



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**INFECÇÕES HOSPITALARES POR ENTEROBACTERIACEAE
PRODUTORA DE β -LACTAMASE DE AMPLO ESPECTRO (ESBL):
OCORRÊNCIA E PREDITORES DE MORTALIDADE EM UM HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO MINEIRO**

Ana Paula Amâncio Moreira

Uberlândia – MG
Março 2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**INFECÇÕES HOSPITALARES POR ENTEROBACTERIACEAE
PRODUTORA DE β -LACTAMASE DE AMPLO ESPECTRO (ESBL):
OCORRÊNCIA E PREDITORES DE MORTALIDADE EM UM HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO MINEIRO**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós - Graduação em
Imunologia e Parasitologia Aplicadas
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre.

Ana Paula Amâncio Moreira

Prof. Dr. Paulo Pinto Gontijo Filho (orientador)

Uberlândia – MG
Março 2011



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



Ana Paula Amâncio Morcira

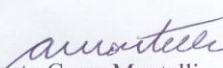
“INFECÇÕES HOSPITALARES POR ENTEROBACTERIACEAE PRODUTORA DE β -LACTAMASE DE AMPLO ESPECTRO (ESBL): OCORRÊNCIA E PREDITORES DE MORTALIDADE EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO MINEIRO”

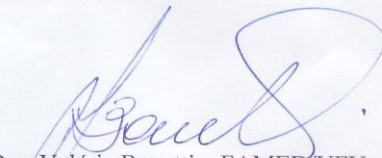
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Mestre.

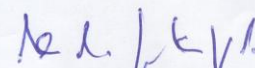
Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 1 de março de 2011.


Prof. Dr. Augusto Cezar Montelli – UNESP/Botucatu


Prof. Dra. Valéria Bonetti – FAMED/UFU


Prof. Dr. Paulo P. Gontijo Filho (orientador) – ICBIM/UFU

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- M838i Moreira, Ana Paula Amâncio, 1986-
 Infecções hospitalares por Enterobacteriaceae produtora de
 β -lactamase de amplo espectro (ESBL) : ocorrência e preditores
 de mortalidade em um hospital universitário mineiro [manuscrito]
 / Ana Paula Amâncio Moreira. - 2011.
 50 f. : il.
- Orientador: Paulo Pinto Gontijo Filho.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Apli-
 cadas.
 Inclui bibliografia.
 1. Infecção hospitalar - Teses. 2. Enterobactérias - Teses. I.
 Gontijo Filho, Paulo Pinto.II.Universidade Federal de Uberlândia.
 Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Apli-
 cadas. III.Título.

CDU: 616.98:615.478

“A descoberta consiste em ver o que todo mundo viu e pensar o que ninguém pensou.”

Albert Von Szent Gyorgyi

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, que é sem dúvida, o bem mais sublime de nossa frágil existência. Muito obrigada, Senhor, por essa grande vitória e por estar sempre presente, me iluminando e auxiliando, nesta longa caminhada da vida. A Ti, toda honra e toda glória.

Ao meu saudoso pai que mesmo ausente possibilitou a concretização desse sonho. À minha mãe Vilma, que tanto contribuiu para que meus objetivos fossem alcançados, me ajudando nos momentos difíceis. Ao meu irmão Rodrigo pelo companheirismo e amizade.

Aos meus familiares que participaram dessa jornada, cujo apoio, preces, incentivo e torcida foram fundamentais para o meu sucesso.

Ao meu orientador, Dr. Paulo P. Gontijo Filho, por ter me acolhido em sua equipe de pesquisa, por sua disponibilidade e por seus valiosos ensinamentos durante a pós-graduação.

A todos os meus amigos do laboratório de Microbiologia, especialmente, Raquel, Deivid, Juliana, Melina, Paola, Lizandra, Daiane, Ana Luiza, Priscila pelas risadas, conselhos, discussões e tantas histórias vividas, por acreditarem em meu potencial e estarem presente no trilhar desse caminho.

Aos colegas de mestrado que compartilharam das mesmas dificuldades e que tornaram a convivência, uma experiência inesquecível.

Aos meus companheiros de laboratório: Dayane Otero, Elias, Cristiane, Karine, LÍlian, Mariana, Luiz Fernando, Marcília, Munick, Jaqueline, Michel, Júlia, Carol, Nayara e tantos outros pela convivência, apoio e respeito.

Agradeço também aos professores da Microbiologia: Prof. Dra. Rosineide, 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.

À CAPES por me subsidiar com a bolsa de estudo.

Muito Obrigada!

Lista de Abreviaturas e Siglas

β	Beta
$\leq$	Maior ou igual
$\geq$	Menos ou igual
μg	Microgramas
μL	Microlitros
AMI	Amicacina
APACHE II	<i>“Acute Physiology And Chronic Health Evaluation”</i>
APS	Ampicilina/subactam
ASCs	<i>“Advanced Spectrum Cephalosporins”</i>
BGN	Bacilos Gram negativos
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CFZ	Cefazolina
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CPM	Cefepime
CTX	Cefotaxima
CVC	Cateter Venoso Central
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EARSS	<i>“European Antimicrobial Resistance Surveillance System”</i>
ESBL	β -lactamase de amplo espectro
et al	E colaboradores
GEN	Gentamicina
HC-UFU	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
IC	Intervalo de confiança
ICBIM	Instituto de Ciências Biomédicas
IMI	Imipenem
LEV	Levofloxacina
MIC	<i>“Minimum inhibitory concentration”</i> , Concentração Inibitória Mínima

MYSTIC	<i>“Meropenem Yearly Susceptibility Test Collection”</i>
NHSN	<i>The National Healthcare Safety Network</i>
NNIS	<i>National Nosocomial Infections Surveillance System</i>
NHSN	National Healthcare Safety Network
OR	<i>Odds Ratio</i>
SENTRY	<i>“Antimicrobial Surveillance Program”</i>
SMART	<i>“Study Monitoring Antimicrobial Resistance Trends”</i>
SNG	Sonda nasogástrica
TEST	<i>“Tigecycline Evaluation Surveillance Trial”</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VM	Ventilação Mecânica
X ²	Qui-quadrado

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo Geral.....	17
2.2. Objetivos Específicos	17
3. JUSTIFICATIVA.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1. Hospital	19
4.2. Desenho do Estudo	19
4.3. Definições	19
4.4. Vigilância Laboratorial de infecções hospitalares	20
4.5. Técnicas Microbiológicas	20
4.5.1. Identificação das espécies.....	20
4.5.2. Testes de Sensibilidade.....	20
4.5.3. Detecção de ESBL	21
4.6. Comitê de Ética	21
4.7. Análise Estatística	21
5 RESULTADOS	23
6. DISCUSSÃO	30
7. CONCLUSÕES	36
8 REFERÊNCIAS	37
ANEXO I.....	49
ANEXO II	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Curva de sobrevivência de infecções por membros da família Enterobacteriaceae produtores de ESBL e não produtores de ESBL. Curva preparada usando estimativa de Kaplan-Meier e comparada usando o teste de Gehan-Breslow Wilcoxon (Chi-square= 4,551, $P= 0,03$)	26
--	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Infecções hospitalares por Enterobacteriaceae no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.....	23
Tabela 2: Relação de amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL e resistentes a cefalosporinas de terceira geração, recuperadas no período de junho de 2009 a março de 2010.	23
Tabela 3: Distribuição das infecções Hospitalares produtoras e não de ESBL por sítio anatômico em pacientes internados no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.....	24
Tabela 4: Distribuição de infecções hospitalares de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL por unidades, em pacientes internados no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.....	24
Tabela 5: Frequência de resistência a cefepime, ceftazidima e multirresistência entre os isolados de Enterobacteriaceae produtoras e não de ESBL	25
Tabela 6: Frequências de resistência aos antibióticos entre os isolados de Enterobacteriaceae produtores e não de ESBL.	25
Tabela 7: Características dos pacientes com infecção por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL internados no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010	27
Tabela 8: Fatores de risco para mortalidade hospitalar em 111 pacientes com infecção por Enterobacteriaceae produtora de ESBL	28
Tabela 9: Regressão Logística Múltipla dos fatores de risco para mortalidade por infecções por Enterobacteriaceae produtora de ESBL	29
Tabela 10: Justificativas para terapia antimicrobiana empírica inadequada	29

RESUMO

Introdução: A emergência de bactérias resistentes aos antibióticos na etiologia de infecções é mais expressiva em hospitais de países em desenvolvimento, devido à falta de recursos humanos e financeiros, inexistência frequente de diagnóstico microbiológico resultando em terapia antimicrobiana empírica inadequada. **Objetivos:** Avaliar a ocorrência de infecções hospitalares por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL entre aquelas resistentes às cefalosporinas de terceira geração, bem como identificar preditores de mortalidade hospitalar entre esses pacientes. **Material e Métodos:** Foi realizado um estudo de coorte prospectivo para analisar os preditores de mortalidade em pacientes com infecções hospitalares por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL, internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), no período de junho de 2009 a março de 2010. A vigilância epidemiológica ativa foi realizada por visitas regulares ao laboratório do HC-UFU para detecção de amostras resistentes às cefalosporinas de terceira geração, produtoras ou não de ESBL. A identificação das amostras, o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos e o teste fenotípico de ESBL foram realizados através do sistema automatizado Vitek[®] 2. Os dados demográficos, clínicos e os demais fatores de risco foram obtidos dos prontuários dos pacientes e avaliados por análises estatísticas uni e multivariada. A curva de sobrevivência foi preparada usando a estimativa de Kaplan-Meier para comparar a mortalidade hospitalar (30 dias) nos grupos ESBL e não ESBL. A investigação foi aprovada pelo comitê de ética da UFU. **Resultados:** No total, foram detectados 184 (10,3%) pacientes com infecção hospitalar por Enterobacteriaceae resistente às cefalosporinas de terceira geração, na sua maioria (65,2%) causadas por amostras produtoras de ESBL, pertencentes às espécies *K. pneumoniae* (67,5%) e *E. coli* (31,6%). As infecções mais frequentes por essas bactérias foram as do trato urinário (39,1%) e corrente sanguínea (31,6%) e a taxa de mortalidade hospitalar foi significativamente maior no grupo ESBL. Os fatores prognósticos independentes para a mortalidade hospitalar foram: neoplasia (OR 7,86 IC 95% 2,25-27,49, $P = 0,001$) e tratamento antimicrobiano empírico inadequado (OR 2,92, IC 95% 1,13-7,52, $P = 0,02$). **Conclusões:** As infecções hospitalares por amostras de Enterobacteriaceae resistentes à cefalosporinas de terceira geração neste hospital são endêmicas, representados na sua maioria por amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL. Neoplasia e terapia antimicrobiana empírica inadequada foram fatores prognósticos independentes para a mortalidade hospitalar. No total, a mortalidade observada nesse grupo foi alta e significativamente maior do que o grupo não ESBL.

Palavras-chave: ESBL; Enterobacteriaceae, Mortalidade hospitalar.

ABSTRACT

Introduction: The emergence of resistant bacteria in the etiology of infections in hospitals is more significant in developing countries due to lack of human and financial resources, lack of microbiological diagnosis resulting in inadequate empirical antimicrobial therapy. **Objectives:** This study aimed to evaluate the occurrence of nosocomial infections ESBL-producing Enterobacteriaceae among third-generation cephalosporin-resistant isolates and to identify predictors of hospital mortality among these patients. **Methods:** We conducted a prospective cohort study to analyze predictors of mortality in patients with nosocomial infections by ESBL-producing Enterobacteriaceae from June 2009 to March 2010 at Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). The active surveillance was carried out by regular visits to the laboratory of HC-UFU for detection of third generation cephalosporins resistant, ESBL-producing or non ESBL-producing. The identification of samples, antibiotic susceptibility test and ESBL phenotypic test were performed using the automated system Vitek® 2. Demographic and clinical data and other risk factors were obtained from patient charts and evaluated by univariate and multivariate statistical analysis. Survival curves were prepared using Kaplan-Meier estimation to compare the hospital mortality (30 days) between ESBL and non-ESBL infections. The study was approved by the Ethics Committee. **Results:** Overall, 184 (10.3%) patients were diagnosed with nosocomial infection by third generation cephalosporin resistant Enterobacteriaceae, mostly (65.2%) caused by ESBL producing strains, belonging to the species *K. pneumoniae* (67.5%) and *E. coli* (31.6%). The most frequent infections with these microorganisms were the urinary tract (39.1%) and bloodstream (31.6%) and hospital mortality rate was significantly higher in the ESBL group. Variables that independently predict death by multivariate analysis consist of malignancies (OR 7.86; 95% CI 2.25-27.49; $P= 0.001$) and inappropriate empirical therapy (OR 2.92; 95% CI 1.13-7.52; $P= 0.02$). **Conclusion:** Hospital infections by third generation cephalosporin resistant Enterobacteriaceae are endemic in this hospital, mostly represented by samples of ESBL producing *K. pneumoniae* and *E. coli*. Malignancies and inappropriate empirical therapy were independent prognostic factors for hospital mortality. Overall, the observed mortality in this group was high and significantly higher than non-ESBL group.

Key-words: ESBL; Enterobacteriaceae, hospital mortality.

1. INTRODUÇÃO

As infecções por bactérias resistentes e multiresistentes aos antimicrobianos, estão associadas à mortalidade, morbidade e custos mais significativos (GISKE, et al., 2008). A etiologia de infecções hospitalares incluem uma proporção significativa de bactérias com fenótipos de resistência aos antibióticos (SAFDAR; MAKI, 2002). A participação de bactérias resistentes é mais expressiva em hospitais de países em desenvolvimento como o Brasil, onde a falta de recursos humanos e financeiros, a inexistência frequente de diagnóstico laboratorial e terapia antimicrobiana empírica contribuem para taxas mais elevadas de infecções hospitalares e uma maior participação de microrganismos resistentes aos antimicrobianos (TOUFEN JUNIOR et al., 2003).

A seleção dos antibióticos apropriados no tratamento de infecções por microrganismos resistentes é difícil devido a fatores como: maior frequência de bactérias resistentes ou multiresistentes reduzindo as opções de antibióticos disponíveis, diminuição do desenvolvimento de novos agentes nas últimas duas décadas, disseminação dos microrganismos no ambiente hospitalar, desconhecimento dos novos conceitos de farmacocinética e farmacodinâmica necessários para o uso clínico correto dos agentes antimicrobianos além da complexidade na avaliação “*in vitro*” da susceptibilidade a esses fármacos (SADER;GALES, 2008).

Durante a última década, os esforços para combater os microrganismos multiresistentes estiveram focados principalmente nas bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* resistente a metilina e *Enterococcus* sp. resistente a vancomicina (SCHITO, 2006). Paralelamente, a emergência de bactérias Gram negativas multiresistentes também se tornou um problema significativo como relatado pela “*Infectious Diseases Society of America*”, que aponta como patógenos mais relevantes *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. resistentes as cefalosporinas de terceira geração e *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. resistentes aos carbapenêmicos. Infelizmente, ao contrário do que aconteceu com as bactérias Gram-positivas, nenhuma nova classe de antibióticos foi desenvolvida especificamente para estas bactérias (RUBINSTEIN; VAUGHAN, 2005; GISKE et al., 2008).

Os principais problemas nos hospitais brasileiros são a multiresistência aos antibióticos, observada em frequência cada vez mais elevada em amostras de *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. entre os bacilos Gram negativos (BGN) não

fermentadores e representantes da família Enterobacteriaceae, com destaque para os fenótipos de amostras produtores de ESBL (do inglês, “*extended-spectrum beta-lactamase*”) prevalentes principalmente em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (SADER; GALES, 2008).

As taxas de resistência aos antimicrobianos são extremamente altas entre as amostras de bacilos Gram negativos isolados em hospitais brasileiros que participam do programa “*Antimicrobial Surveillance Program*” (SENTRY), no período de 2003 a 2008. Este programa que monitora amostras de Enterobacteriaceae com susceptibilidade reduzida a carbapenêmicos pela produção de metalo- β -lactamases e serina-carbapenemases, mostrou que os únicos antibióticos com espectro apropriado para terapia de infecções por Enterobacteriaceae são os carbapenêmicos. Todas as amostras de *E. coli* e *K. pneumoniae*, do fenótipo ESBL ou não, e de *Enterobacter* spp. mostraram-se susceptíveis ao imipenem e meropenem (ANDRADE et al., 2008).

A presença do fenótipo ESBL ocorre principalmente em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (PARTESON; BONOMO, 2005), mas também foi detectado em BGN não fermentadores como *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (JACOBY; MUNOZ-PRINCE, 2005). A predominância de *K. pneumoniae* como reservatório dos genes que codificam ESBL ainda não é bem explicado. A capacidade de abrigar plasmídeos associados à multiresistência e a sobrevivência por tempo maior em superfícies ambientais em relação a outras bactérias entéricas, o que facilita a transmissão cruzada dentro dos hospitais, seriam justificativas possíveis (CASEWELL; PHILLIPS, 1981; PARTESON, BONOMO, 2005).

Essas enzimas são classificadas na classe molecular A de Ambler e no grupo funcional 2 de Bush, Jacob e Medeiros, e são caracterizadas pela sua capacidade de hidrolisar oximino- β -lactâmicos (ceftazidima, cefotaxima) e serem inibidas pelo ácido clavulânico (AMBLER; MEADWAY, 1969; BUSH; JACOB; MEDEIROS, 1995). Elas diferenciam-se das enzimas AmpC (classe C, grupo funcional 1) produzida por membros da família Enterobacteriaceae como *Enterobacter cloacae*, que também tem as cefalosporina de terceira geração como seu substrato mas que não são inibidas pelo ácido clavulânico (PARTESON, BONOMO, 2005). As cefalosporinas de quarta geração como cefepime são clinicamente úteis para tratamento de infecções por esse grupo, ao contrário daquelas por microrganismos produtores de ESBL (ZANETTI et al., 2003).

As ESBL são classificadas nas famílias TEM, SHV e CTX-M, as duas primeiras resultantes de mutações pontuais nos genes que codificam as respectivas β -lactamases de pequeno espectro (JACOBY, MUNOZ-PRICE, 2005). Atualmente a família CTX-M é a mais prevalente e já corresponde a mais de 50 tipos de enzimas identificadas com base na sequência de aminoácidos (BONNET, 2004). Os genes responsáveis pela sua expressão estão em plasmídeos conjugativos e são transferidos entre as bactérias (BONNET, 2004). A elevada frequência de resistência a outras classes de antimicrobianos, especialmente fluorquinolonas e aminoglicosídeos parece contribuir para presença cada vez mais significativa de bactérias deste fenótipo (COQUE et al., 2008).

As infecções por *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL são relevantes não somente nos hospitais mas também na comunidade (FALAGAS, KARAGEORGOPOULOS, 2009). Embora a frequência desses microrganismos na comunidade pareça aumentar, a sua natureza hospitalar é bem mais documentada (FALAGAS; KARAGEORGOPOULOS, 2009; VALVERDE et al., 2008). Nos hospitais a maioria dos estudos refere-se à *K. pneumoniae* e as infecções mais frequentes são pneumonias, infecções de sítio cirúrgico, além de infecções de corrente sanguínea e intrabdominais (PITOUT, et al., 2008; CANTON, et al., 2008).

Os fatores de risco para infecções hospitalares por bactérias produtoras de ESBL incluem: tempo prolongado de permanência hospitalar ou na UTI; maior gravidade do quadro clínico; procedimentos invasivos particularmente: ventilação mecânica, administração de nutrição parenteral total, hemodiálise, intervenção cirúrgica e status nutricional precário (JACOBY; MUNOZ-PRINCE, 2005; PFALLER; SEGRETI, 2006). O tempo médio de permanência hospitalar antes do diagnóstico oscila entre 11 e 67 dias dependendo do estudo (DE CHAMPS et al., 1989; DE CHAMPS et al., 1991; ARDANUY et al., 1998; LAUTENBACH et al., 2001; BISSON et al., 2002; PARTESON, BONOMO, 2005). O uso de antibióticos, particularmente de oximino- β -lactâmicos e fluorquinolonas, (DE CHAMPS et al., 1991; WIENER et al., 1999; LAUTENBACH et al., 2001; PARTESON; BONOMO, 2005) constitui um fator de risco adicional importante (PARTESON et al., 1999; AREFFIN et al., 2000; LINCOPAN et al., 2005). As cefalosporinas de terceira geração como ceftazidima, estão associadas com maior isolamento dessas bactérias (ARIFFIN et al., 2000; ASENSIO et al., 2000; AMBROSE et al., 2003; PARTESON; BONOMO, 2005). Adicionalmente, a prescrição de outras classes de antibióticos como

trimetoprim/sulfametoxazol, aminoglicosídeo (ANESIO et al., 2000; LAUTENBACH et al., 2001; PARTESON; BONOMO, 2005) e metronidazol também foram associados com infecções por esses microrganismos (PARTESON; BONOMO, 2005).

Há relatos que infecções por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL estão associadas com aumento de custos, e as infecções de corrente sanguínea apresentam taxas de mortalidade mais altas (SCHAWABER; CARMAELI, 2006; GISKE et al, 2008). A evolução clínica das infecções por amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL comparados com as não produtoras é associado com a terapêutica antimicrobiana inadequada, responsável por uma mortalidade aumentada nesses pacientes (GISKE et al., 2008). Em estudo de metanálise, Schwaber et al (2007) observaram uma taxa de mortalidade significativamente mais alta no grupo que tinha infecção por microrganismos produtores de ESBL.

Embora a prevalência desses microrganismos seja mais alta em pacientes hospitalizados na América Latina e regiões da Ásia/Pacífico do que na América do Norte, e sobretudo na Europa, no Brasil há poucos estudos epidemiológicos que avaliam os fatores de risco, evolução clínica e custos (COQUE et al., 2008; ROSENTHAL et al., 2010).

Em trabalhos realizados em hospitais do país utilizando um modelo de coorte prospectivo, Bellíssimo-Rodrigues et al (2006); Marra et al (2006) relataram que os fatores de risco associados com infecções por amostras de *Klebsiella* spp. produtoras de ESBL foram: idade, uso de ventilação mecânica e cateter vascular central, uso de antibióticos, particularmente de cefalosporina de quarta geração e de fluorquinolonas, presença de mais que duas comorbidades e doença rapidamente fatal. Nessas investigações, a mortalidade hospitalar não foi afetada significativamente nos pacientes infectados com amostras produtoras de ESBL, mas o tempo de hospitalização foi significativamente mais longo nesses pacientes quando comparado com infecção por amostras de microrganismos susceptíveis.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Determinar a ocorrência de amostras produtoras de ESBL em isolados de Enterobacteriaceae, principalmente de *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* a partir de infecções de natureza hospitalar em um hospital de ensino.

2.2. Objetivos Específicos

- Investigar a frequência de amostras produtoras de ESBL entre aquelas resistentes às cefalosporinas de terceira geração;
- Verificar os tipos de infecções mais frequentes por esses microrganismos, bem como as unidades que os pacientes estão internados;
- Analisar o perfil de susceptibilidade às diferentes classes de antimicrobianos;
- Avaliar as diferenças na mortalidade hospitalar nos dois grupos (ESBL vs. não produtores de ESBL);
- Relacionar os fatores de risco para mortalidade hospitalar em 30 dias por amostras produtoras de ESBL.

3. JUSTIFICATIVA

A elaboração deste trabalho levou em consideração a importância que as infecções por microrganismos multiresistentes apresentam dentro do contexto de morbimortalidade e custos em pacientes hospitalizados, assim como a falta de dados microbiológicos e epidemiológicos, principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil.

Avaliar a participação do fenótipo ESBL em amostras de Enterobacteriaceae é de grande relevância uma vez que esse fenótipo é importante e frequente em muitas regiões geográficas considerando sua crescente participação, não só em infecções hospitalares, mas também em infecções comunitárias. Em grande parte devido ao uso pouco judicioso de antibióticos, bem como, a frequência elevada de terapia antimicrobiana empírica inadequada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Hospital

O Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), situado no Triângulo Mineiro, é um hospital de ensino, com 530 leitos, que oferece nível terciário de atendimento.

4.2. Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo de coorte prospectivo incluindo todos os pacientes com infecção por microrganismos da família Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração, detectados através de vigilância ativa no Laboratório de Microbiologia do HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010, considerando somente o primeiro episódio de infecção.

4.3. Definições

- **Infecção Hospitalar:** é aquela que não está presente ou em incubação no momento da admissão do paciente no hospital e que se manifeste até 48 horas após a internação em unidades críticas, ou 72 horas quando se tratava de unidades não críticas, ou após alta, quando relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares (GAMER et al., 1988).

- **Terapia antimicrobiana prévia:** uso de cefalosporinas de terceira, quarta geração e carbapenêmicos no período de 15 dias antes do diagnóstico de infecção (KIVANC et al., 2009).

- **Terapia antimicrobiana inadequada:** administração de um agente antimicrobiano para qual o microrganismo responsável pela infecção é resistente “*in vitro*” (GANG et al., 2004).

- **Mortalidade hospitalar:** no prazo de até 30 dias após o desenvolvimento do diagnóstico de infecção (PEÑA et al., 2008).

- **Microrganismo multiresistente:** microrganismo resistente a três ou mais classes de antibióticos (KIVANC et al., 2009).

4.4. Vigilância Laboratorial de infecções hospitalares

Durante o período de estudo, as amostras de pacientes com infecção hospitalar por representantes da família Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração foram detectadas no Laboratório de Microbiologia do HC-UFU. Uma ficha individual foi preenchida com os dados demográficos, uso de antibióticos, tempo de internação, comorbidades, procedimentos invasivos utilizados e a evolução clínica (alta/óbito no prazo de 30 dias após o diagnóstico da infecção) (Anexo I).

4.5. Técnicas Microbiológicas

As amostras obtidas de pacientes foram processadas e a identificação, testes de sensibilidade e a detecção fenotípica de ESBL foram realizados através do VITEK® 2 (bioMérieux) conforme descrito a seguir.

4.5.1. Identificação das espécies

As amostras bacterianas teste foram suspensas em solução salina 0,45% com objetivo de obter uma suspensão com turbidez compatível com a escala de 0,50 a 0,63 de McFarland utilizando um turbidímetro. Em seguida, os cartões foram inseridos no aparelho e cada teste bioquímico foi preenchido, selado e incubado automaticamente. Durante o período de incubação (7-10 horas) os cartões foram lidos a cada 15 minutos através de um sistema óptico de transmitância usando diferentes comprimentos de onda no espectro visível. Os resultados são analisados pelo software do aparelho através de algoritmos e reportados automaticamente.

4.5.2. Testes de Sensibilidade

As amostras bacterianas teste foram suspensas em solução salina 0,45% com objetivo de obter uma solução com turbidez compatível com a escala de 0,50 a 0,63 de McFarland e em seguida, diluídas conforme as recomendações do fabricante. Os cartões

foram inseridos no aparelho e automaticamente preenchidos com as suspensões bacterianas. No cartão, os antimicrobianos são encontrados em duas a quatro concentrações diferentes. Cada poço com o antibiótico teste é avaliado automaticamente a cada 15 minutos durante 18 horas. Esses dados são usados para gerar uma curva de crescimento e, por comparação com um controle, o MIC (do inglês, “*Minimum Inhibitory Concentration*”) de cada antibiótico é estimado. Esse cálculo é realizado com um algoritmo específico para cada antimicrobiano independente da espécie do microrganismo.

4.5.3. Detecção de ESBL

Amostras com sensibilidade reduzida às cefalosporinas de terceira geração foram avaliadas para verificar a presença de ESBL. No mesmo cartão utilizado para o antibiograma, existem poços contendo os antimicrobianos Cefepime 1.0 µg/ml; Cefotaxima 0.5 µg/ml e Ceftazidima 0.5 µg/ml sozinhos e associados ao ácido clavulânico nas seguintes concentrações: Cefepime/Ácido clavulânico 1.0 / 10 µg/ml, Cefotaxima/Ácido clavulânico 0.5 / 4.0 µg/ml, Ceftazidima/Ácido clavulânico 0.5 / 4.0 µg/ml. O crescimento foi avaliado quantitativamente utilizando um leitor óptico como descrito anteriormente. A diferença de crescimento nos poços que contêm a associação do antimicrobiano β-lactâmico com o inibidor de β-lactamase, quando comparada com aqueles que contêm somente o antimicrobiano β-lactâmico é indicativo da produção de ESBL.

4.6. Comitê de ética

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia sob o número de protocolo 224/09 (ANEXO II).

4.7. Análise Estatística

Os preditores de mortalidade foram avaliados individualmente contra uma variável resposta (análise univariada) através de tabelas de contingência do tipo dois por dois (2 x 2) 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. Para

comparar as médias foram utilizados os testes *t* de *Student* ou U de Mann Whitney, quando apropriado. Os fatores preditores de mortalidade significativos na análise univariada foram avaliados através de análise multivariada por meio de regressão logística múltipla. A curva de sobrevivência foi desenhada usando estimativa de Kaplan-Meier e comparada com o teste de Gehan-Breslow Wilcoxon. A significância estatística foi definida por um valor de $P \leq 0,05$ utilizando os programas estatísticos Graph Pad Prism 4, Epi Info Software versão 2000 e Bioestat 5.0.

5. RESULTADOS

No período de junho de 2009 a março de 2010, foram identificadas no laboratório de microbiologia do HC-UFU, 1783 episódios de infecções por amostras de Enterobacteriaceae correspondendo a 53,4% por *E. coli* e 17,6% por *K. pneumoniae* (Tabela 1).

Tabela 1: Infecções hospitalares por Enterobacteriaceae no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.

Espécie	N= 1783	%
<i>Escherichia coli</i>	953	53,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	313	17,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	116	6,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	28	1,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	20	1,1
Outras	353	19,7

No total, 184 (10,3%) destas amostras apresentaram-se resistentes às cefalosporinas de terceira geração, na sua maioria (65,2%) produtoras de ESBL. Os isolados produtores de ESBL foram mais frequentes entre *K. pneumoniae* (87,1%) e *E. coli* (79,1%) (Tabela 2).

Tabela 2: Relação de amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL e resistentes a cefalosporinas de terceira geração, recuperadas no período de junho de 2009 a março de 2010.

Microrganismo	ESBL n= 120 (%)	Não ESBL n= 64 (%)
<i>K. pneumoniae</i> (n= 93)	81 (87,1)	12 (12,9)
<i>E. coli</i> (n = 48)	38 (79,1)	10 (20,8)
<i>Enterobacter</i> spp. (n = 27)	1 (3,7)	26 (96,3)
Outros (n = 16)	-	16 (100,0)

As infecções do trato urinário (36,4%) e de corrente sanguínea (36,4%) foram as mais frequentes tanto para amostras produtoras de ESBL quanto para as amostras não produtoras (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição das Infecções Hospitalares produtoras e não de ESBL por sítio anatômico em pacientes internados no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.

Sítio Anatômico	ESBL n= 120 (%)	Não ESBL n= 64 (%)	Total n= 184 (%)
Corrente Sanguínea	38 (31,6)	29 (45,3)	67 (36,4)
Trato Urinário	47 (39,1)	20 (31,2)	67 (36,4)
Pulmão	16 (13,3)	4 (6,2)	20 (10,8)
Sítio Cirúrgico	19 (15,8)	10 (15,6)	29 (15,7)
Outras ¹	-	1 (1,5)	1 (0,5)

¹ Meningite

A distribuição de infecções hospitalares por Enterobacteriaceae produtoras de ESBL por unidade hospitalar está representada na tabela 4. Observa-se que apenas 11,6% dos pacientes estavam internados na UTI. Os demais estavam internados nas Clínicas Cirúrgicas (27,5 %), Clínica Médica (21,6%) e outras clínicas (39,1%).

Tabela 4: Distribuição de infecções hospitalares de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL por unidades, em pacientes internados no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.

Microrganismo	UTI¹ n= 14	Cirúrgica n= 33	Clínica Médica n= 26	Outras n= 47	Total n=120
<i>K. pneumoniae</i> n= 81	12 (14,8)	22 (27,1)	18 (22,2)	29 (35,8)	81(100,0)
<i>E. coli</i> n= 38	1 (2,6)	11 (28,9)	8 (21,0)	18 (47,3)	38 (100,0)
Outros n=1	1 (100,0)	-	-	-	1 (100,0)

¹ Unidade de Terapia Intensiva

No grupo de amostras produtoras de ESBL, a maioria (98,3%) foi resistente à cefepime e susceptível à cefoxitina (81,3%) com 48,3% apresentando-se como multiresistentes. Entre aquelas não ESBL, 54,0% foram resistentes à cefoxitina, 40,7% susceptíveis à cefepime e 37,5% multiresistentes (Tabela 5).

Tabela 5: Frequência de resistência a cefepime, ceftioxa e multiresistência entre os isolados de Enterobacteriaceae produtoras e não de ESBL.

Microrganismo	ESBL			Não ESBL		
	n=120			n=64		
	Cefepime n=120(%)*	Ceftioxa n=48 (%)*	MR n=120 (%)*	Cefepime n=64 (%)*	Ceftioxa n=37 (%)*	MR n=64 (%)*
<i>K. pneumoniae</i>	81 (67,5)	5 (10,4)	48 (40,0)	9 (14,0)	2 (5,4)	6 (25,0)
<i>E. coli</i>	36 (30,0)	4 (8,3)	10 (8,3)	9 (14,0)	1 (2,7)	3 (12,5)
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (0,8)	-	-	18(28,1)	15 (40,5)	13 (54,1)
Outros	-	-	-	2 (3,1)	2 (5,4)	2 (8,3)
Total	118 (98,3)	9 (18,7)	58 (48,3)	38 (59,3)	20 (54,0)	24 (37,5)

*Número de isolados testados para cada antibiótico

As frequências de resistência aos antibióticos testados “*in vitro*” nos isolados de Enterobacteriaceae produtores e não produtores de ESBL estão descritas na tabela 6. Entre os antibióticos analisados, a susceptibilidade integral só foi encontrada frente à Amicacina e Imipenem. A resistência à cefepime foi constatada nos dois grupos, entretanto mais alta entre as amostras produtoras de ESBL. A resistência as fluorquinolonas também foi mais alta no primeiro grupo (56,6%) vs. (31,2%), ao contrário da resistência a aminoglicosídeos que foi semelhante (40,8%) vs. (35,9%).

Tabela 6: Frequências de resistência aos antibióticos entre os isolados de Enterobacteriaceae produtores e não de ESBL.

	ESBL			Não ESBL			
	<i>K. pneumoniae</i> n= 81 (%)	<i>E. coli</i> n=38 (%)	Outras n=1(%)	<i>K. pneumoniae</i> n=12 (%)	<i>E. coli</i> n=10 (%)	<i>Enterobacter</i> spp. n=26 (%)	Outras n=16 (%)
AMI ¹	0	0	0	0	0	0	0
APS ²	79 (97,5)	34 (89,4)	1 (100,0)	5 (41,6)	10 (100,0)	17 (65,3)	16 (100,0)
CFZ ³	81(100,0)	31 (81,5)	1 (100,0)	7 (58,3)	10 (100,0)	23 (88,4)	16 (100,0)
CTX ⁴	81 (100,0)	38 (100,0)	1 (100,0)	12 (100,0)	10 (100,0)	26 (100,0)	16 (100,0)
CPM ⁵	81 (100,0)	36 (94,7)	1 (100,0)	9 (75,0)	9 (90,0)	18 (69,2)	2 (12,5)
GEN ⁶	44 (54,3)	5 (13,1)	0	4 (33,3)	3 (30,0)	9 (34,6)	7 (43,7)
LEV ⁷	50 (61,7)	18 (47,3)	0	4 (33,3)	2 (20,0)	8 (30,7)	6 (37,5)
IMI ⁸	0	0	0	0	0	0	0

¹Amicacina, ² Ampicilina/subactam, ³Cefazolina, ⁴Cefotaxima, ⁵ Cefepime, ⁶ Gentamicina, ⁷ Levofloxacina, ⁸ Imipenem.

A análise da mortalidade hospitalar no período de 30 dias usando a estimativa de Kaplan-Meier mostrou que pacientes infectados por amostras produtoras de ESBL apresentaram taxa de mortalidade significativamente maior do que pacientes infectados pelas não produtoras de ESBL ($P=0.03$) (Figura 1).

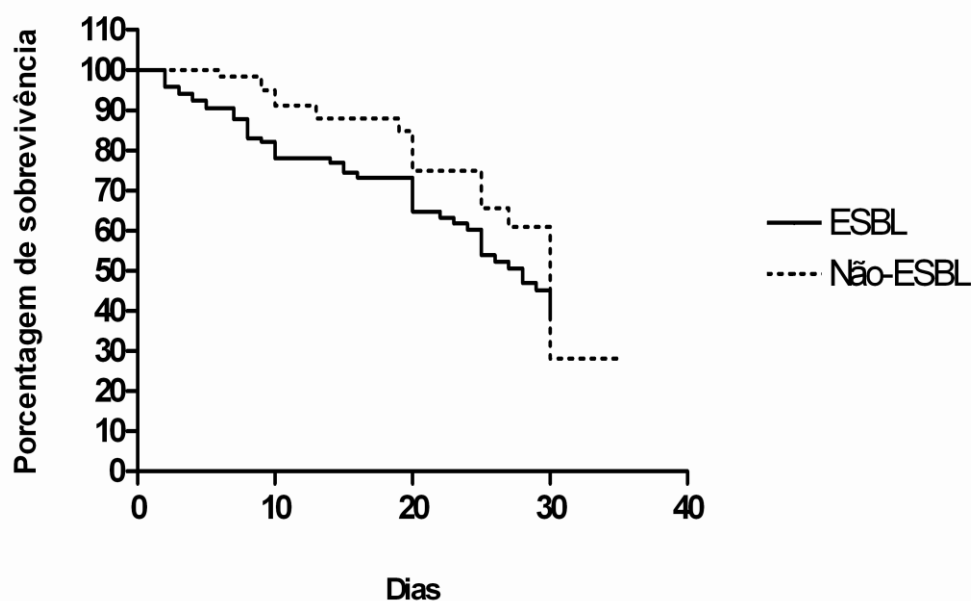


Figura 1: Curva de sobrevivência de infecções por membros da família Enterobacteriaceae produtores de ESBL e não produtores de ESBL. Curva preparada usando estimativa de Kaplan-Meier e comparada usando o teste de Gehan-Breslow Wilcoxon (Chi-square= 4,551, $P= 0,03$).

As características demográficas, clínicas e a evolução dos pacientes com infecção hospitalar por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL são apresentadas na tabela 7. No total, foram incluídos 111 pacientes, sendo que nove foram excluídos por falta de dados nos prontuários. A maioria dos pacientes era do gênero masculino (55,0%) com uma média de idade 51,1 anos, com variação 1-91 anos. A cardiopatia (40,5%) foi a comorbidade mais comum, seguida de nefropatia (29,7%) e diabetes mellitus (22,5%). Os pacientes foram internados durante uma média de tempo de 40,5 dias. A frequência de pacientes em uso prévio de cefalosporinas de terceira geração foi elevada (59,4%) e a taxa de mortalidade hospitalar em 30 dias foi de 36,9%.

Tabela 7: Características dos pacientes com infecção por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL internados no HC-UFU, no período de junho de 2009 a março de 2010.

Características	ESBL N= 111 (%)
Idade (média/anos/variação)	51,1 (1-91)
Gênero	
-masculino	61 (55,0)
-feminino	50 (45,0)
Tempo internação (média/dias/variação)	
-Total	40,5 (2-244)
-UTI ¹	19,6 (2-78)
-Antes isolamento	18,9 (2-80)
Comorbidades	
-Cardiopatía	45 (40,5)
-DPOC ²	15 (13,5)
-Nefropatia	33 (29,7)
-Malignidade	21 (18,9)
-Diabetes mellitus	25 (22,5)
-Doença hepática	6 (5,4)
Uso Prévio de Antibiótico	
-Cefalosporina de 3 ^a /4 ^a	66 (59,4)
-Carbapenêmicos	21 (18,9)
Procedimentos invasivos	
-Ventilação mecânica	59 (53,1)
-Cateter Venoso Central	70 (63,0)
- Sonda vesical	63 (56,7)
-Sonda Nasogástrica	59 (53,1)
-Dreno	14 (12,6)
-Traqueostomia	29 (26,1)
Tratamento Empírico	
-Adequado	68 (61,2)
-Inadequado	43 (38,7)
Prognóstico	
-Alta	70 (63,0)
-Óbito	41 (36,9)

¹ Unidade de Terapia Intensiva, ² Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Os fatores de risco para mortalidade hospitalar entre os pacientes com infecções causadas por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL estão apresentados na tabela 8. As variáveis associadas significativamente por análise univariada com a

mortalidade foram: idade, neoplasia, diabetes mellitus, cirurgia prévia, microrganismos multiresistentes, presença de sonda nasogástrica e terapêutica empírica inadequada.

Tabela 8: Fatores de risco para mortalidade hospitalar em 111 pacientes com infecção por Enterobacteriaceae produtora de ESBL.

Características	Evolução		P	OR
	Óbito (n=41) N (%)	Alta (n=70) N (%)		
Idade (média/anos/variação)	58,0 (1-89)	46,0 (1-85)	0,006	-
Gênero				
-masculino	21 (51,2)	40 (57,1)	0,68	0,79 (0,34-1,83)
-feminino	20 (48,8)	30 (42,9)		
Tempo de internação (média/dias/variação)				
-Total	42,22 (4-244)	40,56 (41-114)	0,07	-
-UTI ¹	24,41(5-79)	17,51 (3-60)	0,44	-
-Antes isolamento	24,12 (3-78)	20,72(3-73)	0,13	-
Comorbidades				
-Cardiopatía	19 (46,3)	26 (37,1)	0,45	1,46 (0,62-3,44)
-DPOC ²	9 (21,9)	6 (8,5)	0,08	3 (0,87-10,56)
-Nefropatia	15 (36,5)	18 (25,7)	0,32	1,67 (0,67-4,15)
-Neoplasia	15 (36,5)	6 (8,5)	<0,001	6,15 (1,95-20,21)
-Diabetes mellitus	17 (41,4)	8 (11,4)	<0,001	5,49 (1,91-16,17)
-Doença hepática	3 (7,3)	3 (4,2)	0,66	1,76 (0,27-11,67)
Procedimentos invasivos				
-Ventilação mecânica	27 (65,8)	32 (45,7)	0,06	2,29 (0,96-5,52)
-Cateter Venoso Central	28 (68,3)	42 (60,0)	0,50	1,44 (0,59-3,51)
- Sonda vesical	27(65,5)	36 (51,4)	0,19	1,82 (0,76-4,38)
-Sonda Nasogástrica	28 (68,3)	31 (44,2)	0,02	2,71 (1,12-6,61)
-Dreno	4 (9,7)	10 (24,4)	0,69	0,65 (0,16-2,48)
-Traqueostomia	12 (29,2)	17 (24,2)	0,72	1,29 (0,50-3,34)
Infecção de Corrente Sanguínea	19 (46,3)	19 (27,1)	0,06	2,32 (0,96-5,65)
Microrganismos multiresistentes	34 (82,9)	24 (34,2)	<0,001	9,31 (3,31-27,19)
Cirurgia prévia	19 (46,3)	13 (18,5)	<0,001	3,79 (1,48-9,83)
Tratamento Empírico				
-Adequado	13 (31,7)	55 (78,5)	<0,001	7,90 (3,05-20,90)
-Inadequado	28 (68,3)	15 (21,5)		

¹Unidade de Terapia Intensiva; ²Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Quando da análise multivariada, os preditores independentes para a mortalidade foram apenas neoplasia (OR 7,86 IC95% 2,25-27,49, $P = 0,001$) e terapia empírica inadequada (OR 2,92, IC 95% 1,13-7,52, $P = 0,02$) (Tabela 9).

Tabela 9: Regressão Logística Múltipla dos fatores de risco para mortalidade por infecções por Enterobacteriaceae produtora de ESBL.

Fator de Risco	P	OR (IC 95%)
Comorbidades		
Neoplasia	0.001	7.86 (2.25-27.49)
Diabetes Mellitus	0.86	1.10 (0.36 - 3.35)
Procedimentos invasivos		
Sonda nasogátrica	0.27	1.70 (0.66 - 4.41)
Cirurgia Prévia	0.36	0.61 (0.21 - 1.76)
Microrganismo multiresistente	0.52	0.74 (0.30 - 1.85)
Tratamento empírico inadequado	0.02	2.92 (1.13 - 7.52)

As justificativas para terapia antimicrobiana empírica inadequada estão representadas na tabela 10. A maioria dos pacientes (62,8%) fez uso de antibiótico para os quais o microrganismo era resistente “*in vitro*” e 37,2% não recebeu terapia antimicrobiana nas primeiras 24 horas.

Tabela 10: Justificativas para terapia antimicrobiana empírica inadequada.

Justificativas	Número de pacientes		
	<i>E. coli</i> n=12 (%)	<i>K. pneumoniae</i> n=31 (%)	Total n= 43 (%)
Monoterapia (Resistência à droga)	5 (41,7)	13 (42,0)	18 (41,8)
Terapia Combinada (Resistências às drogas)	2 (16,6)	7 (22,5)	9 (21,0)
Sem Terapia ± 24 horas	5 (41,7)	11 (35,5)	16 (37,2)

6. DISCUSSÃO

A emergência e disseminação de resistência aos β -lactâmicos em amostras de Enterobacteriaceae e outros BGN como *P. aeruginosa* e *A. baumannii* tornou-se um grave problema hospitalar, em virtude do aumento na resistência às cefalosporinas de terceira e quarta geração nos últimos 15 anos (PFEIFER et al., 2010). Atualmente a vigilância epidemiológica de microrganismos resistentes é uma preocupação internacional, destacando-se, por exemplo, os sistemas “*Tigecycline Evaluation Surveillance Trial*” (TEST) (HAWKEY; FINCH, 2007), “*Antimicrobial Surveillance Program*” (SENTRY) (PFALLER et al., 1999), “*European Antimicrobial Resistance Surveillance System*” (EARSS) (COQUE et al., 2008), “*Study Monitoring Antimicrobial Resistance Trends*” (SMART) (BOCHICCHIO et al., 2006), “*Meropenem Yearly Susceptibility Test Collection*” (MYSTIC) (TURNER, 2008) e “*National Nosocomial Infections Surveillance/National Healthcare Safety Network*” (NNIS/NHSN) (CDC/NISS, 2004) voltado para unidades de terapia intensiva.

Nos hospitais/UTI incluídos no sistema NNIS/NHSN as frequências de resistência à cefalosporina de terceira geração para amostras de *E. coli* (5,8%), *K. pneumoniae* (20,6%) e *Enterobacter* spp. (31,1%) em infecções hospitalares vem aumentando (CDC/NISS, 2004). Na Europa, o último relatório do Sistema de Vigilância de Resistência Antimicrobiana (EARSS), incluindo 800 laboratórios em 31 países, mostrou ocorrência superior a 10% de isolados de *K. pneumoniae* e *E. coli* resistentes às cefalosporinas de terceira geração na metade dos países (COQUE et al., 2008). Nossos resultados evidenciaram que cerca de 10% das amostras de Enterobacteriaceae foram resistentes às cefalosporinas de terceira geração, representadas em ordem decrescente por *K. pneumoniae* (29,7%), *Enterobacter* spp. (18,7%) e *E. coli* (5,0%).

O principal mecanismo desta resistência é a produção de enzimas ESBL classificadas na classe A (serina- β -lactamases) de Ambler com atividade contra cefalosporinas, penicilinas, β -lactâmicos/inibidores de β -lactamases (PFEIFER et al., 2010). Entretanto, a presença da enzima AmpC, expressa por genes cromossomais ou plasmidiais, da classe C de Ambler, embora menos difundida, também está presente nos hospitais de diferentes regiões geográficas (JACOBY, 2009). Esses achados foram observados em nossos resultados, com a maioria 65,2% das amostras resistentes à cefalosporinas de terceira geração como produtoras de ESBL.

Há uma diferença geográfica na ocorrência de ESBL nos diferentes países, assim como entre os hospitais (BABINI, LIVERMORE, 2000). A sua presença foi relatada em 30 a 60% das amostras de *Klebsiella* spp. em pacientes internados em unidades críticas no Brasil, Colômbia e Venezuela (SADER et al, 1998; PFALLER et al, 1999;. MENDES et al. , 2000; SADER et al, 2000;. OTMAN et al, 2002). Em um estudo recente, Reinert et al (2007), comparando amostras coletadas em hospitais de diferentes regiões geográficas, encontrou as seguintes frequências de produção de ESBL para *K. pneumoniae* e *E. coli*, respectivamente: América Latina (44,0% e 13,5%), Ásia/Pacífico (22,4% e 12,0%), Europa (13,3% e 7,6%) e América do Norte (7,5% e 2,2%). Em avaliação semelhante realizada na Europa no período de 2004 a 2007, a taxa de produção de ESBL entre os isolados de *K. pneumoniae* e *E. coli* foi de 15,5% e 9,8% respectivamente (HACKEL et al., 2008), com marcantes diferenças entre os países, com proporção mais alta na Grécia e mais baixa na Dinamarca. Em um estudo multicêntrico realizado no país, através do sistema de vigilância SENTRY, utilizando 3728 amostras provenientes de 12 hospitais localizados em quatro estados, observou-se que 8,9% das amostras de *E. coli* e 48,4% das amostras de *K. pneumoniae* foram produtoras de ESBL (SADER et al., 2001). Os dados obtidos no nosso estudo evidenciaram uma maior associação deste mecanismo com amostras de *K. pneumoniae* (24,3%) do que de *E.coli* (3,9%), taxas mais baixas do que as referidas anteriormente para hospitais no Brasil e na América Latina.

O fenótipo AmpC está associado à membros da família Enterobacteriaceae, incluindo amostras de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* e *Enterobacter cloacae* e *Enterobacter aerogenes* (BAUERNDIEND, et el., 1998; JACOBY,2009). Uma diferença importante entre as amostras de ESBL e AmpC é que aquelas que expressam apenas β -lactamases AmpC frequentemente permanecem suscetíveis às “advanced-spectrum cephalosporins”(ASCs), tais, como cefepime e cefpiroma e são resistentes às cefamicinas, tais como, cefoxitina e cefotetan ao contrário das amostras do fenótipo ESBL (REEVES et al., 1993; JONES et al., 1994; SADER et al., 1994; JONES et al., 2003; PATERSON, 2006) o que pode ser importante para os clínicos na avaliação da terapêutica de infecções por bacilos Gram-negativos (TENOVER et al., 2009). Entretanto, as amostras de Enterobacteriaceae podem exibir resistência a todas cefalosporinas pela coexistência dos dois grupos de enzimas (AmpC e ESBL) assim como pelo desenvolvimento de mutantes deficientes de porinas responsáveis pela penetração de cefamicinas na célula bacteriana (PATERSON, 2006).

Nessa investigação não foram realizados testes para detecção do fenótipo AmpC, mas no grupo não ESBL, 54,0% das amostras eram resistentes à cefoxitina e 40,7% susceptíveis à cefepima, enquanto entre aquelas do grupo ESBL estas frequências foram de 18,7% de resistência à cefoxitina e 1,7% de susceptibilidade ao cefepime.

Bacilos Gram-negativos da família Enterobacteriaceae são importantes causas de infecções hospitalares, destacando-se aquelas de trato urinário, corrente sanguínea, intra-abdominais e pneumonias. *E. coli* é o principal agente de infecções do trato urinário, enquanto *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. são importantes causas de pneumonias (PATERSON, 2006). Entretanto, há variações importantes nestas participações. No nosso inquérito, por exemplo, verificamos uma predominância de infecções do trato urinário e de corrente sanguínea causadas por essas espécies, considerando ainda grande participação de amostras produtoras de ESBL entre aquelas resistentes a cefalosporinas de terceira geração.

No Brasil, a maioria dos estudos epidemiológicos sobre pacientes infectados por amostras produtoras de ESBL referem-se a unidades de terapia intensiva (>50%). Nosso estudo ao contrário, mostrou uma maior ocorrência (88,3%) desses pacientes internados em unidades não críticas do que na unidade de terapia intensiva (11,6%).

Há poucos estudos epidemiológicos brasileiros sobre infecções de corrente sanguínea e trato urinário de natureza hospitalar por amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL. Esses trabalhos incluem os realizados em hospitais universitários de nível terciário em Ribeirão Preto (BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2006), São Paulo (MARRA et al., 2006) e Porto Alegre (SUPERTI et al., 2009). Nesses estudos, os fatores de risco independentemente associados com infecções por amostras produtoras de ESBL incluíram: idade, doença grave (MARRA et al., 2006), exposição à ventilação mecânica, uso de cateter venoso central e prescrição de agente antimicrobiano (MARRA et al., 2006 ; BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2006), particularmente, oximino- β -lactâmicos, cefalosporinas de 4^a geração, piperacilina-tazobactam e quinolonas (MARRA et al., 2006 ; BELLISSIMO-RODRIGUES et al., 2006).

Entre os pacientes com maior risco de colonização e infecção por microrganismos produtores de ESBL estão aqueles com quadro clínico mais grave, internação prolongada, em uso de procedimentos invasivos como cateter urinário, tubo endotraqueal e cateter venoso central. O tempo médio de permanência hospitalar antes do isolamento de uma amostra produtora de ESBL varia de 11 a 67 dias, dependendo do

estudo (ASENSIO et al., 2000; LAUTENBACH et al., 2001; BISSON et al., 2002). Outros fatores de risco relatados incluem: sonda nasogástrica (ASENSIO et al., 2000), nutrição enteral (DUMARCHE et al., 2002) parenteral total (PENA et al., 1997), cirurgia recente (DE CHAMPS et al., 1991), hemodiálise (D'AGATA et al., 1998), úlceras de pressão (WIENER et al., 1999) e estado nutricional (MANGENEY et al., 2000). O uso de antibióticos também é considerada fator de risco para aquisição de microrganismos produtores de ESBL (ARIFFIN et al., 2000; LAUTENBACH et al., 2001), de forma especial cefalosporinas de terceira geração (ARIFFIN et al., 2000; LAUTENBACH et al., 2001; DU et al., 2002, EVEILLARD et al., 2002). O uso de fluorquinolonas (WIENER et al., 1999; LAUTENBACH et al., 2001), sulfametoxazol-trimetoprim (WIENER et al., 1999; LAUTENBACH et al., 2001), aminoglicosídeos (ASENSIO et al., 2000; ; LAUTENBACH et al., 2001) e metronidazol (LAUTENBACH et al., 2001) também foi associado à infecções por microrganismos produtores de ESBL.

Estudos têm demonstrado uma maior mortalidade em pacientes com infecções por amostras de Enterobacteriaceae produtoras de ESBL do que naqueles infectados por amostras susceptíveis. Cordery et al (2008), Superti et al (2008), em estudos com amostras de infecção de corrente sanguínea, relataram uma mortalidade maior nos pacientes infectados por amostras produtoras de ESBL em relação aquelas não produtoras, entretanto sem diferenças significativas. No nosso estudo, comparamos a mortalidade hospitalar em 30 dias entre pacientes infectados por amostras produtoras de ESBL e não produtores e encontramos pela análise de Kaplan-Meier uma frequência maior no primeiro grupo (41,6%), com diferença significativa ($P=0,03$).

Os fatores de risco para mortalidade em pacientes com isolados clínicos de *E. coli* e *K. pneumoniae* produtores de ESBL têm sido identificados em vários estudos (CORDERY, et al., 2008; SUPERTI, et al., 2008) e incluem: presença de dispositivo invasivo, ventilação mecânica, uso prévio de antibióticos, terapêutica empírica inadequada, tempo de permanência na UTI e antes do diagnóstico de infecção e internação hospitalar prévia (HO et al., 2002; MULVEY et al., 2004; PEÑA, et al., 2008). Em nosso estudo, os fatores de risco significativamente associados à mortalidade por meio de análise univariada foram similares aos já descritos e incluíram: idade, neoplasia, diabetes mellitus, cirurgia prévia, infecção por microrganismo multiresistente, cateter nasogástrico e terapêutica antibiótica empírica inadequada. Na

análise multivariada, os fatores de risco independentes incluíram apenas: neoplasia e terapia empírica inadequada.

A alta frequência de resistência múltipla aos antibióticos nas amostras produtoras de ESBL limita muito a possibilidade de administrar uma terapia empírica adequada nestes pacientes (PEÑA et al., 2008). Um fator importante na escolha do antibiótico contra esses microrganismos é a frequente coexpressão de resistência a outras classes de antibióticos incluindo fluorquinolonas, aminoglicosídeos, tetraciclina, excluindo as glicociclina e sulfametoxazol/trimetoprim (COQUE et al., 2008; FALAGAS, KARAGEORGOPOULOS, 2009). Estudos têm demonstrado que a escolha da terapia empírica inicial parece ter um papel importante no prognóstico desses pacientes. Em nosso estudo, em 120 pacientes com infecção hospitalar por amostras *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL, 58 (48,3%) foram causadas por cepas multiresistentes. O tratamento antimicrobiano empírico foi inadequado em cerca de 40,0% dos pacientes e fator de risco independente para a mortalidade em 30 dias (OR 2,92, IC 95% 1,13-7,52, $P = 0,02$). Os carbapenêmicos permanecem ativos “*in vitro*” e sua utilização está sendo associada à baixa mortalidade em infecções graves causadas por esses patógenos, mas a emergência de *K. pneumoniae* com produção de carbapenemase (KPC) representa uma ameaça ao sucesso terapêutico desses antibióticos (PATERSON, 2000; WONG-BERINGER, 2001; NORDMAN, CUZON, 2009). Dessa forma, a elaboração de esquemas de tratamento empírico adequado é um desafio permanente já que a bactéria é capaz de modificar seus mecanismos de resistência num mesmo paciente em momentos diferentes ao longo do tratamento.

A literatura é carente de estudos avaliando a evolução clínica dos pacientes em relação à terapia antimicrobiana empírica inadequada nas infecções hospitalares (CHAUBEY et al. 2010). No entanto, alguns trabalhos demonstram que a terapia empírica inadequada está relacionada a um aumento na taxa de mortalidade (LEIBOVICI et al., 1998; BYL et al., 1999; IBRAHIM et al., 2000; PATERSON et al., 2001). Tumbarello et al (2008), avaliando os fatores de risco para o tratamento antimicrobiano empírico inadequado em bacteremia causada por amostras produtoras de ESBL, demonstrou que 43,4% dos pacientes receberam a terapia inadequada o que foi fortemente relacionado com a mortalidade em 21 dias. Nossos resultados mostraram alta taxa de terapia antimicrobiana empírica inadequada associada com risco de morte.

Existem várias limitações no presente estudo que merecem ser mencionadas. Primeiro, o estudo foi realizado em um único hospital terciário, portanto não se deve

generalizar os resultados para outras instituições. Em segundo lugar, tivemos uma amostra relativamente pequena, reduzindo o poder estatístico do estudo. Embora haja evidência de uma associação estatisticamente significativa entre a terapia antimicrobiana inadequada e mortalidade, nós não fomos capazes de documentar uma clara associação. Em terceiro lugar, a informação sobre a condição e a severidade da doença de base (por exemplo, o escore APACHE II) não estava disponível e a seleção da resposta à terapia antimicrobiana pode ter sido influenciada pela condição do paciente.

7. CONCLUSÕES

- Os resultados documentam a ocorrência de 10,3% das infecções hospitalares por amostras de Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração neste hospital, com 65,2% produtoras de ESBL representadas por *K. pneumoniae* e *E. coli*;
- As infecções mais frequentes foram do trato urinário e de corrente sanguínea;
- A maioria dos pacientes (88,4%) estava internados em unidades não-críticas;
- A resistência a cefepima e a ciprofloxacina foi mais frequente nas amostras do fenótipo ESBL do que nas amostras não ESBL, ao contrário do que observado para os aminoglicosídeos;
- No total, a mortalidade observada nesse grupo foi alta e estatisticamente maior do que a observada no grupo com infecções por amostras não ESBL;
- Neoplasia e terapia antimicrobiana empírica inadequada foram fatores de risco independentes para mortalidade hospitalar em pacientes infectados por *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL.

8. REFERÊNCIAS

AMBLER, R. P.; MEADWAY, R. J. Chemical structure of bacterial penicillinases. **Nature**, v. 222, p. 24-26, 1969.

AMBROSE, P. G.; BHAYNANI, S. M.; JONES, R. N. Pharmacokineticspharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, p. 1643–1646, 2003.

ANDRADE, S. S.; SADER, H. S.; BARTH, J. R.; ZOCCOLI, C.; PIGNATARI, A. C.; GALES, A. C. Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacilli Isolated in Brazilian Hospitals Participating in the SENTRY Program (2003-2008). **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.12, p. 3-9, 2008.

ARDANUY, C. J.; LINARES, M. A.; DOMINGUEZ, S. HERNANDEZ-ALLES, V. J.; BENEDI, L. Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, p. 1636–1640, 1998.

AREFFIN, H.; NAVARATNAM, P.; MOHAMED, M.; ARASU, A.; ABDULLAH, W. A.; LEE, C. L.; PENG, L. H. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in children with febrile neutropenia. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 4, p. 21–25, 2000.

ASENSIO, A. A.; OLIVER, P.; GONZALEZ-DIEGO, F.; BAQUERO, J. C.; PEREZ-DIAZ, P.; ROS, J.; COBO, M.; PALACIOS, D.; LASHERAS, D.; CANTON, R. . Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. **Clinical Infections Disease**, v. 30, p. 55–60, 2000.

BABINI, G. S.; LIVERMORE, D. M. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997–1998. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v. 45, p. 183–189, 2000.

BAUERNFEIND, A.; CHONG, Y.; LEE, K. Plasmid-encoded AmpC beta-lactamases: How far have we gone 10 years after the discovery? **Yonsei Medical Journal**, v. 39, p. 520-525, 1998.

BELLÍSSIMO- RODRIGUES, F.; GOMES, A. C. F.; PASSOS, A. D. C.; ACHACAR, J. A.; PERDONÁ, G. S. C.; MARTINEZ, R. Clinical outcome and risk factors related to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella* spp. infection among hospitalized patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 4, p. 415-421, 2006.

BISSON, G.; FISHAMAN, N. O.; PATEL, J. B. EDELSTEIN, P. H. LAUTENBACH, E. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 23, p. 254–260, 2002.

BOCHICCHIO, G. V.; BAQUERO, F.; HSUEH, P. R.; PATERSON, D. L.; ROSSI, F.; SNYDER, T. A.; MCCARROLL, K.; SATISHCHANDRAN, V.; DINUBILE, M. J.; CHOW, J. W. In Vitro Susceptibilities of *Escherichia coli* Isolated from Patients with Intra-Abdominal Infections Worldwide in 2002–2004: Results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). **Surgical Infections**, v. 7, n. 6, p.537-545, 2006.

BONNET, R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 48, p. 1-14, 2004.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional Classification scheme for β -lactamase and correlation with molecular structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. n. 39, p.1211-1233,1995.

BYL, B.; CLEVENBERGH, P.; JACOBS, F.; STRUELENS, M. J.; ZECH, F.; KENTOS, A.; THYS, J. P. Impact of infectious diseases specialists and microbiological data on the appropriateness of antimicrobial therapy for bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 29, n. 1, p. 60-66, 1999.

CANTON, R.; NOVAES, A. VALVERDE, A. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 144-153, 2008.

CASEWELL, M. W.; PHILLIPS, I. Aspects of the plasmid-mediated antibiotic resistance and epidemiology of *Klebsiella* species. **The American Journal of Medicine**, v. 70, p. 459–462, 1981.

CHAUBEY, V. P.; PITOUT, J. D. D.; DALTON, B.; ROSS, T.; CHURCH, D. L.; GREGSON, D. B.; LAUPLAND, K. B.; REICPOARTL, S. Clinical outcome of empiric antimicrobial therapy of bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **BMC Research Notes**, v. 3, p. 2-7, 2010.

COQUE, T. M.; BAQUERO, F.; CANTON, R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europa, **Eurosurveillance**, v. 13, p. 1-11, 2008.

CORDEY, R. J.; ROBERTS, C. H.; COOPER, S. J.; BELLINGHAN, G.; SHETTY, N. Evaluation of risk factors for the acquisition of bloodstream infections with extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the intensive care unit; antibiotic management and clinical outcome. **Journal of Hospital Infection**, v. 68, p. 108-115, 2008.

D'AGATA, E.; VENKATARAMAN, L.; DEGIROLMI, P.; WEIGEL, L.; SAMORE, M.; TENOVER, F. The molecular and clinical epidemiology of Enterobacteriaceae-producing extended-spectrum beta-lactamase in a tertiary care hospital. **Journal of Infection**, v. 36, p. 279–285, 1998.

DE CHAMPS, C., ROUBY, D.; GUELON, D.; SIROT, J.; SIROT, D.; BEYTOUT, D.; GOURGAND, J. M. A case-control study of an outbreak of infections caused by *Klebsiella pneumoniae* strains producing CTX-1 (TEM-3) beta-lactamase. **Journal of Hospital Infection**, v. 18, p. 5–13, 1991.

DE CHAMPS, C.; SAUVANT, M. P.; CHANAL, C.; SIROT, D.; GAZUY, N.; MALTHURET, R.; BAGUET J. C.; SIROT, J. Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, p.2887–2890, 1989.

DE CHAMPS, C.; SIROT, D.; CHANAL, C.; POUPART, M. C.; DUMAS, M. P.; SIROT, J. Concomitant dissemination of three extended-spectrum beta-lactamases among different Enterobacteriaceae isolated in a French hospital. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v. 27, p. 441–457, 1991.

DU, B.; LONG, Y.; LIU, H.; CHEN, D.; LIU, D.; XU, Y.; XIE, X. Extended spectrum DUMARCHE, P.; DE CHAMPS, C.; SIROT, D.; CHANAL, C.; BONNET, R.; SIROT, J. TEM Derivative-Producing *Enterobacter aerogenes* Strains: Dissemination of a Prevalent Clone. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 46, p. 1128–1131, 2002.

EVEILLARD, M.; SCHMIT, J. L.; EB, F. Antimicrobial use prior to the acquisition of multiresistant bacteria. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 23, p. 155–158, 2002.

FALAGAS, M. E.; KARAGEORGOPOULOS, D. E. Extended-spectrum β -lactamase-producing organisms. **Journal of Hospital Infection**, v. 73, p. 345-354, 2009.

GAMER, J. S.; JARVIS, W. R., EMORI, T. G.; HUGHES, J. M.; CDC definitions for nosocomial infections. **American Journal Infection Control**, v. 16, p. 128-140, 1988.

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.

GISKE, C. G.; MONNET, D. L.; CARS, O.; CARMELI, Y. Clinical and Economic Impact of Common Multidrug-Resistant Gram- Negative Bacilli. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 3, p.813-821, 2008.

HACKEL, M.; BADAL, R.; BOUCHILLON, S. Extended-spectrum beta-lactamase production in Europe. In: Abstracts of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, 2008.

HAWAKEY, P.; FINCH, R. Tigecycline: in-vitro performance as a predictor of clinical efficacy. **Clinical Microbiology and Infection**, v.13, p. 354–362, 2007.

HO P. L.; CHAN, W. M.; TSANG, K. W.; WONG, S. S.; YOUNG, K. Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamase: A case-control study of risk factors and outcomes. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 34, p. 567–73, 2002.

IBRAHIM, E. H.; SHERMAN, G.; WARD, S.; FRASER, V. J.; KOLLEF, M. H. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. **Chest**, v. 118, n. 1, p. 9-11, 2000.

JACOBY, G. A. AmpC β -lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 1, p. 161-182, 2009.

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

JONES, R. N.; BIEDENBACH, D. J.; GALES, A. C. Sustained activity and spectrum of selected extended-spectrum beta-lactams (carbapenems and cefepime) against *Enterobacter* spp. and ESBL-producing *Klebsiella* spp.: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (USA, 1997–2000). **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 21, p. 1–7, 2003.

JONES, R. N.; MARSHALL, S. A. Antimicrobial activity of cefepime tested against Bush group I beta-lactamase-producing strains resistant to ceftazidime. A multilaboratory national and international clinical isolate study. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 19, p. 33–38, 1994.

KANG, C. I.; KIM, S. H.; PARK, W. B.; LEE, K. D.; KIM, H. B.; KIMN, E. C.; OH, M. D.; CHOE, K. W. Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors for Mortality and Treatment Outcome, with Special Emphasis on Antimicrobial Therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, p. 4574–4581, 2004.

LAUTENBACH, E.; PATEL, J. B.; BILKER, W. B.; EDELSTEIN, P. H.; FISHMAN, N. O. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. **Clinical Infectious Disease**, v. 32, p. 1162–1171, 2001.

LEIBOVICI, L.; SHRAGA, I.; DRUCKER, M.; KONIGSBERGER, H.; SAMRA, Z.; PITILIK, S. D. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. **Journal of Internal Medicine**, v. 244, n. 5, p. 379–386, 1998.

MANGENEY, N.; NIEL, P.; PAUL, G.; FAUBERT, E.; HUE, S.; DUPEYRON, C.; LOUAM, F.; LELUAN, G. A 5-year epidemiological study of extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a medium-and long-stay neurological unit. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 504–511, 2000.

MARRA, A. R.; WEY, S.B.; CASTELO, A.; GALES, A. C.; CAL, R. G.; FILHO, J. R.; EDMOND, M. B.; PEREIRA, C. A. Nosocomial bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*: impact of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production on clinical outcome in a hospital with high ESBL prevalence. **BMC Infectious Diseases**, v. 6, n. 24, p. 1–8, 2006.

MENDES, C.; HSIUNG, A.; KIFFER, C.; OPLUSTIL, C.; SINTO, S.; MIMICA, I.; ZOCCOLI, C. Evaluation of the in vitro activity of antimicrobials against bacterial

strains isolated from patients in intensive care units in Brazil: MYSTIC Antimicrobial Surveillance Program. **Brazilian Journal of Infection Disease**, v. 4, p. 236–244, 2000.

MULVEY, M. R.; BRYCE, E.; BOYD, D. OFNER-AGOSTINI, M.; CHRISTIANSON, S.; SIMOR, A. E.; PATON, S. Ambler Class A extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Canadian hospitals. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 48, p. 1204–14, 2004.

NORDMANN, P., CUZON, C., THIENY, N. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. **Lancet Infectious Disease**, v. 9, p. 228-236, 2009.

OTMAN, J.; CAVASSIN, E. D.; PERUGINI, M. E.; VIDOTTO, M. C. An outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella* species in a neonatal intensive care unit in Brazil. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 23, p. 8–9, 2002.

PATERSON, D. L.; KO, W. C.; GOTTEBERG, A.; CASELLAS, J. M.; MULAZIMOGLU, L.; KLUGMAN, K. P.; BONOMO, R.; RICE, L. B.; MCCORMACK, J. G.; YU, V. L. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 6, p. 2206-2212, 2001.

PATERSON, D. L. Recommendations for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 6, p. 460-461, 2006.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended-Spectrum β -lactamases: a Clinica Update. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 4, p. 657-686, 2005.

PATERSON, D. Resistance in Gram-Negative bacteria: Enterobacteriaceae. **The American Journal of Medicine**, v. 119, p. 520-528, 2006.

PEÑA, C.; GUDIOL, C.; CALATAYUD, L.; TUBAU, F.; DOMÍNGUEZ, M. A.; PUJOL, M.; ARIZA, J.; GUDIOL, F. Infections due to *Escherichia coli* producing

extended-spectrum β -lactamase among hospitalized patients: factors influencing mortality. **Journal of Infection**, v.68, p.116-122, 2008.

PENA, C.; PUJOL, M.; RICART, A.; ARDANUY, C.; AYATS, J.; LINARES, J.; GARRIGOSA, F.; ARIZA, J.; GUDIOL, F. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase(ESBL-KP) in the intensive care unit. **Journal Hospital Infection**, v. 35, p. 9–16, 1997.

PFALLER, M.A.; JONES, R.N.; DOEM, G.V.; SADER, H.S.; KUGLER, K.C.; BEACH, M.L. Survey of Blood Stream Infections Attributable to Gram-Positive Cocci: Frequency of Occurrence and Antimicrobial Susceptibility of Isolates Collected in 1997 in the United States, Canada, and Latin America from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 33, p. 283–297, 1999.

PFALLER, M. A.; JONES, R. N.; DOERN, G. V.; SALAZAR, J. C. Multicenter evaluation of antimicrobial resistance to six broad-spectrum betalactams in Colombia: comparison of data from 1997 and 1998 using the Etest method. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v. 35, p. 235–241, 1999.

PFALLER, M. A.; SEGRETÍ, J. Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum β -lactamase. **Clinical Infection Disease**, v. 42, p. 153–163, 2006.

PFEIFER, Y.; CULLIK, A.; WITTE, W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, p. 371-379, 2010.

PITOUT, J. D.; LAUPLAND, K. B. Extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **Lancet Infectious Diseases**, v. 8, p. 159-166, 2008.

REEVES, D. S.; BYWATER, M. J; HOLT, H. A. The activity of cefpirome and ten other antibacterial agents against 2858 clinical isolates collected from 20 centres. **Journal Antimicrobial. Chemotherapy**, v. 31, p. 345–362, 1993.

REINERT, R. R.; LOW, D. E.; ROSSI, F.; ZHANG, X.; WATTAL, C.; DOWZICKY, MJ. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, p.1018-1029, 2007.

ROSENTHAL,V.; MAKI, D. G.; JAMUTLTRAT, S.; MEDEIROS, E. A.; TODI, S. K.; GOMEZ, D. Y.; LEBLEBICIOGLU, H.; KHADER, I. A.; NOVALES, M. G. M.; BERBA, R.; WONG, F. M.; BARKAT, A.; PINO, R.; MITREV, Z.; BIJIE, H.; GURSKIS, V.; KANJ, S. S.; MAPP, T.; HIDALGO, R. F.; JABALLAH, N. B.; RAKA, L.; GIKAS, A.; AHMED, A.; THU, L. T. A.; SIRITT, M. E. G. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003-2008, issued June 2009. **American Journal of Infection Control**, v. 38, n. 2, p. 95-104, 2010.

RUBINSTEIN, E.; VAUGHAN, D. Tigecycline: a novel glycylcycline, **Drugs**, v. 65, p. 1317-1336, 2005.

SADER, H. S.; GALES, A. C. Treatment of Severe Infections in the Era of High Rates of Antimicrobial Resistance. **The Brazilian Journal of Infections Diseases**, v. 12, 2008.

SADER, H. S.; JONES, R. N. In vitro antimicrobial activity of cefpirome against ceftazidime-resistant isolates from two multicenter studies. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 13, p. 675–679, 1994.

SADER, H. S.; JONES, R. N.; GALES, A. C.; WINOKUR, P.; KIGLER, K. C.; PFALLER, M. A.; DOERN, G. V. Doern. Antimicrobial susceptibility patterns for pathogens isolated from patients in Latin American medical centers with a diagnosis of pneumonia: analysis of results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 32, p. 289–301, 1998.

SADER, H.; GALES, A. C.; PFALLER, M. A.; MENDES, R. E.; ZOCCOLI, C.; BARTH, A.; JONES, R. N. Pathogen Frequency and Resistance Patterns in Brazilian Hospitals: Summary of Results from Three Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 5, p. 200-214, 2001.

SAFDAR, N.; MAKI, D.G. The Commonality of Risk Factors for Nosocomial Colonization and Infection with Antimicrobial-Resistant *Staphylococcus aureus*, Enterococcus, Gram-Negative Bacilli, *Clostridium difficile*, and *Candida*. **American College of Physician-American Society of Internal Medicine**, v.136, p. 834-844, 2002.

SCHAWABER, A. J.; CARMELI, Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production in Enterobacteriaceae bacteremia: systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, p. 913-920, 2006.

SCHITO, G. C. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**, v.12, p. 3-8, 2006.

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, p. 403-407, 2009.

SUPERTI, S. V.; AUGUSTI, G.; ZAVASCKI, A. P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. **Revista do Instituto de Medicina tropical**, v. 51, n. 4, p. 211-216, 2008.

TENOVER, F. C.; SHANNON, L.; EMERY, C. A.; SPIEGEL, P. A.; BRADFORD, S.; EELLS, A.; BONOMO, R.; MCGOWAN, J. E. 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. 294–299, 2009.

TOUFEN JUNIOR, C.; HOVANIAN, A.L.D.; FRANCA, S.A.; CARVALHO, C.R.R. Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 58, n. 5, p. 254-259, 2003.

TUMBARELLO, M., SALI, M., TRECARCHI, EM. Bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors for inadequate initial antimicrobial therapy. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 52, p. 3244-3252. 2008.

TURNER, P.J. Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 60, p. 185–192, 2008.

VALVERDE, A.; COQUE, T. M.; GARCIA-SAN, M. L.; BAQUERO, F.; CANTON, R. Complex molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: a long-term prospective from a single institution in Madrid. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 61, p. 64-72, 2008.

WIENER, J.; QUINN, J. P.; BRADFORD, P. A.; GOERING, R. V.; NATHAN, C.; BUSH, K.; WEINSTEIN, R. A. Weinstein. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. **Journal of the American Medical Association**, v. 281, p. 517–523, 1999.

WONG-BERINGER, A. Therapeutic challenges associated with extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **Pharmacotherapy**, v. 21, p. 583-592, 2001.

ZANETTI, G.; BALLY, F.; GREUB, G.; GARBINO, J.; KINGE, T.; LEW, D.; ROMAND, A.; BILLE, J.; AYMONT, D.; STRATCHOINSKI, L.; KRAWCZYK, L.; RUBINSTEIN, E.; SCHALLER, M. D.; CHIOLERO, R.; GLAUSER, M. P.;

CAMETTA, A. Cefepime versus imipenem-cilastatin for treatment of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients: a multicenter, evaluator-blind, prospective, randomized study. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 47, p. 3442–3447, 2003.

ANEXO I**FICHA INDIVIDUAL**

Prontuário: _____

Nº DA AMOSTRA: _____

DATA NASC: _____ SEXO: () FEM () MAS

DATA DA INTERNAÇÃO: ____/____/____ LEITO: _____ CLÍNICA: _____

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS		
	INÍCIO	TÉRMINO
	__/__/__	__/__/__
	__/__/__	__/__/__
	__/__/__	__/__/__

DIAGNÓSTICO: _____

DOENÇA DE BASE: _____

APACHE: _____ ALOS: _____

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO				
DATA	MICRO	MATERIAL	ANTIBIOGRAMA	
ISOLAMENT			SEN	RESIST
O				
__/__/__				
__/__/__				

CO-MORBIDADES:

DIABETES () DOENÇA RENAL () DOENÇA HEPÁTICA () MALIGNIDADES ()
 OUTRAS ()

PROCEDIMENTOS INVASIVOS:

CVC () TOT () SV () PV () SNG () OUTROS ()

CIRURGIA: () TRAUMA () NEURO () CARDIO () OUTRAS: _____

OBS:

() ALTA
 () ÓBITO

Anexo II



Universidade Federal de Uberlândia
Pro-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: ;

**ANÁLISE FINAL Nº. 071/10 DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA PARA O PROTOCOLO REGISTRO
CEP/UFU 224/09**

Projeto Pesquisa: Infecções hospitalares por enterobacteriasse resistentes aos carbapenêmicos no hospital de clínicas da Universidade Federal de Uberlândia: Fatores de risco, impacto clínico e econômico.

Pesquisador Responsável: Paulo Gontijo Filho

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:

- a- 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.
- b- poderá, por escolha aleatória, visitar o pesquisador para conferência do relatório e documentação pertinente ao projeto.
- c- a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFU dá-se em decorrência do atendimento a Resolução 196/96/CNS, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Data para entrega do relatório final: dezembro de 2011.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

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

Uberlândia, 08 de março de 10.

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 apresentados 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 no cronograma do projeto, conforme norma.