17,6)	(58,8)	-

¹ Resistência a ceftazidima e/ou imipenem; ² Metalo- β -lactamase – Teste de sinergismo com duplo disco; ³ Aztreonam; ⁴ Amicacina; ⁵ Gentamicina

Tabela 11. Análise univariada e multivariada dos fatores preditores de morte em pacientes com bacteremia por bacilos Gram-negativos durante o período de maio/09 a fevereiro/10 no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Fatores preditores	Mortalidade/total (%)	Univariada <i>P</i> (OR) ¹	Multivariada <i>P</i> (OR)
Idade (anos)			
≥ 60	23/48 (47,9)	0,003* (3,32)	0,005* (3,18)
< 60	18/83 (21,7)		
Bacteremia			
BGN-MR ²	20/44 (45,5)	0,02* (2,62)	0,09 (2,10)
BGN-não-MR	21/87 (24,1)		
Cirurgia			
Sim	12/41 (29,3)	0,89 (0,87)	-
Não	29/90 (32,2)		
Cardiopatía			
Sim	21/48 (43,8)	0,03* (2,45)	0,15 (1,82)
Não	20/83 (24,1)		
Doença renal			
Sim	14/31 (45,2)	0,09 (2,23)	-
Não	27/100 (27,0)		
Neoplasia			
Sim	6/19 (31,6)	0,81 (1,02)	-
Não	35/112 (31,3)		
Diabetes Mellitus			
Sim	10/28 (35,7)	0,73 (1,29)	-
Não	31/103 (30,1)		
Uso prévio antibiótico			
Sim	28/79 (35,4)	0,28 (1,65)	-
Não	13/52 (25,0)		
Produção ESBL³			
Sim	10/24 (41,7)	0,26 (1,87)	-
Não	31/112 (27,7)		
Produção MBL⁴			
Sim	5/8 (62,5)	0,10 (4,03)	-
Não	36/123 (29,3)		
Uso empírico antibiótico			
Inadequado	23/53 (43,4)	0,02* (2,56)	0,21 (1,72)
Apropriado	18/78 (23,1)		

¹Odds ratio; ²Bacilo Gram-negativo multiresistente; ³β-lactamase amplo espectro; ⁴Metalo-β-lactamase; *P≤0,05

O risco de morte foi maior para pacientes com: idade igual ou superior a 60 anos ($P = 0,003$), bacteremia por BGN-MR ($P = 0,02$), cardiopatía ($P = 0,03$) e terapia antimicrobiana inadequada ($P = 0,02$), através da análise univariada. Entretanto, através da análise

multivariada, apenas idade avançada foi um fator independentemente associado com mortalidade ($P = 0,005$) (Tabela 11).

7 DISCUSSÃO

Nos últimos anos a incidência de infecções hospitalares graves com destaque para as infecções de corrente sanguínea e pneumonias associadas a procedimentos invasivos, devido principalmente a bactéria Gram-negativas, aumentou significativamente em todo o mundo (FALAGAS et al., 2007). O tratamento dessas infecções que são consideradas as síndromes com taxas mais elevadas de mortalidade, é complicado pela participação de fenótipos de resistência, com destaque para *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenêmicos, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de 3ª geração, entre outros, cada vez mais expressiva, resultando em morbidade e mortalidade crescentes e custos mais elevados (TALBOT et al., 2006; KANG et al., 2005).

As taxas de BGN resistentes aos antibióticos detectadas em nosso estudo foram maiores do que aquelas observadas em outros hospitais da América Latina, incluindo o Brasil. Um estudo do programa de vigilância antibacteriana SENTRY encontrou o seguinte perfil de resistência entre isolados obtidos de infecção de corrente sanguínea: *Escherichia. coli* e *Klebsiella pneumoniae* produtores de ESBL (6,7% e 47,3%), *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. resistentes a carbapenêmicos (aproximadamente 12% e 10%, respectivamente) (SADER et al., 2002). Nosso estudo encontrou taxas de resistência entre isolados de *P. aeruginosa* acima de 50% para cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, carbapenêmicos e fluorquinolonas, maior do que as taxas relatadas por Caselli e colaboradores (2010), que relatam frequências de resistência de 24% para imipenem, 18% para fluorquinolonas e acima de 30% para cefalosporinas de 3ª e 4ª geração.

Em amostras de bacilos Gram-negativos isoladas de sangue, a emergência e disseminação de isolados produtores de β -lactamases, como β -lactamases de espectro estendido (ESBL), AmpC e metalo- β -lactamases, observa-se usualmente associação com resistência antibiótica múltipla resultando em poucas opções terapêuticas e aumento do risco de falha no tratamento em pacientes infectados com estas cepas (SUBHA et al., 2003; FANG et al., 2008; KING-TING et al., 2009; SEREFHANOGLU et al.; 2009). A produção de metalo- β -lactamases é o principal mecanismo de resistência encontrado em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* (MANOHARAN et al, 2010). Os nossos dados mostraram a produção da enzima em 34% desses isolados, semelhante ao descrito em outro relato (ARNONI et al.; 2007). Esse aspecto torna-se particularmente importante uma vez que nossos isolados de *P. aeruginosa* provenientes de sangue e ponta de cateter apresentaram 60% de resistência aos

carbapenêmicos, resistência considerada preocupante, com cerca de metade dos pacientes com história de uso prévio desse antimicrobiano. Os dados do SENTRY apontam resistência elevada e crescente aos carbapenêmicos entre as amostras de *P. aeruginosa* de sangue em hospitais na América Latina, incluindo o Brasil. Em 1997 as taxas eram de 23% e 17% para imipenem e meropenem, respectivamente, enquanto que em 2001 essas frequências aumentaram para 38% e 36% (SADER et al, 2004).

No Brasil, a prevalência de *Pseudomonas aeruginosa* produtoras da metalo- β -lactamases varia entre as diferentes regiões geográficas e entre hospitais (GALES et al., 2003; MENDES et al., 2006). Em estudo anterior realizado no HC-UFU em Uberlândia, no período de novembro de 2003 a julho de 2005, em pacientes internados na UTI de adultos, foi relatada uma prevalência elevada de *P. aeruginosa* resistente ao imipenem produtoras de metalo- β -lactamases (76,7%), sendo que destas 33% foram do tipo SPM-1 (CEZARIO e al., 2009). Nesta investigação, o perfil de susceptibilidade dos 17 isolados de *P. aeruginosa* produtoras da enzima demonstrou altos níveis de resistência a maioria dos antimicrobianos, destacando-se o fenótipo de multiresistência, a qual é justificada pela presença de um ou mais genes de resistência a outras classes de antibióticos como fluorquinolonas e aminoglicosídeos associada com a presença daqueles que codificam as metalo- β -lactamases.

A emergência de amostras de Enterobacteriaceae, com destaque para *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* produtores de β -lactamases de amplo espectro (ESBL) também é um problema de grande importância clínica e epidemiológica principalmente em hospitais, mas já é disseminado em algumas comunidades (VILLEGASA et al., 2004; PATERSON et al, 2006; SEREFHANOGLU et al., 2009; SHIJU et al., 2010). No Brasil, as informações são mais escassas, porém há relatos com taxas de produção de ESBL em 50-60% dos isolados de *K. pneumoniae* e de 10% em *E. coli* (SEREFHANOGLU et al., 2009). Entre as amostras desta série, isoladas de sangue e ponta de cateter, a proporção de *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL foi elevada, 58% e 32%, respectivamente. Embora este seja o mecanismo de resistência mais prevalente, há outros como as β -lactamases referidas como AmpC codificadas por genes cromossomais e plasmidiais, bem como perda de porinas. A resistência a cefoxitina nestes isolados (13,5%) pode ser justificada principalmente pela presença de enzima AmpC, uma vez que ESBL não confere resistência a este antibiótico. (TOMAS et al., 2010).

As β -lactamases do tipo AmpC são mais raras que as ESBL (TANEJA et al., 2008) e também conferem resistência as cefalosporinas de 3ª geração, porém se diferem das ESBLs por não conferir resistência ao cefepime e não são inibidas pelo ácido clavulânico (HANSON

et al., 2003). Nesta investigação foi observada taxa de 47,0% entre as enterobactérias resistentes a cefoxitina produtoras de AmpC, com a maioria dos isolados apresentando resistência a outros antimicrobianos.

Em países em desenvolvimento, como o Brasil, a presença significativa de infecções comunitárias em pacientes hospitalizados contribui para o aumento na prescrição de antibióticos, atingindo cerca de 50% dos pacientes, além do uso menos criterioso/adequado (LEIBOVICI et al., 2003), favorecendo a emergência de microrganismos resistentes e multiresistentes (PHILMON et al., 2006). Isto é mais significativo em UTIs, onde se observa frequências elevadas de infecções graves causadas por microrganismos resistentes tanto Gram-negativos quanto Gram-positivos (SINGH et al., 2002; JAPONI et al., 2009). Na população investigada, destacou-se a presença de bactérias Gram-negativas consideradas epidemiologicamente importantes, com resistência aos antibióticos mais utilizados na maioria dos pacientes internados em diferentes enfermarias do hospital.

Além de aspectos relativos ao paciente em particular como morbidade, doenças de base e pior prognóstico, os nossos resultados evidenciaram a participação expressiva de bacilos Gram-negativos multiresistentes na etiologia de infecções de corrente sanguínea no hospital de clínicas, com internação prolongada (média de 56 dias) entre os pacientes e na sua maioria em unidades não críticas (78%). Embora esses fenótipos sejam mais prevalentes em pacientes internados em UTIs (SINGH et al., 2002), entre os nossos pacientes eles predominaram naqueles internados em unidades de clínica médica e clínica cirúrgica. Considerando a disseminação desses fenótipos em todo ambiente hospitalar, particularmente nas unidades não críticas, a situação observada em nosso estudo nas enfermarias de clínica médica e cirúrgicas é semelhante ao observado nos países Europeus (EARSS, 2006).

A identificação de bactérias na corrente sanguínea normalmente é um marcador de prognóstico ruim (KIM et al., 2002; KANG et al., 2005). A associação de infecção de corrente sanguínea por amostras de bacilos Gram-negativos e multiresistência torna-se ainda mais preocupante, evidenciado a rápida disseminação dos genes de resistência, o que resulta em maior dificuldade quando da terapêutica antimicrobiana empírica aplicada, sendo fundamental conhecimento detalhado da epidemiologia local e ocorrência desses microrganismos (BLOT et al., 2002; CROSGROVE et al., 2002; KIM et al., 2002; KANG et al., 2005).

As bacteremias são classificadas em primárias e secundárias. Em relação às primeiras, a fonte de infecção não é conhecida, sendo usualmente relacionada ao uso do Cateter Venoso Central (CVC) (87%) (VINCENT, 2003; HUGONNET et al., 2004). Apesar desse não ter sido

o foco da nossa análise, nossa investigação identificou frequência elevada de pacientes em uso do CVC (77%), considerado o principal fator de risco para essas infecções.

Um dos objetivos de nosso estudo foi mensurar o impacto clínico de bacteremia por BGN-MR, considerando apenas o primeiro episódio. Foi observada uma associação de bacteremia por BGN-MR com pior evolução em relação aos controles (pacientes com bacteremias por BGN-não-MR), com maior taxa de mortalidade e os seguintes fatores de risco: cirurgia prévia e uso de procedimentos invasivos, incluindo ventilação mecânica, sonda vesical e traqueostomia, pela análise univariada.

Os fatores de risco independentes, descritos na literatura, associados com bacteremia por BGN-MR incluem uso prévio de antibióticos, uso de procedimentos invasivos, tempo de hospitalização prolongada e gravidade do paciente (TACCONELLI et al., 2002; D`AGATA, 2004; MARRA et al., 2006; ARNONI et al., 2007;). Entre os nossos pacientes a proporção de terapia antibiótica inadequada foi elevada (64% no grupo caso) e independentemente associada com a multiresistência das amostras de BGN, assim como cirurgia previa e traqueostomia. O uso prévio de antibiótico não foi fator independente na análise multivariada, entretanto esta análise demonstrou que a exposição a estas drogas foi duas vezes mais frequente em pacientes com bacteremia por BGN-MR. O consumo de antimicrobianos é o principal responsável pela emergência de bactérias resistentes e multirresistentes nos hospitais (WITTE et al., 2004; FRIEDMANN et al., 2009) e quando a terapêutica empírica é aplicada, particularmente sob as condições de nosso hospital, é maior a probabilidade desta ser administrada de forma inadequada.

As taxas de mortalidade hospitalar total em bacteremias hospitalares por BGN variam entre 16% a 53%, dependendo do microrganismo e da gravidade do paciente (JOHNSTON; CONLY, 2005). No presente estudo a taxa de mortalidade entre os nossos pacientes foi de 31,0%, sendo associada com idade > 60 anos, infecção por BGN-MR, cardiopatia e tratamento inadequado. Diferentes estudos publicados na última década tem investigado os fatores de risco para mortalidade entre pacientes com bacteremia por BGN que incluem: idade avançada, gravidade das condições clínicas, presença de doença de base e comorbidades, e infecção com agentes multiresistentes (THOM et al., 2008; AL-HASAN et al., 2010)

Um dos fatores, cuja importância vem aumentando, que influencia a evolução dos pacientes com bacteremia por BGN é a terapia antimicrobiana inadequada, principalmente em pacientes de UTI (ZAIDIA et al., 2002; ZARAGOZA et al., 2003; KANG et al., 2005). Os nossos resultados revelam uma frequência elevada de tratamento inadequado (40,5%), mas semelhante às relatadas em outros estudos (HANON et al., 2002; KANG et al., 2005), sendo

um fator de risco independente associado com bacteremia hospitalar por BGN-MR em nossa coorte. Poucos estudos têm avaliado a evolução clínica dos pacientes e a terapia antimicrobiana inadequada em infecções de corrente sanguínea por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, entretanto alguns estudos reportam relação entre essa terapia e o aumento na taxa de mortalidade (EHMAD et al., 2000). Neste estudo, a análise de sobrevida pela curva de Kaplan-Meier mostrou que pacientes com bacteremia por BGN-não-MR possuem significativamente maiores chances de sobrevivência quando comparados aqueles com bacteremia por BGN-MR. A mortalidade nestes pacientes esta associada ainda com a terapia antimicrobiana inadequada e aos fatores intrínsecos dos pacientes.

8 CONCLUSÃO

- Bacteremia por BGN-MR foi associada independentemente a cirurgia prévia, presença de traqueostomia e terapia antimicrobiana inadequada.
- A participação de fenótipos de resistência epidemiologicamente importantes foi expressiva, com destaque para *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de 3^a geração; e *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenêmicos.
- A frequência do fenótipo ESBL entre os isolados de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* foi elevada e associada com multiresistência na maioria dos microrganismos, assim como a presença de AmpC entre as enterobactérias resistentes a cefoxitina.
- A multiresistência das amostras de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos foi associada com a produção de metalo- β -lactamase na maioria dos isolados.
- A mortalidade hospitalar total dos pacientes foi alta, maior que 40% em nossa instituição, associada particularmente com idade avançada, presença de infecção por bacilos Gram-negativos multiresistentes, cardiopatia e terapia antimicrobiana inadequada.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S.H.; DAEF, E.A.; BADARY, M.S.; MAHMOUD, M.A.; ABD-ELSAYED, A.A. Nosocomial blood stream infection in intensive care units at Assiut University Hospitals (Upper Egypt) with special reference to extended spectrum β -lactamase producing organisms. **BMC Research Notes**, v.2, p.76-86, 2009.
- AL-HASAN, M.N.; LAHR, B.D.; ECKEL-PASSOW, J.E.; BADDOURS, L.M. Epidemiology and Outcome of *Klebsiella* Species Bloodstream Infection: A Population-Based Study. **Mayo Clinic Proceedings**, v.85, p.139-144. 2010.
- AMBLER, R.P. The structure of beta-lactamase. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v.289, p.321-331, 1980.
- ANTON, Y.; PELEG, M.B.; HOOPER, D.C. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. **The New England Journal of Medicine (NEJM)**, v.362, p.1804-1813, 2010.
- ARAKAWA, Y.; SHIBATA, N.; SHIBAYAMA, K.; KUROKAWA, H.; YAGI, T.; FUGIWARA, H.; GOTO, M. Convenient test for screening metallo-bata-lactamase-producing Gram negative bacteria by using thiol compounds. **Journal Clinical of Microbiology**, v.38, n.1, p.40-43, 2000.
- ARNONI, M.V.; BEREZIN, E.N.; MARTINO, M.D.V. Risk Factors for Nosocomial Bloodstream Infection Caused by Multidrug Resistant Gram-Negative Bacillus in Pediatrics. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.11, p.267-271, 2007.
- BLOT, S.; VANDEWUDE, K.; DE BACQUER, D.; COLARDYN, F. Nosocomial bacteremia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients: clinical outcome and length of hospitalization. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, p.1600–1606, 2002.
- BRADFORD, P.A. Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.4, p.933-951, 2001.
- BUSH, K.; JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A.A. A functional Classification Schene for beta-lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.39, p.1211-1233, 1995.
- CASELLI, D.; CESARO, S.; ZIINO, O.; et al. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in children undergoing chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. **Haematologica**, v.95, p.1612-161, 2010.
- CEZARIO, R.C.; DE MORAIS, L.D.; FERREIRA, J.C.; COSTA-PINTO, R.M.; DA COSTA, D.A.L.; GONTIJO-FILHO, P.P. Nosocomial outbreak by imipenem-resistant metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an adult intensive care unit in a

Brazilian teaching hospital. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v.27, p.269-274, 2009.

CIPRIANO R, VIEIRA VV., FONSECA EL., RANGEL K., FREITAS FS., VIECENTE ACP., Coexistence of epidemic colistin-only-sensitive clones of *Pseudomonas aeruginosa*, including the blaSPM clone, spread in Hospitals in a Brazilian Amazon city. **Microbial Drug Resistance**, v.13, p.142-146, 2007.

COUDRON, P.E.; MOLAN, E.S.; THOMSON K.S. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, and *Proteus mirabilis* isolates at a veterans medical center. **Journal Clinical of Microbiology**, v.38, n.5, p.1791-1796, 2000.

COSGROVE, S.E.; KAYE, K.S.; ELIOPOULOS, G.M.; CARMELI, Y. Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. **Archives of Internal Medicine**, v.162, p.185–190, 2002.

D'AGATA, E.M. Rapidly rising prevalence of nosocomial multidrug-resistant, Gram-negative bacillus: a 9-year surveillance study. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.25, p.842-846, 2004.

DIAS, R.C.S.; BORGES-NETO, A.A.; FERRAIUOLI, G.I.A.; OLIVEIRA, A.P.; RILEY, L.W.; MOREIRA, B.M. Prevalence of AmpC and other β -lactamases in enterobacteria at a large urban university hospital in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.60, p.79-87, 2008.

DIEKEMA, D.J.; BEEKMANN, S.E.; CHANPIN, K.C.; MOREL, K.A.; MUNSON, E.; DOERN, G.V. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.8, p.3655-3660, 2003.

DONG F.; XU X-W.; SONG W.; LÜ, P.; YU, S.; YANG, Y.; SHEN, X. Characterization of multidrug-resistant and metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a paediatric clinic in China. **Chinese Medical Journal**, v.121, n.17, p.1611-1616, 2008.

ERBAY, H.; YALCIN, A.N.; SERIN, S.; TURGUT, H.; TOMATIR, E.; CETIN, B.; ZENCIR, M. Nosocomial infections in intensive care unit in a Turkish university hospital: a 2-year survey. **Intensive Care Medicine**, v.29, p.1482-1488, 2003.

FALAGAS, M.E.; BLIZIOTIS, I.A. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.29, p.630-636, 2007.

FERNANDES, T.A.; PEREIRA, A.C.P.; PETRILI, A.S.; PIGNATARI, A.C.C. Caracterização molecular de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenêmicos e produtoras de metalo- β -lactamase isoladas em hemoculturas de crianças e adolescentes com câncer. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, n.4, p.372-376, 2010.

FLAHERTY, J. P., STOSOR, V. Nonfermentative Gram-Negative Bacilli. In: MAYHALL, C. G. (Ed.). *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 3th Ed. Philadelphia: Lippincott, Williams e Wilkins, 2004.

FRIEDMANN, R.; RAVEH, D.; ZARTZER, E. et al. Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing enterobacteriaceae among patients during hospitalization. *Infect* **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.30, p.534-542, 2009.

GALES, A. C., JONES, R.N., TURNIDGE, J. et al. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. **Clinical Infections Diseases**, v.32, suppl.2, p.146-155, 2001.

GALES, A.C., MENEZES, L.C., SILBERT, S., SADER, H.S. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.52, p.699-702, 2003.

GAYNES, R.P., HORAN, T.C. Definitions of nosocomial infections. In: MAYHALL, C.G., ed. **Hospital Epidemiology and Infection Control**. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1995.

GAZOULI, M.; TZOUVELEKIS, L.S.; VATOPOULOS, A.C.; TZELEPI, E. Transferable class C beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated in Greek hospitals and characterization of two enzyme variants (LAT-3 and LAT-4) closely related to *Citrobacter freundii* AmpC beta-lactamase. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.42, p.419-425, 1998.

GNIADKOWSKI, M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. **Clinical Microbiology and Infection**, v.7, n.11, p.597-608, 2001.

goncalve

EUROPEAN ANTIMICROBIAL RESISTANCE SURVEILLANCE SYSTEM. ERASS Annual report 2005. Relatorio. Bilthoven, 2006.

HANBERGER, H. et al. Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs. **Journal of Hospital Infection**, v.48, p. 161-176, 2001.

HANON, F.X.; MONNET, D.L.; SORESEN, T.L.; MILBAK, K. PEDERSEN, G.; SCHONHEYDER, H. Survival of patients with bacteraemia in relation to initial empirical antimicrobial treatment. **Journal of Infection Disease**, v.34, p.520-528, 2001.

HANSON, N.D. AmpC β -lactamases: what do we need to know for the future? **Journal of Antimicrobial and Chemotherapy**, v.52, n.1, p.2-4, 2003.

HUGONNET, S.; SAX, H.; EGGIMANN, P.; CHEVROLET, J.; PITTET, D. Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis. **Emerging Infectious Diseases**, v.10, n.1, p.76-81, 2004.

IBRAHIM, E.H.; SHERMAN, G.; WARD, S.; FRASER, V.J.; KOLLEF, M.H. *Chest*; The influence of Inadequate Antimicrobial Treatment of Bloodstream Infections on Patient Outcomes in the ICU Setting. **CHEST**, v.118, p.146-155, 2000.

JACOBY, G.A.; MUNHOZ-PRICE, L.S. The new β -lactamases. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, p.380-391, 2005.

JAPONI, A.; VAZIN, A.; HAMED, M.; DAVARPANAH, M.A.; ALBORZI, A.; RAFAATPOUR, N. Multidrug-resistant bacteria isolated from intensive-care-unit patient samples. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.13, n.2, p.118-122, 2009.

JOHNSTON, B.; CONLY, J. What do central venous catheter-associated bloodstream infections have to do with bundles? **Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, v.16, p.215-218, 2005.

KANG, C.I.; KIM, S.H.; PARK, W.B., et al. Bloodstream Infections Caused by Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacillus: Risk Factors for Mortality and Impact of Inappropriate Initial Antimicrobial Therapy on Outcome. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, p.760-766, 2005.

KIM, Y.-K.; PAI, H.-J.; LEE, S.-E.; et al. Bloodstream infections by extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.46, p.1481-1491, 2002.

KING-TING, L.; YASIN, R.; YEO, C.; PUTHUCHEARY, S.; THONG, K-L. Characterization of Multidrug Resistant ESBL-Producing *Escherichia coli* Isolates from Hospitals in Malaysia. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2009, p.1-10 2009.

LEAO, L.A.; PASSOS, X.S.; REIS, C.; VALADAO, L.M.A.; SILVA, A.R.R.; PIMENTA, F.C. Fenotipagem de bactérias isoladas em hemoculturas de pacientes críticos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.5, p.537-540, 2007.

LEIBOVICI, L.; et al. Considering resistance in systematic reviews of antibiotic treatment. **Journal of Antimicrobial and Chemotherapy**, Oxford, v.52, p.564-571, 2003.

MAKI, D.G.; JARRETT, F.; SARAFIN, H.W. A semiquantitative culture method for identification of catheter-related infection in the burn patient. **Journal of Surgical Research** v.22, p.513-520, 1977.

MANOHARAN, A.; CHATTERJEE, S.; MATHAI, D. Detection and characterization of metallo beta lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa*. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v.28, n.3, p.241-244, 2010.

MARRA, A.R.; PEREIRA, C.A.; GALES, A.C.; et al. Bloodstream infections with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology, microbiology, and clinical outcomes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.50, p.388-390, 2006.

MENDES, C.; OPLUSTIL, C.; SAKAGAMI, E.; TURNER, P.; KIFFER, C.; MYSTIC Brazil Group. Antimicrobial susceptibility in intensive care units: MYSTIC Program Brazil 2002. **Brazilian Journal of Infection Diseases**, v.9, p.44-51, 2005.

MENDES, R.E.; CASTANHEIRA, M.; PIGNATARI, A.C.; GALES, A.C. Metallo- β -lactamases. **Journal of Pathology and Laboratory Medicine**, v.42, p.103-113, 2006.

MICEK, S.T.; LLOYD, A.E.; RITCHIE, D.J.; REICHLEY, R.M.; FRASER, V.J.; KOLLEF, M.H. *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infection: Importance of Appropriate Initial Antimicrobial Treatment. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, n.4, p.1306-1311, 2005.

MITT, P.; ADAMSON, V.; LOIVUKENE, K.; LANG, K.; TELLING, K.; PARO, K.; ROOM, A.; NAABER, P.; MAIMETS, M. Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia. **The journal of Hospital Infection**, v. 71, n.4, p.365-370, 2009.

MULVEY, L.M.; BRYCE, E.; BOYD, D.A.; OFNER-AGOSTINI, M.; LAND, A.M.; SIMOR, A.E.; PATON, S. Molecular Characterization of Cefoxitin-resistant *Escherichia coli* from Canadian Hospitals. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, n.1, p.358-365, 2004.

NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTION SURVEILLANCE (NNIS) SYSTEM REPORT, Data summary from January 1992 – June 2001, issued August 2001, **American Journal Infection Control**, v.29, p.404-421, 2001.

NATHISUWAN, S.; BERGESS, D.S.; LEWIS, J.S. Extended-spectrum beta-lactamases: epidemiology, detection, and treatment. **Pharmacotherapy**, v.21, n.8, p.920-928, 2001.

NORDMANN, P.; CUZON, G.; NAAS, T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. **The Lancet Infectious Diseases**, v.9, p.228-236, 2009.

OLIVEIRA, A.C.; KOVNER, C.T.; SILVA, R.S. Nosocomial Infection in an Intensive Care Unit in a Brazilian University Hospital. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v.18, n.2, p.233-239, 2010.

PATERSON, D.L. Resistance in Gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. **American Journal of Infection Control**, v.34, p.20-28, 2006.

PHILMON, C.; SMITH, T.; WILLIAMSON, S.; CONTROLLING, G.E. Use of Antimicrobials in a Community Teaching Hospital. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.27, p.239-244, 2006.

POOLACK M. *Pseudomonas aeruginosa*. In: MANDELL GL, BENNETT JE., DOLIN, R. Editors . *Principles and practice of infectious diseases*, 4 ed, New York: Churchill Livingstones; 1995. P. 1980-2003.

RICE, L.B. Antimicrobial Resistance in Gram-positive Bacteria. **The American Journal of Medicine**, v.119, n.6, p.11-19, 2006.

RODRIGUES, F.A.; BERTOLDI, A.D. The profile of antimicrobial utilization in a private hospital. **Ciência e saúde coletiva**, v.15, n.1, p.1239-1247, 2010.

RUIZ, L., DOMINGUEZ, M.A., RUIZ, N., VIÑAS, M. Relationship between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital setting, **Archives of Medical Research**, v.35, p.251-257, 2004.

SADER HS., GALES, AC., PFALLER, MA. et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Brazilian Journal of Infections Diseases**, v.5, p.200-214, 2001.

SADER, H.S.; JONES, R.N.; ANDRADE-BAIOCCHI, S.; BIEDENBACH, D.J. Four-year evaluation of frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from bloodstream infections in Latin American medical centers. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.44, p.273-280, 2002.

SADER, H.S.; JONES, R.N.; GALES, A.C.; SILVA, J.B.; PIGNATARI, A.C. SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. **The Brazilian Journal Infection Disease**, v.8, p.25-79, 2004.

SEREFHANOGLU, K.; TURAN, H.; TIMURKAYNAK, F.E.; ARSLAN, H. Bloodstream Infections Caused by ESBL-Producing *E. coli* and *K. pneumoniae*: Risk Factors for Multidrug-Resistance. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.13, n.6, p.403-407. 2009.

SCHEFFER, M.C.; BAZZO, M.L.; STEINDEL, M.; DARINI, A.L.; CLIMACO, E.; DALLA-COSTAS, M.L. Intrahospital spread of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, n.4, p.367-371, 2010.

SINGH, A.; SEN, M.R.; ANUPURBA, S.; et al. Antibiotic sensitivity pattern of the bacteria isolated from nosocomial infections in ICU. **The Journal of communicable diseases**, v.34, p.257-263, 2002.

SHIJU, M.P.; YASHAVANTH, R.; NARENDRA, N. Detection Of Extended Spectrum Beta-Lactamase Production And Multidrug Resistance In Clinical Isolates Of *E. coli* And *K. pneumoniae* In Mangalore. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.4, n.3, p.2442 – 2445, 2010.

SNYDER, L.; CHAMPNESS, W. Molecular Genetics of bacteria, Terceira edicao. **American Society of Microbiology**, Washington, D.C., 2007.

STREIT, J.M.; JONES, R.N.; SADER, H.S.; FRITSCH, T.R. Assessment of pathogen occurrences and resistance profiles among infected patients in the intensive care unit: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). **International Journal Antimicrobial Agents**, v.24, p.111-118, 2004.

SUBHA, A.; DEVI, V.R.; ANANTHAN, S. AmpC beta-lactamase producing multidrug resistant strains of *Klebsiella* spp. & *Escherichia coli* isolated from children under five in Chennai. The **Indian Journal of Medical Research**, v.117, p.8-13, 2003.

TACCONELLI, E.; TUMBARELLO, M.; BERTAGNOLIO, S.; et al. Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Bloodstream Infections: Analysis of Trends in Prevalence and Epidemiology. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, p.220-221, 2002.

TALBOT, G.H.; BRADLEY, J.; EDWARDS, J.E.Jr. et al. Bad bugs need drugs: An update on the Development pipeline from the antimicrobial availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v.42, p.657-668, 2006.

TAM, V.H.; CHANG, K.-T.; ABDELRAOUF, K.; et al. Prevalence, Resistance Mechanisms, and Susceptibility of Multidrug-Resistant Bloodstream Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.54, n.3, p.1160-1164, 2010.

TANEJA, N.; RAO, P.; ARORA, J.; DOGRA, A.; Occurrence of ESBL & Amp-C b-lactamases & susceptibility to newer antimicrobial agents in complicated UTI. **Indian Journal Medicine**, v.127, p.85-88, 2006.

TANEJA, N.; RAO, P.; ARORA, J.; DOGRA, A. Occurrence of ESBL & Amp-C b-lactamases & susceptibility to newer antimicrobial agents in complicated UTI. **Indian Journal of Medical Research**, v.127, p 85-88, 2008.

TENOVER, F.F.; EMERY, S.L.; SPIEGEL, S.A.; et al. Identification of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Proteus* Species Can Potentially Improve Reporting of Cephalosporin Susceptibility Testing Results. *Journal of Clinical Microbiology*, v.47, n.2, p.204-299, 2009.

THOM, K.A.; SCHWEIZER, M.L.; OSIH, R.B.; et al. Impact of Empiric Antimicrobial Therapy on Outcomes in Patients with *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Bacteraemia: A Cohort Study. **BMC Infectious Diseases**, v.8, p.116-124, 2008.

TOMAS, M.; DOUMITH, M.; WARNER, M.; et al. Efflux pumps, OprD porin, AmpC beta-lactamase, and multiresistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.54, n.5, p.2219-2224, 2010.

VILLEGASA, M.V.; CORREAA, A.; PEREZA, F.; et al. Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.49, p.217-222, 2004.

VINCENT, J.L. Nosocomial infections in adult Intensive Care Units. **The Lancet**, v.361, p.2068-2077, 2003.

WALTHER-RASMUSSEN, J.; HOIBY, N. Class A carbapenemases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.60, p.470-482, 2007.

WINOKUR, P.L.; CANTON, R.; CASELLAS, J.M.; LEGAKIS, N. Variations in the Prevalence of Strains Expressing an Extended-Spectrum b-Lactamase Phenotype and Characterization of Isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific Region. **Clinical Infectious Diseases**, v.32, p.94-103, 2001.

WISPLINGHOFF, H.; BISCHOFF, T.; TALLENT, S.M.; SEIFERT, H.; WENZEL, R.P. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. **Clinical Infectious Diseases**, v.39, p.309-317, 2004.


WITTE, W. International dissemination of antibiotic resistant strains of bacterial pathogens. **Infection, Genetics and Evolution**, v.4, p.187-191, 2004.

XAVIER, D.E.; PICAIO, R.C.; GIRARDELLO, R.; FEHLBERG, L.C.C.; GALES, A.A. Efflux pumps expression and its association with porin down-regulation and b-lactamase production among *Pseudomonas aeruginosa* causing bloodstream infections in Brazil. **BMC Microbiology**, v.10, n.217, p.1-7, 2010.

ZAIDIA, M.; SIFUENTES-OSORNIQB, J.; ROLONB, A.L.; et al. Inadequate Therapy and Antibiotic Resistance. Risk Factors for Mortality in the Intensive Care Unit. **Archives of Medical Research**, v.33, n.3, p.290-294, 2002.

ZARAGOZA, R.; ARTERO, A.; CAMARENA, J.J.; SANCHO, S.; GONZALEZ, R.; NOGUEIRA, J.M. The influence of inadequate empirical antimicrobial treatment on patients with bloodstream infections in an intensive care unit. **Clinical Microbiology and Infection**, v.9, n.5, p.412-8, 2003.

ANEXO I


 Universidade Federal de Uberlândia
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
 Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco J - Campus Santa Mônica - Uberlândia-MG -
 CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131
 e-mail: cep@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº. 550/09 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO
REGISTRO CEP/UFU 223/09**

Projeto Pesquisa: Detecção de ESBL, AmpC e Metallo-B-Lactamase em amostras clínicas de Bacilos Gram-negativos de amostras de sangue de pacientes internados em um hospital universitário Mineiro.

Pesquisador Responsável: Rosineide Marques Ribas

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, o CEP manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.
O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com seres humanos, nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

O CEP/UFU lembra que:


- segundo a Resolução 196/96, o pesquisador deverá arquivar por 5 anos o relatório da pesquisa e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido, assinados pelo sujeito de pesquisa;
- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto;
- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em desconformidade do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO

Data de entrega do relatório final: Dezembro de 2010

**O CEP/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA
IMEDIATAMENTE AO CEP PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.**

Uberlândia, 23 de outubro de 2009.


 Prof. Dra. Sandra Terezinha de Farias Furtado
 Coordenadora do CEP/UFU

Orientações ao pesquisador

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.2), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel de o pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA - junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentadas anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprobatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item III.2.e). O prazo para entrega de relatório é de 120 dias após o término da execução prevista.