

MIRIAN CRISTINA DE OLIVEIRA

***Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital universitário: frequência, fatores de risco e impactos na evolução clínica.**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
BELO HORIZONTE  
2013

MIRIAN CRISTINA DE OLIVEIRA

***Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital geral: frequência, fatores de risco e impactos na evolução clínica.**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Vandack Alencar Nobre Jr.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
BELO HORIZONTE  
2013

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Prof. Clélio Campolina Diniz

**Vice-Reitora:** Prof<sup>ª</sup>. Rocksane de Carvalho Norton

**Pró-Reitor de Pós-Graduação:** Prof<sup>ª</sup>. Ricardo Santiago Gomez

**Pró-Reitor de Pesquisa:** Prof. Renato de Lima Santos

## **FACULDADE DE MEDICINA**

**Diretor:** Prof. Francisco José Penna

### **DEPARTAMENTO DE CLINICA MÉDICA**

**Chefe do departamento:** Prof. Ricardo de Menezes Macedo

### **COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr. (Coordenador)

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha (Subcoordenador)

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof. Denise Utsch Gonçalves

Prof. Mariângela Carneiro

Paula Souza Lage Carvalho (Representante discente)

## DEDICATÓRIA

Ao meu querido amigo e tio, Marcos Antônio, que partiu de maneira inesperada e cuja existência foi marcada pela alegria e entusiasmo.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e disposição para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Vandack Nobre, meu orientador, pela acolhida, confiança, ensinamentos, paciência e cooperação.

À equipe do Setor de Microbiologia do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, em especial à Amanda e Giselle, pela colaboração.

Às estudantes de medicina Karina e Mariléa, pela ajuda na coleta de dados.

Aos pacientes, pela participação nesse estudo.

Aos meus pais, pelo amor e proteção e ao meu irmão, Gustavo, pelo incentivo.

A toda a minha família, pela confiança.

Ao Leonardo, pelo amor, carinho, compreensão, incentivo, e incontáveis idas à rodoviária nas mais diversas horas do dia e da noite.

A todos os meus amigos que tornaram esta jornada mais agradável e me proporcionaram momentos de descontração e felicidade.

“Não há fatos eternos, como não há verdades absolutas”.

*Friedrich Nietzsche*

## RESUMO

*Enterobacteriaceae* são os patógenos mais frequentemente isolados em amostras clínicas e, juntamente com as fluoroquinolonas, as cefalosporinas de terceira geração representam os principais antibióticos utilizados para o tratamento de infecções causadas por esses microrganismos. Embora a resistência a antibióticos proporcionada pela produção de ESBL e AmpC nessa família de bactérias seja frequentemente relatada em ambiente hospitalar, nos últimos anos tem-se observado a disseminação de isolados resistentes nas infecções comunitárias e naquelas associadas à assistência a saúde. Esse estudo teve como objetivo avaliar a frequência, os fatores de risco e os impactos na evolução clínica da presença de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras coletadas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital universitário. Para tal, utilizou-se um delineamento prospectivo, controlado, de observação. Todos os pacientes adultos (idade  $\geq 18$  anos) nos quais houve isolamento de enterobactérias em amostras obtidas durante as primeiras 48 horas de internação no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de agosto de 2011 a julho de 2012, foram considerados para potencial inclusão. Do total de 238 pacientes com isolados nas primeiras 48 horas, 62 (26,05%) apresentavam-se colonizados ou infectados por enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração (Grupo Casos) e 176 (73,95%) estavam colonizados ou infectados por enterobactérias sensíveis às cefalosporinas de terceira geração. Para cada caso, dois pacientes nos quais houve isolamento de enterobactérias sensíveis foram selecionados sequencialmente na mesma data (Grupo Controle), totalizando 124 controles. Considerando-se todos os pacientes avaliados, houve predomínio do sexo feminino, e a média de idade foi de 50,2 anos ( $\pm 19,98$  anos). Na comparação dos dois grupos, o sexo masculino (OR, 2,56; IC95%, 1,19 - 5,47;  $P=0,016$ ), a presença de estoma (OR, 5,09; IC 95%, 1,46-17,75;  $P=0,010$ ), e a internação prévia nos últimos seis meses (OR, 5,16; IC 95%, 2,43-10,97;  $P < 0,001$ ) mostraram-se fatores de risco independentes para o isolamento de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração. O isolamento dessas bactérias esteve associado a maior frequência de terapia antibiótica empírica inapropriada (73,3% vs. 10,3%,  $P < 0,001$ ); a piores resultados clínicos, como maior frequência de internação em CTI ou Sala de Emergência (44,1% vs. 22,6%,  $P=0,003$ ), menor frequência de resolução parcial ou completa da infecção (63,3% vs. 79,1%,  $P=0,049$ ) e a um maior tempo de internação (13 dias vs. 5 dias,  $P < 0,001$ ). Considerando-se os fatores de risco independentes acima descritos, um score de risco foi criado. Observou-se que a probabilidade de isolamento de enterobactérias resistentes aumentou proporcionalmente aos valores do score, de 26,1% para 1 ponto a 93,5% para 5 pontos. Concluindo, observou-se uma elevada frequência de isolamento de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração à admissão hospitalar. Considerando-se os fatores de risco identificados nesse estudo e as consequências clínicas do isolamento desses agentes, os protocolos de terapia antibiótica empírica de pacientes com infecções graves deveriam ser revistos.

**Palavras-chave:** *Enterobacteriaceae*, cefalosporinas de terceira geração, fatores de risco, resistência a antibióticos, ESBL.

## ABSTRACT

*Enterobacteriaceae* are the most frequently pathogens isolated from clinical specimens. Third generation cephalosporins and fluoroquinolones constitute the main therapeutic choices for infections caused by these microorganisms. Although the infections caused by ESBL and AmpC-producing *Enterobacteriaceae* are commonly seen among in-hospital patients, during the last years, these organisms have been increasingly reported in the community and health care-associated infections. This study aimed at evaluating the frequency, risk factors and clinical impact of third generation-resistant *Enterobacteriaceae* isolated in samples collected within 48 hours following hospital admission. By using an observational, prospective, controlled design, all adult patients (age  $\geq 18$  years) in whom were isolated *Enterobacteriaceae* in samples collected within 48 hours following the admission at the University Hospital of the Universidade Federal de Minas Gerais, during August 2011 to July 2012 were considered for potential inclusion. Of the 238 patients with isolated within the first 48 hours, 62 (26.05%) were colonized or infected with resistant *Enterobacteriaceae* to third-generation cephalosporins (Case Group), and 176 (73.95%) were colonized or infected with susceptible *Enterobacteriaceae* to third-generation cephalosporins. For each case, two controls with susceptible *Enterobacteriaceae* were selected sequentially at the same day (Control Group), totalizing 124 controls. Considering all patients, there was a predominance of females, and the mean age was 50.2 years ( $\pm 19.98$  years). In a multivariate analysis, male gender (OR, 2.56; CI 95%, 1.19 – 5.47,  $P=0.016$ ), presence of stoma (OR, 5.09; CI 95%, 1.46-17.75;  $P=0.010$ ), and previous hospitalization in the past 6 months (OR, 5.16; CI 95%, 2.43-10.97;  $P< 0.001$ ) were independent risk factors for infection due to *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins. Infection caused by these microorganisms was associated with higher frequency of inappropriate empirical therapy (73,3% vs. 10,3%,  $P<0,001$ ), worse clinical outcomes, as increased frequency of admission in ICU or Emergency Room (44.1% vs. 22.6%,  $P=0.003$ ), lower incidence of partial or complete resolution of infection (63.3% vs. 79.1%,  $P=0.049$ ) and longer hospital stays (13 days vs. 5 days,  $P<0,001$ ). Considering the independent risk factors, a score was calculated. We observed that the probability of isolating resistant enterobacteria increased in proportion to the values of the score, from 26.1% for 1point to 93.5% for 5 points. In conclusion, we observed a high frequency of *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins were isolated at the hospital admission. Considering the risk factors identified in this study, and the harmful clinical consequences of these microorganisms, the protocols of empiric antibiotic therapy for patients with serious infections should be reviewed.

**Keywords:** *Enterobacteriaceae*, third generation cephalosporins, risk factors, antibiotic resistance, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL).



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BGN - Bacilos Gram negativo

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CTI – Centro de Terapia Intensiva

CTM-X - Cefotaximases (Família de  $\beta$ -lactamases que degradam preferencialmente a Cefotaxima)

ESBL –  $\beta$ -lactamases de espectro estendido

ECDC - *European Centre for Disease Prevention and Control*

ESCMID - *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*

ICS – Infecção de corrente sanguínea

ITU – Infecção de trato urinário

SE – Sala de Emergência

SENTRY – Rede Internacional de laboratórios “Sentinelas” que monitora a resistência aos antimicrobianos.

SHV – Sulphydryl-Variable (Primeira família de  $\beta$ -lactamases descrita)

SMART – *Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends*

TEM – Temoniera (nome da paciente na qual esse tipo de  $\beta$ -lactamases foi identificada pela primeira vez)

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES - DISSERTAÇÃO

Figura 1- Estrutura de uma oximino-cefalosporina. O Grupo C=N-OR, sombreado, protege o anel $\beta$ -lactâmico do ataque das clássicas $\beta$ -lactamases. ....	19
Figura 2 - <i>Escherichia coli</i> : proporção de isolados resistentes às cefalosporinas de terceira geração em 2010.....	29
Figura 3 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> : proporção de isolados resistentes às cefalosporinas de terceira geração em 2010.....	30
Quadro 1- Esquemas de Classificação das $\beta$ -lactamases bacterianas.....	23
Tabela 1- Frequência de fenótipos ESBL em isolados de amostras coletadas pelo SENTRY na América Latina entre os anos de 2008-2010.....	33
Tabela 2 - Resistência a diferentes agentes antimicrobianos nas amostras de <i>Enterobacteriaceae</i> resistentes às cefalosporinas de terceira geração.....	61

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES – ARTIGO

Figure 1 - Flowchart presenting the procedures for inclusion in the study.....	46
Figure 2 - Survival curve showing estimates of the hospital length of stay among patients with <i>Enterobacteriaceae</i> sensitive (controls) and resistant (cases) to third-generation cephalosporins (Cox proportional hazards model; hospital discharges due to death were censored).....	52
Table 1 - Demographic and clinical characteristics of patients in whom there was isolation of <i>Enterobacteriaceae</i> in samples collected in the first 48 hours of hospitalization.....	47
Table 2 - <i>Enterobacteriaceae</i> isolated within the first 48 hours of hospitalization.....	48
Table 3 - Univariate analysis of risk factors for patients with isolation of <i>Enterobacteriaceae</i> resistant to third-generation cephalosporins in the first 48 hours of hospitalization compared with patients in whom there was isolation of sensible <i>Enterobacteriaceae</i> . ....	49
Table 4 - Independent risk factors for the isolation of <i>Enterobacteriaceae</i> resistant to third generation cephalosporins in samples collected in the first 48 hours of hospitalization.....	50
Table 5 - Predicted probability for the isolation of <i>Enterobacteriaceae</i> resistant to third generation cephalosporins in samples collected in the first 48 hours of hospitalization, calculated according to the summed risk score. ....	50
Table 6 - Clinical impact of the presence of <i>Enterobacteriaceae</i> resistant to third generation cephalosporins in samples collected within the first 48 hours of hospitalization.....	51
Table 7 - Univariate analysis of factors associated with the occurrence of death during hospitalization.....	51

## **LISTA DE APÊNDICES**

Apêndice 1 - Questionário aplicado para obtenção de dados clínicos e laboratoriais. ...	72
Apêndice 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	76

## **LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. ....	78
Anexo 2 – Ata de Defesa.....	79
Anexo 3– Declaração de Aprovação.....	80

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
2.1 Família <i>Enterobacteriaceae</i> e sua relevância clínica .....	16
2.2 História da resistência bacteriana causada por $\beta$ -lactamases.....	18
2.3 Classificação das $\beta$ -lactamases .....	21
2.3.1 $\beta$ -lactamases de Espectro Estendido.....	24
2.3.2 $\beta$ -lactamases AmpC.....	25
2.4 Epidemiologia de <i>Enterobacteriaceae</i> resistentes às cefalosporinas de terceira geração.....	27
2.4.1 ESBL e AmpC no mundo .....	27
2.4.2 ESBL na América Latina .....	32
2.4.3 ESBL no Brasil.....	34
2.5 Fatores de risco para a aquisição de enterobactérias produtoras de ESBL .....	35
<b>3 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>37</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>38</b>
4.1 Objetivo Geral.....	38
4.2 Objetivos Específicos .....	38
<b>5 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>60</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>64</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>78</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos da família *Enterobacteriaceae* representam o principal grupo de bactérias isoladas nas amostras clínicas e estão associados a uma grande variedade de infecções comunitárias e hospitalares (COQUE, BAQUERO e CANTON, 2008). Juntamente com as fluoroquinolonas, as cefalosporinas de terceira geração, ou oximinocefalosporinas, são a principal opção para o tratamento das infecções causadas pelos microrganismos dessa família e a emergência e disseminação de resistência a esses antibióticos é motivo de grande preocupação em todo o mundo (PATERSON e BOMONO, 2005; ASENSIO, ALVAREZ-ESPEJO, *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, o número de infecções causadas por enterobactérias resistentes, sobretudo devido à produção de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL), tem aumentado marcadamente e o entusiasmo inicial com a introdução das cefalosporinas de terceira geração foi rapidamente atenuado pela emergência desses microrganismos. Desde então, surtos de infecções causadas por esses agentes têm ocorrido em diversos países (BUSH, 2008; COQUE, BAQUERO e CANTON, 2008; FRANK, ARLET, *et al.*, 2006; HAWKEY, 2008).

Organismos produtores de ESBL são clinicamente relevantes, e o insucesso terapêutico observado quando dessas infecções não se restringem às cefalosporinas, uma vez que os genes de resistência são transmitidos por grandes plasmídios que frequentemente carregam genes de resistência para outros antibióticos. A maioria dos casos de ESBL tem sido relatada em pacientes hospitalizados admitidos nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI); todavia esses microrganismos têm emergido também na comunidade (PITOUT, 2009; HSIEH, SHEN e HWANG, 2010).

Infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL têm sido associada a aumentos de morbidade, mortalidade, tempo de permanência no hospital e das despesas hospitalares (PITOUT, 2010). Além disso, a presença dessas bactérias aumenta as chances de terapia antimicrobiana inapropriada, o que pode se correlacionar com pior prognóstico nos casos de infecções graves (SCHWABER e CARMELI, 2007; GISKE, MONNET, *et al.*, 2008; KUMAR, ELLIS, *et al.*, 2009). Portanto, é imperativo que os fatores de risco para

enterobactérias ESBL sejam claramente identificados, de modo a oferecer a terapia adequada, visando não só melhorar os resultados clínicos, mas também aperfeiçoar o uso dos antimicrobianos, num esforço para reduzir a emergência desse tipo de resistência. Dados oriundos de outros centros, notadamente aqueles procedentes de outros países, podem não ser aplicáveis à realidade brasileira. Para tal, faz-se necessário o conhecimento da realidade local, tanto no que concerne a frequência de bactérias produtoras de ESBL quanto aos fatores de risco que contribuem para a sua presença.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Família *Enterobacteriaceae* e sua relevância clínica

A família *Enterobacteriaceae* compreende o grupo bacilos Gram negativo fermentadores de glicose, citocromo oxidase negativos, capazes de reduzir o nitrato a nitrito (HOLT, 2000). Esses microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, sendo encontrados no solo, na água, em vegetais e colonizando o trato intestinal do homem e de outros animais. Atualmente são descritos mais de 30 gêneros dentro dessa família e, embora o total de espécies descritas ultrapasse 130 (WINN, ALLEN, *et al.*, 2008; HOLT, 2000), a maioria das infecções são causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Citrobacter* spp. e *Serratia marcescens*, com grande destaque para a três primeiras (ASENSIO, ALVAREZ-ESPEJO, *et al.*, 2011).

As enterobactérias representam os microrganismos mais frequentemente isolados nas amostras clínicas (WINN, ALLEN, *et al.*, 2008), sendo responsáveis por uma grande variedade de infecções intestinais e extraintestinais. Esse grupo de bactérias é coletivamente considerado a principal causa de infecções hospitalares e comunitárias (COQUE, BAQUERO e CANTON, 2008). Dentro da família, *E. coli* constitui a causa mais frequente de bacteremias e infecções do trato urinário (ITU), *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter* spp. são causas frequentes de pneumonia, e além dessas, todas as demais bactérias patogênicas do grupo estão associadas a infecções da corrente sanguínea, tecidos moles e infecções intra-abdominais (PATERSON, 2006).

*E. coli* é o patógeno humano mais frequente, sendo responsável pela maioria dos casos de cistite e pielonefrite, meningite em neonatos, bacteremias, além de várias formas de diarreia e disenteria, acometendo praticamente todas as faixas etárias e populações. Considerando a etiologia das ITU, *E. coli* é responsável por mais de 80% dos casos diagnosticados na comunidade (RONALD, 2002). Esse percentual é menor nas infecções hospitalares, mas ainda assim, permanece como o principal agente causador,

sendo responsável por aproximadamente um terço das ITU associadas a cateter (HOOTON, BRADLEY, *et al.*, 2010). A resistência às drogas de primeira escolha tem se tornado progressivamente mais comum nessa bactéria, devido à conversão de cepas sensíveis em resistentes e/ou à expansão dos clones já resistentes (JOHNSON, MENARD, *et al.*, 2009).

*K. pneumoniae* é encontrada nas fezes de indivíduos sadios e, em menor frequência, aparece colonizando também a nasofaringe. A facilidade de colonizar mucosas faz dela um patógeno oportunista em potencial. Infecções causadas por esse agente ocorrem principalmente no trato urinário e respiratório, apresentando altas taxas de morbidade e mortalidade (WINN, ALLEN, *et al.*, 2008). *Enterobacter* spp. está entre os patógenos Gram negativo mais comumente associados às infecções hospitalares, representando cerca 6% de todos os isolados nosocomiais, sendo responsável por aproximadamente 11% dos casos de pneumonia (KAYE, COSGROVE, *et al.*, 2001).

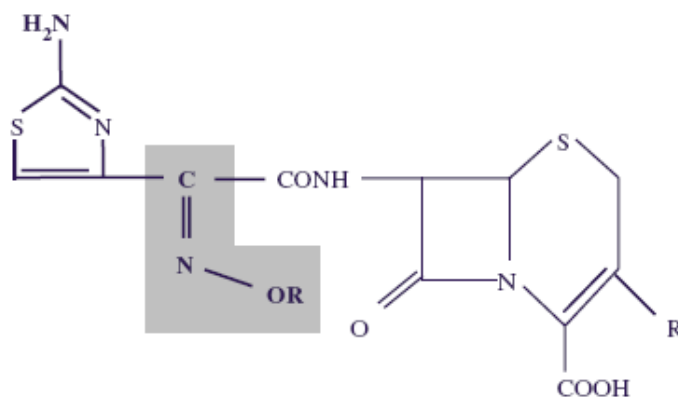
Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, sobretudo as cefalosporinas de terceira geração e os carbapenêmicos, juntamente com as fluoroquinolonas, constituem a principal escolha terapêutica para o tratamento das infecções causadas por esses microrganismos (COQUE, BAQUERO e CANTON, 2008; ASENSIO, ALVAREZ-ESPEJO, *et al.*, 2011). Nos últimos anos, tem-se observado um declínio contínuo da eficácia desses antibióticos como resultado de seu uso extensivo. A emergência e disseminação de resistência às cefalosporinas de terceira geração é motivo de grande preocupação, pois em geral, elas representam a primeira escolha terapêutica. Embora existam diversos mecanismos responsáveis por essa característica, a produção de ESBL é o mais marcante deles; o que se deve à sua ampla disseminação, inicialmente restrita ao ambiente hospitalar, e que na última década passou a se ocorrer também na comunidade (PATERSON e BOMONO, 2005; PITOUT, NORDMANN, *et al.*, 2005). Embora menos comum que a produção de ESBL, a superexpressão de  $\beta$ -lactamases AmpC também é capaz de conferir resistência a essas cefalosporinas, sendo um problema principalmente nas infecções causadas por *Enterobacter aerogenes* e *E. cloacae* (JACOBY, 2009).

A identificação de enterobactérias resistentes às oximino-cefalosporinas, sobretudo as produtoras de ESBL, em amostras clínicas tem aumentado marcadamente nos últimos

anos e essas se tornaram endêmicas em muitas instituições de saúde (SCHWABER e CARMELI, 2007). Recentemente têm sido relatadas também como causadoras de infecções adquiridas na comunidade.

## 2.2 História da resistência bacteriana causada por $\beta$ -lactamases

Em 1929, Alexander Fleming revelou que certo fungo pertencente ao gênero de *Penicillium* produzia uma poderosa substância antibacteriana muito eficiente contra cocos piogênicos e bacilos diftéricos. A substância ativa era filtrável e recebeu o nome de penicilina (FLEMING, 1929). Entretanto, antes mesmo que a penicilina estivesse disponível no mercado para uso terapêutico, foi descrita uma enzima em *Escherichia coli* capaz destruí-la (ABRAHAM e CHAIN, 1940). Na sequência, já no início dos anos de 1940 até a década de 1960, observou-se o desenvolvimento e disseminação de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a essa droga em ambiente hospitalar. Ainda no início da década de 1960, as penicilinas semissintéticas e a primeira geração de cefalosporinas foram introduzidas no mercado tornando-se amplamente utilizadas (MEDEIROS, 1997). Nesse período observou-se o aumento da frequência das infecções hospitalares causadas por bacilos Gram negativo, e já na década de 1970 esses se tornaram os patógenos nosocomiais predominantes (BRADFORD, 2001). No final de 1978 a cefoxitina foi aprovada para uso clínico. Logo em seguida se deu um grande avanço na luta contra a resistência ocasionada pelas  $\beta$ -lactamases: a adição sintética de uma radical metoxiamino à molécula de cefalosporina, capaz de proteger o anel  $\beta$ -lactâmico do ataque das  $\beta$ -lactamases clássicas dando origem à terceira geração dessas drogas (LIVERMORE, 2008). A estrutura molecular das cefalosporinas de terceira geração é apresentada abaixo na Figura 1.



**Figura 1-** Estrutura de uma oximino-cefalosporina. O Grupo C=N-OR, sombreado, protege o anel  $\beta$ -lactâmico do ataque das clássicas  $\beta$ -lactamases.

Fonte: Livermore, 2008.

As cefalosporinas de terceira geração, ou oximino-cefalosporinas, foram originalmente desenvolvidas como antibióticos capazes de superar a resistência causada pelas  $\beta$ -lactamases mais comuns (BRADFORD, 2001). Esses novos antibióticos foram amplamente utilizados para o tratamento de infecções graves ocasionadas por bacilos Gram negativo, desde a sua introdução no final da década de 1970 e início da década de 1980, haja vista que ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima não só eram estáveis na presença dessas enzimas como ainda apresentavam mais uma grande vantagem, já que são menos nefrotóxicas que aminoglicosídeos e polimixinas (PATERSON e BOMONO, 2005; MEDEIROS, 1997; DENTON, 2007).

O aparecimento de  $\beta$ -lactamases capazes de hidrolisar esses novos antibióticos ocorreu rapidamente, logo no início da década de 1980, mais precisamente em 1983, na Alemanha em uma cepa de *Klebsiella ozaenae* (KNOTHE, 1983). Posteriormente, em 1985, o primeiro surto nosocomial causado por produtores de ESBL foi descrito na França. Essas enzimas eram mutantes estruturais das clássicas penicilinasas TEM-1, TEM-2 e SHV-1, as quais já eram disseminadas em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (DENTON, 2007). Devido ao aumento em seu espectro de atividade, especialmente contra as cefalosporinas de terceira geração, conhecidas ainda como cefalosporinas de espectro estendido, essas enzimas receberam a denominação de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL – do inglês *extended spectrum  $\beta$ -lactamases*) (BRADFORD, 2001).

No início dos anos 1990 a maioria dos relatos ainda era proveniente da França, mas começaram a aparecer também em outros países da Europa, nos Estados Unidos e na América Latina. Ao longo da década houve um aumento expressivo de relatos de ESBL, particularmente envolvendo surtos hospitalares, nos quais as UTI eram as mais acometidas. Embora diversas enterobactérias tenham sido relatadas, a grande maioria dos surtos foi causada por *K. pneumoniae*, que ainda hoje permanece como principal produtora de ESBL (GNIADKOWSKI, 2001; DENTON, 2007).

No início da última década houve uma grande mudança na epidemiologia de cepas produtoras de ESBL, que se deu através da emergência da família CTM-X, proveniente de uma enzima cromossomal encontrada naturalmente em *Kluyvera ascorbata* (BONNET, 2004; BANÕ e PATERSON, 2006). Essa família de ESBL, embora frequentemente isolada nas infecções hospitalares, está particularmente associada às infecções comunitárias (DENTON, 2007).

A disseminação de enterobactérias produtoras de ESBL é claramente evidenciada no estudo realizado na Espanha por Valverde *et al.*, entre os anos de 1991 e 2003, no qual se observou que as taxas de colonização intestinal por esses microrganismos em pacientes hospitalizados e ambulatoriais saltaram de 0,3% e 0,7% em 1991 para 11,8% e 5,55%, respectivamente, em 2003. Nesse mesmo estudo a taxa de colonização em voluntários saudáveis em 2003 foi de 3,7% (VALVERDE, COQUE, *et al.*, 2004).

Assim como diversas mutações nas famílias TEM e SHV deram origem a enzimas de espectro estendido, inserções, deleções e substituições de aminoácidos também foram descritas nas  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC, as quais melhoraram a atividade catalítica sobre as cefalosporinas de terceira geração. Para os microrganismos com potencial de expressão de altos níveis de  $\beta$ -lactamases AmpC, o desenvolvimento de resistência durante a terapia é um problema (JACOBY, 2009). Em estudo realizado por Kaye *et al.* (2001), em 19% dos pacientes inicialmente tratados com cefalosporinas de amplo espectro, os isolados de *Enterobacter* sp. desenvolveram resistência a esses medicamentos durante o tratamento (KAYE, COSGROVE, *et al.*, 2001).

As  $\beta$ -lactamases bacterianas tem evoluído em proporção direta com o desenvolvimento dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. Desde que antibióticos resistentes à ação das clássicas  $\beta$ -

lactamases, como oximino-cefalosporinas, cefamicinas, carbapenêmicos e aztreonam, foram introduzidos, as bactérias desenvolveram a capacidade de produzir uma grande variedade de novas enzimas capazes de degradar esses medicamentos, diminuindo as opções terapêuticas e aumentando as chances de terapia empírica inapropriada (JACOBY e MUNOZ-PRICE, 2005).

### 2.3 Classificação das $\beta$ -lactamases

As  $\beta$ -lactamases compreendem o grupo mais heterogêneo de enzimas de resistência e o principal mecanismo responsável pela resistência aos  $\beta$ -lactâmicos, com mais de 900 enzimas já descritas, as quais estão disponíveis no site <http://www.lahey.org/studies/> para a livre consulta. Ao longo dos anos, alguns esquemas foram propostos na tentativa de classificar essas enzimas (AMBLER, 1980; BUSH, 1989; RICHMOND e SYKES, 1973; BUSH, JACOBY e MEDEIROS, 1995; MITSUHASHI e INOUE, 1981) e atingiram um alto nível de complexidade; todavia, dois desses se destacaram e tornaram-se os mais conhecidos e utilizados e são descritos a seguir.

Em 1980, Ambler propôs a primeira classificação molecular dessas enzimas quando apenas quatro sequências de aminoácidos eram conhecidas. Naquela época, duas classes foram discriminadas, a primeira, composta por enzimas com serina no sítio ativo (Classe A), e a segunda, que incluía as enzimas que requeriam o zinco para sua atividade, as metalo- $\beta$ -lactamases, (Classe B) (AMBLER, 1980). A Classe C foi separada em 1981 das demais serina- $\beta$ -lactamases, ficando conhecidas como AmpC  $\beta$ -lactamases (JAURIN e GRUNDSTROM, 1981). A Classe D, que incluiu as enzimas capazes de hidrolisar a oxacilina, foi separada das demais ao final dos anos de 1980 (HALL e BARLOW, 2005).

Bush, Jacoby e Medeiros apresentaram, em 1995, um esquema de classificação baseado nas características funcionais dessas enzimas. Inicialmente três grupos principais foram definidos com base no tipo de substrato e perfil de inibição. O grupo “1” inclui as cefalosporinases, pertencentes à classe molecular C, que não são inibidas pelo ácido

clavulânico. O grupo “2” inclui penicilinas e cefalosporinas, ambas inibidas pelo ácido clavulânico, correspondentes às classes moleculares A e D, sendo dividido ainda em outros seis subgrupos (a-f). As enzimas do grupo “3” são metalo- $\beta$ -lactamases, as quais necessitam de zinco para atuarem, correspondentes à classe molecular B. O grupo “4” contém as penicilinas que não são inibidas pelo ácido clavulânico e não apresentam classe molecular correspondente (BUSH, JACOBY e MEDEIROS, 1995).

Em 2010, os autores atualizaram a classificação funcional, suprimindo o grupo “4” e criando novos subgrupos (BUSH e JACOBY, 2010). Um resumo desta última classificação e sua correlação com a classificação molecular de Ambler é apresentado abaixo no Quadro 1.

**Quadro 1-** Esquemas de Classificação das  $\beta$ -lactamases bacterianas.

Bush e Jacoby 2010	Classificação molecular	Substrato preferencial	Inibição por		Enzimas Representativas
			<sup>1</sup> A.C	<sup>2</sup> EDTA	
1	C	Cefalosporinas	Não	Não	AmpC de <i>E. coli</i> , P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Cefalosporinas	Não	Não	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinas	Sim	Não	PC1
2b	A	Penicilinas e Cefalosporinas	Sim	Não	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Cefalosporinas de espectro estreito e estendido, Monobactâmicos	Sim	Não	TEM-3, SHV-2, CTM-X-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penicilinas	Variável	Não	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Cefalosporinas de espectro estendido e monobactâmicos	Não	Não	TEM-50
2c	A	Carbencilinas	Sim	Não	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carbencilina e cefepime	Sim	Não	RTG-4
2d	D	Cloxacilinas	Variável	Não	OXA-1 a OXA-10,
2de	D	Cefalosporinas de espectro estendido	Variável	Não	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapenêmicos	Variável	Não	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinas de espectro estendido	Sim	Não	CepA
2f	A	Carbapenêmicos	Variável	Não	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B	Carbapenêmicos	Não	Sim	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	B	Carbapenêmicos	Não	Sim	CphA, Sfh-1

<sup>1</sup>A.C - ácido clavulânico<sup>2</sup>EDTA - ácido etilenodiaminotetracético<sup>3</sup>ND – Não determinada

Adaptado de BUSH e JACOBY, 2010.



### 2.3.1 $\beta$ -lactamases de Espectro Estendido

Várias definições para as  $\beta$ -lactamases de espectro estendido têm sido utilizadas ao longo das últimas três décadas, algumas baseadas no espectro e no perfil de inibição, outras na história evolutiva. O termo ESBL, proposto em 1988, foi atribuído às enzimas derivadas de TEM e SHV capazes de hidrolisar as cefalosporinas de terceira geração (BRADFORD, 2001), localizadas no grupo 2be da classificação funcional proposta por Bush, Jacoby e Medeiros (1995). Entretanto, a descoberta de muitas outras enzimas com perfil hidrolítico semelhante às derivadas de TEM e SHV, mas com origens evolutivas diferentes, e também daquelas originadas de mutações de outras enzimas que inicialmente não eram inibidas pelo ácido clavulânico, desencadearam grande debate sobre as definições utilizadas até então. Nesse sentido, em uma conferência da ESCMID (*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*), em 2006, o termo ESBL foi expandido para incluir as enzimas com espectro similar ao daquelas mutantes de TEM e SHV, mas derivadas de outras fontes, como as CTX-M, PER e VEB; TEM e SHV mutantes, mas com atividade ESBL *borderline*; e finalmente, as várias  $\beta$ -lactamases que conferem maior resistência que suas precursoras, mas que não são reunidas no grupo 2be (LIVERMORE, 2008).

Importante ressaltar que todos esses complexos esquemas de definição e classificação das ESBL foram adaptados às necessidades de pesquisadores e se tornaram pouco acessíveis e compreensíveis aos profissionais que prestam assistência direta, àqueles pertencentes às comissões de controle de infecção, e mais ainda da administração hospitalar (GISKE, SUNDSFJORD, *et al.*, 2009).

Classicamente, as ESBL foram descritas como enzimas capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas, e monobactâmicos, mas não os carbapenêmicos, cuja ação hidrolítica é geralmente bloqueada *in vitro* por inibidores de  $\beta$ -lactamases (ácido clavulânico, tazobactam, sulbactam) (GNIADKOWSKI, 2001; BRADFORD, 2001). Como visto, ao longo dos anos, o termo foi redefinido e atualmente uma definição mais ampla e pragmática é adotada:

*“ESBL é qualquer  $\beta$ -lactamase, normalmente adquirida e não inerente a uma espécie, que pode rapidamente hidrolisar, ou conferir resistência a uma oximino-cefalosporina (mas não aos carbapenêmicos), ou ainda qualquer  $\beta$ -lactamase mutante, dentro de uma família, que tem uma maior capacidade para fazê-lo.”*

Livermore, 2008.

As enterobactérias podem produzir a atividade ESBL através da expansão da especificidade do substrato das  $\beta$ -lactamases de amplo espectro tipo TEM e SHV, já difundidas como  $\beta$ -lactamases adquiridas na prática clínica, pela substituição de um ou mais resíduos de aminoácidos na posição crítica quando as cefalosporinas de espectro estendido são introduzidas; ou através da captura de novos genes que codificam enzimas com atividade ESBL por transferência horizontal (BRADFORD, 2001; ROSSOLINI, D’ANDREA e MUGNAIOLI, 2008).

Os genes que codificam as ESBL estão localizados, na maioria das vezes, em plasmídeos, apontados como os principais responsáveis pela disseminação desse tipo de resistência, bem como a aquisição de resistência a outros tipos de antibióticos. ESBL têm sido descritas em uma grande variedade de bacilos Gram negativo (CARATTOLI, 2009). A maioria absoluta das cepas produtoras dessas enzimas pertence à família *Enterobacteriaceae* (GNIADKOWSKI, 2001; JACOBY e MUNOZ-PRICE, 2005; PATERSON e BOMONO, 2005; PEREZ, ENDIMIANI, *et al.*, 2007).

### 2.3.2 $\beta$ -lactamases AmpC

O primeiro relato de uma bactéria resistente à penicilina ocorreu em 1940 em uma cepa de *Escherichia coli* (ABRAHAM e CHAIN, 1940). Atualmente, sabe-se que essa capacidade era devida a produção de uma  $\beta$ -lactamase AmpC, que só foi sequenciada mais de 40 anos depois, em 1981 (JACOBY, 2009). As  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC são serino-proteases pertencem a Classe C da classificação molecular e ao grupo “1” da classificação funcional de Bush e cols; ou seja, são cefalosporinases que não são inibidas pelo ácido clavulânico ou tazobactam (AMBLER, 1980; BUSH, JACOBY e MEDEIROS, 1995; BUSH e JACOBY, 2010).

Essas enzimas conferem resistência à maioria dos  $\beta$ -lactâmicos, com exceção dos carbapenêmicos. Embora a taxa de hidrólise do cefepime seja muito baixa, ela pode ocorrer se quantidades suficientes de enzima forem produzidas (JACOBY, 2009). A maioria das enzimas AmpC é codificada em cromossomos, mas algumas também são encontradas em plasmídeos (MATA, MIRO, *et al.*, 2012). Nas *Enterobacteriaceae*, as  $\beta$ -lactamases AmpC são frequentemente cromossomais e a taxa de expressão é baixa, mas induzível pela exposição aos  $\beta$ -lactâmicos (BUSH, 2010).

A produção de AmpC em níveis baixos pode anular a atividade antibacteriana das cefalosporinas. Contudo, especialmente quando produzida em níveis elevados, essas enzimas podem inativar outros  $\beta$ -lactâmicos. Nesses casos, a expressão de AmpC parece ser induzida pela presença de determinados agentes, como a amoxicilina ou o ácido clavulânico, ou ainda, ocorre devido à seleção de um mutante estável durante a terapia com cefalosporinas de amplo espectro. A mutação no gene *ampD* é a causa mais comum de hiperprodução constitutiva dessas enzimas (JACOBY, 2009; BUSH, 2010).

Dentre as *Enterobacteriaceae* mais frequentemente associadas ao desenvolvimento de infecções, as espécies dos gêneros *Citrobacter* e *Enterobacter*, *S. marcescens*, *Providencia stuartii*, *Morganella morganii*, e *E. coli* expressam enzimas AmpC cromossomais (JACOBY, 2009). A presença dessas enzimas codificadas em plasmídeos foi verificada em *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *Salmonella enterica* (MATA, MIRO, *et al.*, 2012; CARATTOLI, 2009; PHILIPPON, ARLET e JACOBY, 2002; POLSFUSS, BLOEMBERG, *et al.*, 2011).

Segundo Bush (2010), o tratamento de microrganismos produtores  $\beta$ -lactamases AmpC induzível tem gerado algumas controvérsias, pois, embora alguns grupos de pesquisadores recomendem que esses sejam considerados resistentes a todas as cefalosporinas de terceira geração, os dados clínicos que fundamentam essa recomendação são confusos, com estudos demonstrando taxas de emergência de resistência altamente variáveis. Em estudo conduzido por Choi *et al.* (2007), verificou-se que 5% dos isolados enterobactérias produtoras de AmpC se tornaram resistentes às cefalosporinas de amplo espectro durante o tratamento, em oposição aos 19% encontrados por Chow (1991), que avaliou somente isolados de *Enterobacter* sp. em infecções de corrente sanguínea (LEE, JEONG, *et al.*, 2008).

## 2.4 Epidemiologia de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração

Enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração emergiram como patógenos tipicamente nosocomiais, onde eram responsáveis frequentemente por surtos, particularmente em UTI. Em virtude disso, sua frequência é constantemente monitorada nos hospitais. Entretanto, já é conhecido o grande potencial de disseminação das cepas resistentes, principalmente daquelas produtoras de ESBL, e mais recentemente de AmpC em diferentes hospitais e em diferentes países (LIVERMORE, CANTON, *et al.*, 2007; ARPIN, DUBOIS, *et al.*, 2003).

Historicamente, a maior ameaça de ESBL emanava de microrganismos provenientes de surtos hospitalares, com destaque para *Klebsiella* sp. e *E. coli* produtoras de enzimas tipo TEM ou SHV e, mais recentemente de CTX-M (LEWIS II, HERRERA, *et al.*, 2007). Todavia, dados recentes indicam que microrganismos produtores de ESBL representam um problema emergente também nos ambientes ambulatoriais em várias partes de mundo, com vários relatos em países como Canadá, Estados Unidos, França, Espanha, Reino Unido, Israel e Coréia, indicando que, embora originalmente confinadas nos hospitais, as cepas produtoras de ESBL estão emergindo também na comunidade (BUSH, 2008; LEWIS II, HERRERA, *et al.*, 2007; ARPIN, DUBOIS, *et al.*, 2003; BANÕ, CISNEROS e GRILL, 2008; LIVERMORE, CANTON, *et al.*, 2007; PITOUT, NORDMANN, *et al.*, 2005; ROSSOLINI, D'ANDREA e MUGNAIOLI, 2008).

### 2.4.1 ESBL e AmpC no mundo

A resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos nos bacilos Gram negativo está se expandindo globalmente, com diferentes níveis de resistência regional, que podem variar significativamente (HAWSER, BOUCHILLON, *et al.*, 2009; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011; HAWKEY e JONES, 2009). Vários estudos publicados recentemente têm descrito as características microbiológicas e epidemiológicas desses microrganismos ao redor do mundo.

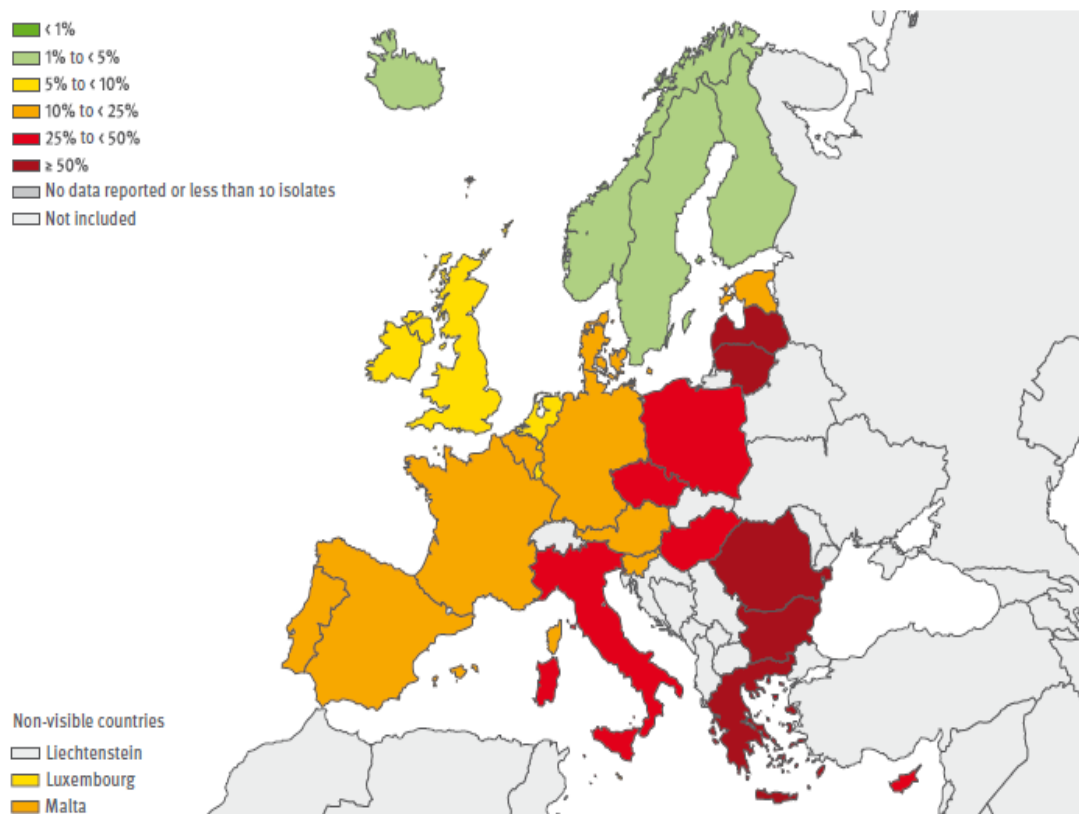
Na Europa há uma considerável variação geográfica de resistências às cefalosporinas de terceira geração. Essa variação ocorre ainda dentro de cada um dos países, entre diferentes instituições (PATERSON e BOMONO, 2005). Embora os primeiros casos de ESBL tenham sido relatados na Alemanha e Inglaterra, a absoluta maioria dos casos ocorreu na França, com o primeiro grande surto ocorrido em 1986. Atualmente, surtos de infecção por microrganismos resistentes às cefalosporinas de terceira geração têm sido relatados em todos os países europeus, e a maioria dos casos, entre 65% e 100%, é devida à produção de ESBL (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011).

O relatório do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) de 2008 já havia mostrado um aumento contínuo de isolados invasivos de *E. coli* e *K. pneumoniae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração desde o ano 2000 nos hospitais europeus (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2009). Segundo dados do último relatório publicado em 2011, considerando informações dos 28 países participantes, 8,5% dos isolados de *E. coli* eram resistentes a esses antibióticos, com uma expressiva variação 2,6% na Suécia a 24,8% na Bulgária (Fig. 2). Para *K. pneumoniae*, a taxa de isolados invasivos resistentes às cefalosporinas de terceira geração foi de 27,5%, com uma variação substancial, de 1,7% na Suécia a 75,6% na Bulgária, mas com dados alarmantes com taxas entre 25% a 50% em cinco países e superior a 50% em outros cinco: Bulgária (75,6%), Grécia (74,6%), Romênia (70,6%) Lituânia (50,6%), Letônia (54,7%). (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011) (Fig. 3).



**Figura 2** - *Escherichia coli*: proporção de isolados resistentes às cefalosporinas de terceira geração em 2010.

Fonte: European Centre for Disease Prevention and Control, 2011.



**Figura 3** - *Klebsiella pneumoniae*: proporção de isolados resistentes às cefalosporinas de terceira geração em 2010.

Fonte: European Centre for Disease Prevention and Control, 2011.

O primeiro relato de infecção causada por microrganismos produtores de ESBL fora do ambiente hospitalar ocorreu em 1998 na Irlanda, quando uma *E.coli* com esse perfil foi isolada na urina de um paciente idoso sem história recente de hospitalização, mas com história de uso de múltiplos antibióticos (CORMICAN, MORRISA, *et al.*, 1998). Desde então, diversos estudos têm mostrado a disseminação desses microrganismos em todo o continente europeu. Na Espanha, no início da década de 2000, estudando episódios de infecções causadas por *E. coli* em pacientes não hospitalizados, Banõ e cols, 2004, observaram que 1,4% de todos os isolados provenientes de ITU e 15,1% daqueles oriundos de infecções de corrente sanguínea (ICS) eram produtores de ESBL (BANÕ, NAVARRO, *et al.*, 2004). Em outro estudo, avaliando apenas episódios de ICS ligadas à comunidade causadas por *E. coli* ESBL em 13 hospitais terciários na Espanha, os autores encontraram percentual médio de ocorrência de 7,3%, com uma variação entre 3% e 18% (BANÕ, PICÓN, *et al.*, 2010). Na Holanda, analisando amostras de pacientes com queixas intestinais, verificou-se uma alta taxa de colonização (10,1%) por

enterobactérias produtoras de ESBL, a maior parte *E. coli* (REULAND, OVERDEVEST, *et al.*, 2012).

A Ásia possui uma longa história de ocorrência de bactérias produtoras de ESBL, mas com exceção de poucos centros, o interesse por essas bactérias é um fenômeno relativamente recente e não há relatos abrangentes de incidência de ESBL na década de 1980 e início de 1990 (HAWKEY, 2008). Dados mais recentes do Programa SMART (do inglês *Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends*), que avalia infecções intra-abdominais, demonstraram elevada frequência de *E. coli* e *K. pneumoniae* produtoras de ESBL, superior a 55% na China e 79% na Índia para a primeira, e superior a 45,5% na Tailândia, e 69% na Índia para a segunda (HAWSER, BOUCHILLON, *et al.*, 2009; PITOUT, 2010).

A elevada frequência de bacilos Gram negativo produtores de ESBL nos hospitais da Ásia sugere que esses também podem ser comuns na comunidade. Na Coreia do Sul, a frequência de pacientes saudáveis portadores de enterobactérias produtoras de ESBL avaliada entre os anos de 2010 e 2011 foi de 20,6% (KO, MOON, *et al.*, 2012). Em estudo multicêntrico realizado na China, a frequência de *E. coli* produtoras de ESBL foi de 16%, a mais alta encontrada para essa bactéria entre todos os países asiáticos, cujas taxas variam entre 0,5 e 11,3%. Entretanto, a prevalência de *Klebsiella* spp. produtora de ESBL foi de 17%, sendo comparável às taxas encontradas nos demais países (LING, XIONG, *et al.*, 2006). Em estudo realizado no norte da Índia por Gupta e Datta (2007), 24% das enterobactérias isoladas de pacientes ambulatoriais e atendidos em clínicas eram produtoras de ESBL, sendo que 16,6% foram isoladas de pacientes com infecções consideradas comunitárias (GUPTA e DATTA, 2007). O dado mais alarmante vem da Tailândia, onde os índices de colonização intestinal por esses microrganismos em indivíduos saudáveis de uma área rural, considerando apenas ESBL do tipo CTM-X, ultrapassaram 65% (LUVSANSCHARAV, HIRAI, *et al.*, 2012).

Na América do Norte, inquéritos epidemiológicos têm demonstrado padrões nitidamente diferentes de produção de ESBL entre Estados Unidos e Canadá. No primeiro, depois de pronunciado aumento na frequência desses microrganismos nos anos 1990, estudos mais recentes têm demonstrado queda dos números. Surpreendentemente, menos de 1,5% das cepas de *E. coli* isoladas entre 2001 e 2004



produziam ESBL, e um baixo nível de produção de ESBL (2,4% - 4,4%) foi observado em *Klebsiella* spp (BUSH, 2008). Como se pode observar, essa informação contrasta com o aumento de produtores de ESBL, que é superior a 10% em ambos os gêneros isolados no mesmo período na Europa. No Canadá, em estudo multicêntrico sobre patógenos resistentes a antimicrobianos isolados em UTI, Zhanel et al. (2008) observaram que 3,5 % de *E. coli* e 1,8% de *K. pneumoniae* eram produtoras de ESBL (ZHANEL, DECORBY, et al., 2008). Embora esses números sejam considerados baixos, comparados aos de outros países, houve considerável elevação de *E. coli* produtora de ESBL em bacteremias no período de 2000-2010, saltando de 2% para 8% no final da década (PEIRANO, BIJ, et al., 2012). No México, que é social, cultural e economicamente considerado como integrante da América Latina, em estudo realizado em enterobactérias isoladas de corrente sanguínea, em um hospital de alta complexidade, 50% eram produtoras de ESBL. (MUROA, GARZA-GONZÁLEZ, et al., 2012).

Relatos sobre a existência de enterobactérias produtoras de ESBL na África são escassos, e há grande dificuldade para obtenção de dados recentes. Segundo Paterson e Bomono (2005) vários surtos causados por *Klebsiella* sp. têm sido relatados na África do Sul, entretanto nenhum estudo de vigilância nacional foi publicado. Surtos pelo mesmo grupo de bactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração têm sido relatados na Nigéria e no Quênia. Em estudo realizado por Frank et al. (2006) entre os anos de 2003-2005 na República da África Central, 4% dos isolados eram produtores de ESBL e estavam associadas a infecções de trato urinário, pneumonia em pacientes com AIDS, infecção de ferida, colonização vaginal ou intestinal e infecções de ouvido (FRANK, ARLET, et al., 2006)

#### 2.4.2 ESBL na América Latina

De maneira geral, a disseminação de infecções por bactérias resistentes, incluindo as produtoras de ESBL, tem sido maior em países com menor poder econômico, o que pode ser explicado pelas condições econômicas e sociais mais baixas, nos quais

frequentemente os hospitais são superlotados e há automedicação com antibióticos que, em geral, não apresentam venda controlada (AMÁBILE-CUEVAS, 2010). Tal fato poder ser evidenciado quando comparamos os dados de frequência na Suécia e Finlândia (2,6% e 3,7%), com aqueles encontrados na Grécia, Turquia e Portugal (>20%) ou na América do Sul, onde ultrapassam os 30% (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011; VILLEGAS, KATTAN, *et al.*, 2008).

Segundo dados do Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY, que monitora os principais patógenos isolados de infecções de corrente sanguínea, pneumonia, pele e tecidos moles em pacientes hospitalizados e seus respectivos os padrões de resistência, coletados entre os anos de 2008 e 2010 em quatro países (Brasil, Argentina, Chile e México), 24,7% de *E. coli* e 52,7% de *Klebsiella* spp. apresentavam fenótipo ESBL. Para *E. coli*, a maior frequência de isolados com fenótipo ESBL foi observada no México (48,4%). Para *Klebsiella* spp. a maior frequência de isolados ESBL foi observada na Argentina (60,4%). (GALES, CASTANHEIRA, *et al.*, 2012). Os dados são apresentados resumidamente abaixo (Tabela 1).

**Tabela 1-** Frequência de fenótipos ESBL em isolados de amostras coletadas pelo SENTRY na América Latina entre os anos de 2008-2010.

País	Percentual de fenótipo ESBL	
	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
Argentina	18,1%	60,4%
Chile	23,8%	59,2%
Brasil	12,8%	49,9%
México	48,4%	33,3%

Adaptado de Gales et al.( 2012)

Segundo dados do programa SMART (que avalia apenas bactérias isoladas de infecções intra-abdominais) coletados em 2008 em 10 países da América Latina, 26,8% dos isolados de *E. coli* e 37,7% de *K. pneumoniae* eram produtores de ESBL (VILLEGAS, BLANCO, *et al.*, 2011). Cabe ressaltar que poucos países da América Latina possuem programas nacionais de vigilância para monitorar a resistência aos antimicrobianos, o

que torna ainda mais difícil estimar a real frequência das infecções causadas por bactérias resistentes.

#### 2.4.3 ESBL no Brasil

No Brasil, muitos trabalhos têm relatado a frequência de infecções causadas por enterobactérias produtoras de ESBL, sobretudo no ambiente hospitalar. Nogueira et al. (2006), analisando amostras isoladas em pacientes hospitalizados em Curitiba, encontraram uma frequência de enterobactérias produtoras de ESBL de 24,3%, das quais 57,4% correspondiam a *K. pneumoniae* e 7,2% a *E. coli*. (NOGUEIRA, HIGUTI, et al., 2006).

Resultado semelhante foi encontrado por Wollheim et al. (2011), que observou uma frequência de 21,8% de produtores de ESBL em enterobactérias isoladas em pacientes hospitalizados no Rio Grande do Sul, das quais 43,7% dos isolados eram *K.pneumoniae* e 6,7% eram *E. coli* (WOLLHEIM, GUERRA, et al., 2011). Dropa et al. (2009) observaram que, das enterobactérias produtoras de ESBL isoladas de pacientes hospitalizados, 75,6% corresponderam a *K. pneumoniae* e 9,3% a *E. coli* (DROPA, BALSALOBRE, et al., 2009). Conforme visto anteriormente, dados do SENTRY coletados entre os anos de 2008 e 2010 em quatro centros no Brasil (São Paulo, Porto Alegre, Brasília e Florianópolis) apontam que 12,8% dos isolados de *E. coli* e 49,9% dos isolados de *Klebsiella* spp. são produtores de ESBL.

No país, em geral, são divulgados dados coletados de instituições isoladas, haja vista que não existem de programas de vigilância nacional, o que impede o reconhecimento da verdadeira frequência de bactérias resistentes e dificulta a comparação entre dados de diferentes regiões, pois existe considerável variação entre metodologias utilizadas em diferentes estudos.

Os relatos brasileiros de infecções por enterobactérias ESBL adquiridas na comunidade são restritos e incluem isolados em infecções de tecidos moles (úlceras de pés

diabéticos) com frequência de 7,25% (MOTTA, OLIVEIRA, *et al.*, 2003), infecções de trato urinário com prevalência de 1,48% (MINARINI, POIRELA, *et al.*, 2007). Wollheim *et al.* (2011) observaram uma frequência de 0,5% de produtores de ESBL em amostras coletadas de pacientes nas primeiras 48h de admissão hospitalar, demonstrando que as cepas produtoras dessas  $\beta$ -lactamases também estão se disseminando na comunidade. Todavia, a maioria dos estudos ainda se limita a determinar a frequência dessas bactérias no ambiente hospitalar, carecendo de estudos que determinem a real frequência dessas em infecções adquiridas na comunidade.

## **2.5 Fatores de risco para a aquisição de enterobactérias produtoras de ESBL**

Os fatores de risco para as aquisições de enterobactérias (merecendo destaque aquelas causadas por *E. coli* e *Klebsiela* sp.) produtoras de ESBL em pacientes hospitalizados, sobretudo em UTI são amplamente descritos nas diversas partes do mundo. Banõ *et al.* (2010) apontaram o transplante de órgãos, utilização prévia de cefalosporinas de terceira geração, fonte desconhecida da infecção e tempo de permanência no hospital como fatores de risco para aquisição de infecções na corrente sanguínea por *E. coli* produtoras de ESBL (BANÕ, PICÓN, *et al.*, 2010). Hospitalização prévia, uso de cateter, além do uso prévio de antibióticos foram apontados por Demirdag e Hosoglu (2010). Além desses, Kuster *et al.* (2010) relatam a realização viagens para países com elevada frequência dessas bactérias e ocorrência ventilação mecânica durante a permanência na UTI como fatores de risco para a aquisição desses microrganismos (KUSTER, 2010).

No Brasil, também estudando os fatores de risco para aquisição de enterobactérias produtoras de ESBL em ambiente hospitalar, Surperti *et al.* (2009) encontraram resultados semelhantes aos estudos internacionais e apontaram ainda a exposição recente à associação piperacilina-tazobactam como fator de risco para isolamento dessas bactérias em ICS e, embora o uso de nenhuma cefalosporina específica tenha sido independentemente associado, em modelo secundário considerando todas as oximino-cefalosporinas como variável única, foi demonstrada associação significativa (SUPERTI, AUGUSTI e ZAVASCKI, 2009).

Considerando as infecções por enterobactérias ESBL adquiridas na comunidade, Banõ et al. (2008) descreveram idade superior a 60 anos, acompanhamento ambulatorial prévio, cateterização das vias urinárias e uso de cefalosporinas de terceira geração ou fluoroquinolonas como fatores independentes para aquisição de *E. coli* produtoras de ESBL em pacientes com bacteremia (BANÕ, CISNEROS e GRILL, 2008). Hsieh *et al* (2010) apontaram a exposição recente a antibióticos e novamente a cateterização das vias urinárias como fatores de risco para infecção de corrente sanguínea adquirida fora do ambiente hospitalar (HSIEH, SHEN e HWANG, 2010).

### 3 JUSTIFICATIVA

Na última década, enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração têm emergido e se disseminado fora do ambiente hospitalar. Infecções por essas bactérias têm sido associadas a aumento de morbidade, mortalidade, tempo de internação e despesas hospitalares. Estudos recentes sugerem que o atraso em uma terapia antimicrobiana efetiva, que é mais provável de ocorrer em casos de infecções por bactérias multirresistentes, está associado a piores resultados clínicos. Embora os fatores de risco para aquisição de infecções causadas por enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração, com destaque para aquelas produtoras de ESBL, em ambientes hospitalares estejam bem estabelecidos, tais fatores ainda não são bem definidos para infecções já presentes à admissão hospitalar. No Brasil, ainda há escassez de dados relativos à distribuição dessas enterobactérias entre os patógenos ligados a infecções comunitárias e associadas à assistência a saúde. Parece razoável supor que a determinação da frequência de enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração e o conhecimento dos fatores associados à sua aquisição poderiam auxiliar na identificação dos pacientes sob maior risco de infecções por esses agentes, orientando a instituição precoce de terapia antibiótica apropriada. Além disso, o conhecimento dos fatores associados à colonização ou infecção por esses microrganismos permitiria a instituição mais precoce de medidas para controle da sua disseminação no ambiente hospitalar.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

Determinar a frequência, os fatores de risco e o impacto na evolução clínica de enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras biológicas obtidas nas primeiras 48h de internação de pacientes admitidos em um hospital universitário.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Identificar a frequência de cepas produtoras de ESBL entre os isolados de enterobactérias obtidos em amostras coletadas nas primeiras 48h de internação
- Identificar a frequência de cepas produtoras de AmpC entre os isolados de enterobactérias obtidos em amostras coletadas nas primeiras 48h de internação
- Determinar os fatores de risco associados à presença de enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração à admissão hospitalar.
- Propor um *score* de risco a fim de determinar a probabilidade de isolamento de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração em amostras coletadas nas primeiras 48 horas de internação.
- Avaliar o impacto de infecções por enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração na evolução clínica do paciente, medida pelas variáveis: tempo de internação, internação em CTI ou Sala de emergência, resposta ao tratamento antimicrobiano e óbito durante a internação.
- Identificar as principais espécies de enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração nos pacientes com infecções identificadas nas primeiras 48 horas de internação.
- Determinar os principais sítios acometidos por infecções diagnosticadas nas primeiras 48 horas de internação causadas por enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração.
- Comparar a frequência da terapia antibiótica empírica apropriada entre os pacientes com infecções causadas por enterobactérias resistentes às

cefalosporinas de terceira geração e aqueles com infecções causadas por enterobactérias sensíveis a essas, e o eventual impacto sobre os desfechos clínicos (tempo de internação, mortalidade hospitalar).



## 5 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

### **Risk factors and impact on clinical outcome of *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins isolated in samples obtained within the first 48 hours of hospitalization.**

Mirian C. Oliveira, Clara R. A. Oliveira, Karine Gonçalves, Marciléa Santos, Amanda Tardelli, Vandack Nobre.

Graduate Program in Infectious Diseases and Tropical Medicine, Internal Medicine Department, School of Medicine and University Hospital – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

#### **Abstract**

The present study evaluated the frequency, the risk factors, and the harmful consequences of the presence of *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins in samples collected within the first 48 hours of hospitalization. Risk factors were evaluated using a 1:2 ratio case-control study. Thereafter, influence of resistance on the response to the antibiotic therapy, length of stay, and hospital mortality were prospectively evaluated. Discriminative characteristics were determined by using logistic regression, and a risk score for resistant enterobacteria was proposed. *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins accounted for 26.0% of 238 isolated *Enterobacteriaceae*. Male gender (OR, 2.5; IC95%, 1.2-5.4;  $P=0.016$ ), presence of stoma (OR, 5.1; IC95%, 1.5-17.7;  $P=0.010$ ), and hospitalization in the prior six months (OR, 5.2; IC95%, 2.4-10.9;  $P<0.001$ ) were independently associated with the presence of these microorganisms. The probability of resistant *Enterobacteriaceae* increased proportionally to the number of points in a risk score built from the regression analysis (from 26.1% for 1 point to 93.5% for 5 points). Isolation of these bacteria was associated with a worse clinical response to the antimicrobial therapy ( $P=0.029$ ), a

longer length of stay ( $P<0.001$ ) and a higher frequency of inappropriate antimicrobial therapy ( $P<0.001$ ). Finally, age, admission to the intensive care unit, and another site of infection than Urinary Tract were associated to higher hospital mortality. The frequency of *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins was considerably high. Risk factors identified in this study may help in the choice of empirical antibiotic therapy for patients with suspected infections due to this group of bacteria.

**Keywords:** *Enterobacteriaceae*, third generation cephalosporins, risk factors, antibiotic resistance, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL).

## Introduction

*Enterobacteriaceae* are responsible for a wide variety of nosocomial and community-acquired infections [1,2]. Given their versatility, low toxicity, and broad spectrum of action,  $\beta$ -lactam antibiotics, such as the third generation cephalosporins, and the associations of  $\beta$ -lactam antibiotics and  $\beta$ -lactamase inhibitors are the main choice for the treatment of infections caused by these microorganisms [3]. However, along with their overuse, a decrease in the effectiveness of these compounds has been observed in recent years [4]. The production of  $\beta$ -lactamases is recognized as the main mechanism of  $\beta$ -lactam antibiotic resistance [5].

In *Enterobacteriaceae*, antibiotic resistance due to the production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL-E) and overexpression of AmpC cephalosporinase (AmpC-E) is cause for great concern and produce a significant impact both on empirical and definitive therapy [6]. Moreover, this resistance may lead to delays in the onset of effective antimicrobial therapy, with consequent impact on clinical results, and higher mortality rate [7].

Many studies have attempted to determine the risk factors for the nosocomial infections caused by *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins, and more recently, some publications have addressed those cases identified at the time of hospital admission [7-9]. Our aim was to determine the frequency, the risk factors, and the impact on the clinical outcome of the presence of *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins isolated in samples collected within the first 48 hours of hospitalization of patients admitted to a university hospital.

## Material and Methods

### *Study setting and subjects*

This two-phase single center study was conducted from August 2011 to July 2012, in a 501-bed University Hospital of Minas Gerais, Brazil. Firstly, a 1:2 ratio case-control protocol was run, in order to identify characteristics associated with colonization or

infection by resistant *Enterobacteriaceae* in samples obtained during the the first 48h of hospitalization. Thereafter, the included patients were followed up in order to identify the impact of these microorganisms in some clinical endpoints. All patients with 18 years of age or more, in which there was isolation of enterobacteria in samples collected in the pre-specified interval of hospitalization were assessed for potential inclusion. Patients with enterobacteria resistant to carbapenems were excluded from the study. The study was approved by the Ethics Committee of the institution and an informed consent form was obtained from all participants.

Patients included in the study were allocated into one of two groups: (i) cases, referring to those colonized or infected by *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins and, (ii) controls, patients colonized or infected by *Enterobacteriaceae* susceptible to third-generation cephalosporins. The two controls for each case included in the study were allocated sequentially, on the same day. Each patient was included in the study only once.

The patients were further categorized as (i) infected patients, if there was a clinical suspicion of active infection leading to prescription of antibiotic therapy and (ii) colonized patients, for those without clinical suspicion of infection or in whom there was isolation of enterobacteria from surveillance samples.

### ***Study procedures and definitions***

Demographic, clinical, and epidemiological data were collected by using a dedicated case report form. Data was obtained from interviews and by consulting electronic and printed records. The following variables were collected: age, sex, microbiological data, site of infection, presence of comorbidities (diabetes, chronic renal failure, liver failure, solid tumor, malignant hematological disease, heart failure and other), known immunosuppression (HIV infection, neutropenia with PMN  $< 500$  cls/mm<sup>3</sup>, use of corticosteroids in doses above 15 mg/day of prednisone or equivalent, use of other immunosuppressive drugs), hospitalization and previous use of antibiotics, performance of invasive procedures in the last four weeks, use of invasive prosthesis, presence of stoma, recurrent urinary tract infection (UTI), risk classification on admission according to the Protocol of Manchester [10], adequacy of initial empiric antibiotic treatment,

hospitalization in the intensive care unit (ICU), response to the antibiotic therapy, all-cause hospital mortality and hospital length of stay

Recurrence of urinary tract infection (UTI) was defined as the development of two or more documented episodes in the last six months. For the subgroup of infected patients, empirical treatment was considered appropriate when an antimicrobial regimen included an active antibiotic against the isolated enterobactérias, and was initiated at the recommended dose in the first 24 hours after the sample collection. In this subset of patients, the clinical response to the antimicrobial treatment was classified as: "*complete or partial resolution*", referring to the patients who presented total or partial improvement of fever, leukocytosis and clinical signs of infection, and "*therapeutic failure or uncertain result*", for those who, respectively, showed no decrease in these parameters at all or persisted with symptoms and signs that were not clearly attributable to infection [11].

Clinical outcome was assessed by means of the following variables: hospitalization in ICU or Emergency Room, length of hospital stay, and all-cause hospital mortality.

### ***Microbiological Analysis***

Bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing, including production of  $\beta$ -lactamases, were carried out in accordance with the recommendations of the *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [12]. Identification and ESBL production were confirmed by using the API 20E<sup>®</sup> and Vitek II<sup>®</sup> systems (both from bioMérieux). The detection of inducible AmpC  $\beta$ -lactamases was identified by means of a decreased sensitivity to cefoxitin [13].

### ***Statistical analysis***

Categorical variables were compared by using the Pearson's  $\chi^2$  test (or Fischer, in indicated cases). Continuous variables were compared using Student's t-test. In cases of abnormal distribution of quantitative variables, non-parametric tests were used, such as Mann-Whitney U test.

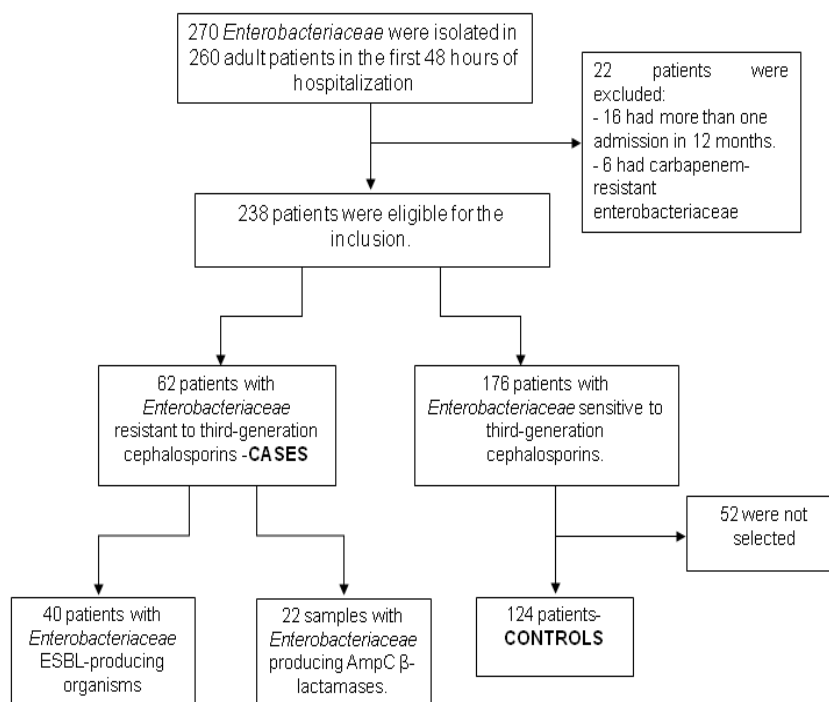
Multivariate logistic regression analysis was conducted to determine the independent risk factors associated with the presence of bacterial resistance and hospital death. All variables presenting the  $P$  value  $< 0.2$  in univariate analysis were included in the multivariate model, which was performed following a backward method. The Hosmer and Lemeshow test was applied to measure the multivariate models' adequacy. Furthermore, we used the results obtained in the regression analysis of risk factors to determine the probability of isolating a resistant *Enterobacteriaceae* in the studied patients (risk score) [14]

A logistic regression analysis with similar procedure as described above was performed to investigate the characteristics associated to hospital death. Furthermore, to evaluate the impact of the enterobacteria resistant to third-generation cephalosporins on the hospital length of stay, a Cox proportional hazards analysis was conducted. A two-tailed value of  $p < 0.05$  was considered as significant to all analysis. Statistical analyses were performed by using SPSS version 16.0 software.

## **Results**

### ***Selection of studied patients***

During the study period, 238 adult patients had one or more *Enterobacteriaceae* isolated from samples collected in the first 48 hours after hospital admission. Of this total, 62 (26.0%) patients presented *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins, of which 40 (64.5%) were ESBL and 22 (35.5%) were inducible  $\beta$ -lactamases-producing organisms. From the remaining 176 patients, 124 individuals were included as controls, by using the criteria described in Material and Methods. The flowchart presenting the inclusion procedures is summarized in figure 1.



**Figure 1 - Flowchart presenting the procedures for inclusion in the study.**

### *Demographic characteristics and comorbidities*

As shown in table 1, case patients had higher mean age as compared to controls ( $56.7 \pm 19.1$  years old vs.  $46.9 \pm 19.6$  years old,  $P= 0.001$ ), were more frequently male (53.2% vs. 25.8%;  $P<0.001$ ), and differently from the controls, usually presented two or more comorbidities (50.0% vs. 34.7%,  $P=0.044$ ). Specifically, heart failure (HF) was the only comorbidity significantly more frequent among cases (17.7% vs. 7.3%,  $P=0.031$ ).

**Table 1 - Demographic and clinical characteristics of patients in whom there was isolation of *Enterobacteriaceae* in samples collected in the first 48 hours of hospitalization.**

Variables	Cases n=62	Controls n=124	P
Male, n (%)	33 (53.2)	32 (25.8)	<0.001
Age, years, mean (SD)	56.7 (19.1)	46.9 (19.6)	0.001
<b>Comorbidities</b>			
<i>Diabetes mellitus, n(%)</i>	14 (22.4)	24 (19.4)	0.607
<i>Chronic renal failure, n(%)</i>	3 (4.8)	4 (3.2)	0.586
<i>Liver failure, n(%)</i>	3 (4.8)	3 (2.4)	0.361
<i>Solid Tumor, n(%)</i>	22 (35.5)	36 (29.0)	0.371
<i>Malignant Hematological Disease, n(%)</i>	3 (4.8)	4 (3.2)	0.586
<i>Heart Failure, n(%)</i>	11 (17.7)	9 (7.3)	0.031
<i>Presence of 2 or more comorbidities</i>	31 (50.0)	43 (34.7)	0.044
<b>Coexisting conditions</b>			
<b>Transplant</b>	4 (6.5)	10 (8.1)	0.694
<b>Immunosuppression, n(%)</b>	19 (30.6)	30 (24.2)	0.346
<i>Medicines, n(%)</i>	16 (25.8)	26 (21.0)	0.457
<i>HIV, n(%)</i>	2 (3.2)	2 (1.6)	0.475
<b>Primary site of infection</b>			<0.001
<i>Urinary tract, n(%)</i>	37 (59.7)	103 (83.1)	
<i>Respiratory tract, n(%)</i>	2 (3.2)	4 (3.2)	
<i>Bloodstream, n(%)</i>	2 (3.2)	6 (4.8)	
<i>Skin and soft tissue, n(%)</i>	6 (9.7)	6 (4.8)	
<i>Other sites, n(%)</i>	6 (9.7)	5 (4.0)	
<i>Surveillance samples</i>	9 (14.5)	0 (0.0)	
<b>Severity on admission (Manchester)</b>			
<i>Orange or red risk rating, n(%)</i>	21 (33.9)	38 (30.6)	0.656

### **Microbiological results**

Taking in account the whole sample of patients, there was a predominance of infected patients (81.7%); however, there was significantly more colonized individuals among cases as compared to controls (25.8% vs. 12.9%,  $P=0.028$ ). For both groups, UTI was the most common site of infection (83.1% in the control group vs. 59.7% in cases,  $P<0.001$ ). A significant difference was observed in the frequency of species of *Enterobacteriaceae* between the groups ( $P<0.001$ ). *Escherichia coli* was the most frequently species isolated among the controls (79.0%) while, amongst the cases, there was a predominance of *Klebsiella pneumoniae* (30.6%). The frequencies of species of isolated *Enterobacteriaceae* are presented in Table 2.



**Table 2 - *Enterobacteriaceae* isolated within the first 48 hours of hospitalization.**

<i>Enterobacteriaceae</i>	Frequency (%)		<i>P</i>
	Cases (n=62)	Controls (n=124)	
<i>Escherichia coli</i>	30.6	79.0	<0.001
<i>Klebsiella pneumonia</i>	30.6	9.7	
<i>Proteus mirabilis</i>	3.2	5.6	
<i>Enterobacter sp.</i>	24.2	-	
<i>Serratia marcescens</i>	6.0	-	
Others	5.4	5.7	
<b>Total</b>	100.0	100.0	

### ***Risk factors for Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins***

The univariate analysis testing the variables associated with the presence of *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins is summarized in Table 3. We observed that the composite presence of prosthesis or orthosis (44.4% vs. 17.4%,  $P<0.001$ ) and the presence of stoma (19.0% vs. 4.8%;  $P=0.002$ ) were significantly more frequent among cases as compared to controls. The main types of stoma observed in these patients were cystostomy (41.2%) and colostomy (23.5%). Finally, previous contact with health care services (performance of invasive procedures and/or prior hospitalization) and previous use of antibiotics were also more frequent in patients with resistant *Enterobacteriaceae* (Table 3).

**Table 3 - Univariate analysis of risk factors for patients with isolation of Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins in the first 48 hours of hospitalization compared with patients in whom there was isolation of sensible Enterobacteriaceae.**

<b>Risk factors</b>	<b>Cases n=62</b>	<b>Controls n=124</b>	<b>P</b>
<b>Patient transferred from another hospital, n (%)</b>	10 (16.4)	14 (11.3)	0.331
<b>Prosthesis or orthosis, n (%)</b>	24 (44.4)	21 (17.4)	<0.001
<b>Stoma</b>	11 (19.0)	6 (4.8)	0.002
<b>Recurrence of UTI</b>	18 (35.3)	27 (22.7)	0.088
<b>Pregnancy</b>	16 (9.4)	3 (17.6)	0.269
<b>Previous contact with health care services</b>			
<i>Invasive procedures</i>	24 (40.7)	20 (16.3)	<0.001
<i>Prior hospitalization in the last 3 months</i>	39 (68.4)	28 (24.1)	<0.001
<i>Prior hospitalization in the last 6 months</i>	33 (60.0)	24 (20.3)	<0.001
<i>Prior hospitalization in ICU in the last 6 months</i>	12 (22.6)	11 (9.3)	0.018
<b>Previous use of antimicrobials</b>			
<i>Last 90 days</i>			
<i>All</i>	39 (73.6)	56 (47.1)	0.001
<i>Cephalosporins</i>	15 (28.3)	14 (11.8)	0.007
<i>Quinolones</i>	11 (21.2)	17 (14.3)	0.264
<i><math>\beta</math>-lactam/<math>\beta</math>-lactamase inhibitor</i>	8 (15.1)	10 (8.4)	0.186
<i>Last 12 months</i>	38 (76.0)	41 (43.6)	<0.001

The following variables were included in the multivariate analysis: sex (included *a priori*), performance of an invasive procedure, use of the prosthesis or orthosis, presence of stoma, previous use of antibiotics in the past three months, previous use of cephalosporins in the past three months, previous use of  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor in the past three months, hospitalization in the past six months, recurrence of UTI, another primary site of infection than UTI on admission, presence of two or more comorbidities and presence of HF. The variables independently associated with the presence of *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins are shown in Table 4.

**Table 4 - Independent risk factors for the isolation of Enterobacteriaceae resistant to third generation cephalosporins in samples collected in the first 48 hours of hospitalization.**

Variable	Coefficient ( $\beta$ )	OR (95% CI)	P
Male	0.938	2.56 (1.19 – 5.47)	0.016
Stoma	<b>1.629</b>	5.09 (1.46 – 17.75)	0.010
Hospitalization in the last 6 months	<b>1.642</b>	5.16 (2.43 – 10.97)	<0.001
Constant	1.972	-	-

Considering the independent risk factors for *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins, a risk score was calculated to estimate the probability of isolating a resistant *Enterobacteriaceae* among the studied patients (table 5). Before that, the risk weights of the risk factors were separately calculated by dividing the regression estimate of each variable by the lowest regression estimate of the model (i.e., 0.938). The rounded – down or up - risk weights were as follows: Male gender (1 point), presence of stoma (2 points) and hospitalization in the last six months (2 points).

**Table 5 - Predicted probability for the isolation of Enterobacteriaceae resistant to third generation cephalosporins in samples collected in the first 48 hours of hospitalization, calculated according to the summed risk score.**

Summed risk score (points)	Predicted probability (%)
1	26.1
2	47.2
3	69.4
4	85.1
5	94.5

The predicted probability of resistant *Enterobacteriaceae* was calculated using the following formula [14]:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(-1.97 + \text{summed risk score} \times 0.937)}}$$

### ***Impacts on clinical outcome***

We prospectively tested the impact of being colonized or infected by enterobacteria resistant to third-generation cephalosporins on some clinical endpoints (Table 7). The occurrence of inappropriate empirical antibiotic therapy was significantly higher among the cases (73.3% vs. 10.3%,  $P < 0.001$ ) as compared to controls. Moreover, patients with resistant *Enterobacteriaceae* were most often admitted to the ICU or ER than controls (44.1% vs. 22.6%,  $P = 0.003$ ), and had worse clinical response to the antimicrobial therapy ( $P = 0.029$ ). Among the cases, 21% of patients evolved to death during

hospitalization against 10.5% of controls ( $P=0.052$ ). Finally, the median length of stay was significantly higher among cases (13.0 vs. 5.0,  $P<0.001$ ).

**Table 6 - Clinical impact of the presence of Enterobacteriaceae resistant to third generation cephalosporins in samples collected within the first 48 hours of hospitalization.**

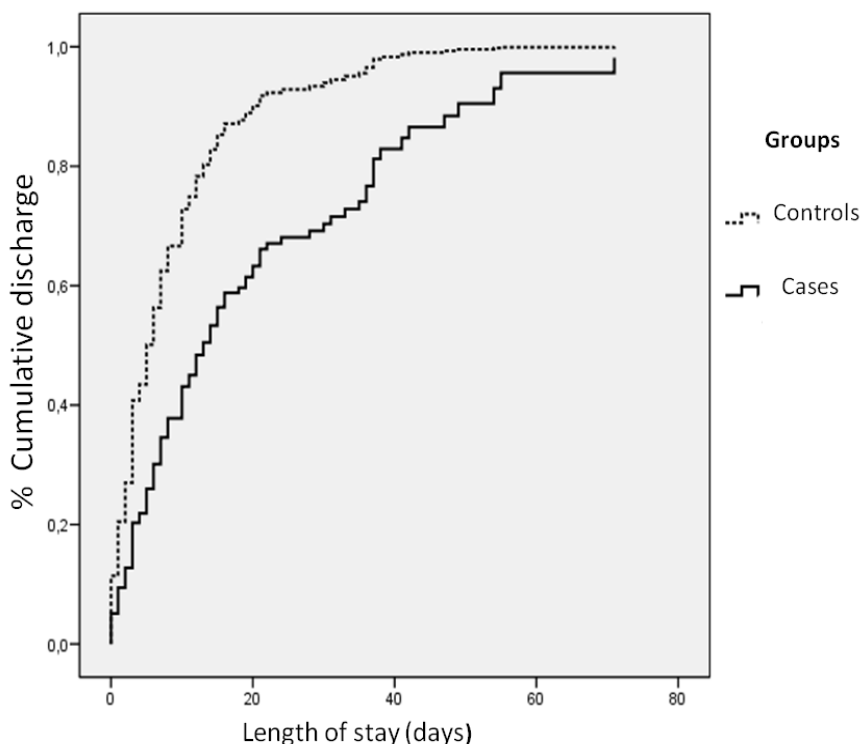
Clinical endpoints	Cases	Controls	<i>P</i>
<b>Inappropriate empirical antibiotic therapy</b>	73.3	10.3	<0.001
<b>Clinical response</b>			0,029
<i>Complete or Partial resolution</i>	30 (62.5)	87 (79.1)	
<i>Therapeutic failure or Uncertain result</i>	18 (37.5)	23 (20.9)	
<b>Length of stay, days, median (25-75)</b>	13 (4.75-31.0)	5 (1.25-9.75)	<0.001
<b>Hospitalization in UCI or ER</b>	26 (44.1)	28 (22.6)	0.003
<b>Hospital discharge condition (death), n (%)</b>	13 (21.0)	13 (10.5)	0.052

In the univariate analysis, five variables were associated with the occurrence of death during hospitalization, as shown in table 7. However, only increasing age (OR, 1.04; IC95%:1.01-1.06;  $P=0.006$ ), hospitalization in UCI or ER (OR, 8.22; IC95%: 2.95-22.88;  $P<0.001$ ) and another primary site of infection than UTI (OR, 3.33; IC95%:1.27-8.79;  $P=0.015$ ) proved to be independently associated to hospital death in the multivariate model.

**Table 7 - Univariate analysis of factors associated with the occurrence of death during hospitalization.**

Variable	Patients who died	Survivors	<i>P</i>
<b>Age, years, average (SD)</b>	61.2 (17.9)	48.8 (19.7)	0.002
<b>Presence of 2 or more comorbidities, (%)</b>	57.7	36.9	0.044
<b>Presence of UTI</b>	53.8	78.8	0.006
<b>Immunosuppression</b>	34.6	25.0	0.302
<b>Severity on admission (Manchester) Orange or red risk rating, n(%)</b>	34.6	31.2	0.732
<b>Admission on ICU or ER</b>	73.1	22.3	<0.001
<b>Inappropriate empirical antibiotic therapy, (%)</b>	48.0	25.2	0.022
<b>Enterobacteriaceae resistant to third generation cephalosporins (cases), (%)</b>	50.0	30.6	0.052

Finally, age higher than 50 years old (HR: 1.63; IC 95%: 1.18-2.27;  $P=0.003$ ) and presence of *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins (HR: 2.31; IC 95%: 1.59-3.34;  $P<0.001$ ) were independently associated with a longer length of stay (Figure 2).



**Figure 2 - Survival curve showing estimates of the hospital length of stay among patients with *Enterobacteriaceae* sensitive (controls) and resistant (cases) to third-generation cephalosporins (Cox proportional hazards model; hospital discharges due to death were censored).**

## Discussion

In this study, we demonstrated that the presence of *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins is quite common (26%) in cultures obtained in the first 48 hours of hospitalization of adult patients admitted in a university hospital in Brazil. The presence of stoma, hospitalization in the last six months, and be male proved to be risk factors independently associated with the presence of these bacteria. Also, the presence of resistant enterobacteria was associated with inappropriate empirical antibiotic therapy, longer hospital stay, and with a trend to higher hospital mortality.

In recent years, the frequency of *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins has increased and disseminated in the hospital environment [15-17, 4] and more recently in non-hospital settings [18, 19, 5, 6]. In Brazil, most studies conducted by now limited to determine the frequency of these pathogens and the risk factors associated with them in patients with nosocomial infections [20, 21]. The frequency of *Enterobacteriaceae* resistant to third generation cephalosporins found in this study was considerably high, and similar to that found in countries such as India [22], recognized as one of the highest in the world. This rate is also comparable to that observed in the nosocomial infections in small Brazilian hospitals [23, 24]. In high complexity hospitals the frequency of *Enterobacteriaceae* resistant to these antibiotics is even higher; for instance, according to data from the SENTRY Surveillance Program, 12.8% of isolates of *E. coli* and 49.9% of *K. pneumoniae* from Brazilian hospitals are ESBL-producing organisms, considering both nosocomial infections and those of community origin. However, in the few studies conducted in the country with outpatients the ESBL production rates are considerably lower [25] [26].

Notwithstanding the country of interest, most studies have pointed to the previous health assistance as risk factors for the presence of ESBL-determined resistance among *Enterobacteriaceae* identified in cultures obtained at the time of hospital admission [27, 28, 7]. Similarly to them, this study identified previous hospitalization in the last six months, and the presence of stoma as factors independently associated with the presence of these bacteria. Surprisingly, in the multivariate analysis, previous use of antibiotics - considering all classes together or cephalosporins and  $\beta$  lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor separately - was not associated with the presence of resistant enterobacteria. This finding should be interpreted with caution, because the simultaneous presence of characteristics related to previous health care might have precluded us to separate the independent effect of antibiotic exposure in the acquisition of resistant pathogens. Moreover, in some cases, the information regarding previous use of antibiotics was obtained by interviewing the patients, since it was not clearly recorded in the patients' charts. Therefore, we cannot rule out memory bias in these cases.

As for predominance in male patients, other studies also demonstrated an increased frequency of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* among men [27, 29, 9, 30], even if

this topic is controversial [31, 32, 8]. According to Behar (2008) the discrepancies are related to methodological differences between the studies, especially the selection of the control group, as well as differences in infection presentation and antibiotics prescribing practices between genders (e.g., women are more often affected by UTI) [33]. Finally, we observed a direct relation between the increase in the number of risk factors (and consequently, the increase in the summed risk score) and the predicted probability of isolating resistant strains among patients colonized or infected by enterobacteria. Once validated in another cohort of patients, these data could support the institution of a score-guided protocol of empirical antibiotic therapy for enterobacteria resistant to third-generation cephalosporins.

In this study, the presence of resistant *Enterobacteriaceae* was associated with worse clinical results, such as increased length of stay in the hospital, higher number of hospitalizations in the ICU and Emergency Room and, worse clinical response to the antibiotic treatment. However, although patients with resistant bacteria have presented higher average age and higher number of comorbidities there was no significant difference regarding the disease severity at hospital admission assessed by Manchester Protocol. Inappropriate antibiotic therapy proved to be significantly more common among the cases (73.3% vs. 10.3%), and represents one of the possible explanations for the worst outcome observed among patients with resistant enterobacteria. Delay in establishment of the appropriate antibiotic treatment has been correlated with a worse prognosis in several clinical conditions [34, 35, 29]. Finally, regarding the hospital stay, previous reports have shown an increase in the length of stay among patients with infections caused by Gram-negative Bacilli (GNB) resistant when compared to those with infections caused by sensitive GNB [36].

This study has several limitations. The main one refers to the fact that this is a single center study, involving a relatively small population, which might not reflect the patients admitted at other hospitals in Brazil or elsewhere. Thus, our findings must be validated in other cohorts, both inside and outside of Brazil. The characteristics of the patients studied here prevent us from stating that the resistant enterobacteria isolated in our patients are of community origin, being more accurate to affirm that they are associated with health care.

In conclusion, in the present study, consisting of adult patients admitted in a university hospital of high complexity in Brazil, the occurrence of enterobacteria resistant to third-generation cephalosporins is quite common. The recognition of risk factors associated with the presence of these bacteria can have an impact on the choice of the empirical antibiotic therapy, particularly in patients with organ dysfunction. In addition, the early identification of patients colonized or infected with these microorganisms allows the implementation of measures to control the spread of these bacteria in hospital environment.

### **Acknowledgements**

We strongly appreciate the support given by the Microbiology Laboratory's team from Hospital das Clínicas of UFMG, without which this work would not have been possible. This study was partially supported by the Foundation for Research Support of the State of Minas Gerais (FAPEMIG).



## References

1. Paterson D. Resistance in gram negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. Am J Infect Control, **2006**; 34(5): S21-28.
2. Coque T, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL- producing *Enterobacteriaceae* in Europe. Euro Surveill, **2008**; 13(47): 1-11.
3. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of  $\beta$ -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. Crit Care, **2010**; 14:224-231.
4. Asensio A, Alvarez-Espejo T, Fernandez-Crehuet JAR, et al. Trends in yearly prevalence of third-generation cephalosporin and fluoroquinolone resistant *Enterobacteriaceae* infections and antimicrobial use in Spanish hospitals, Spain, 1999 to 2010. Euro Surveill, **2011**; 16(40): 1-9.
5. Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. Infection, **2008**; 8:159-166.
6. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. J Antimicrob Chemother, **2009**; 64(1): i3-i10.
7. Rodriguez-Banõ J, Picón E, Gijó P, Hernández J, Ruíz M, Penã C. Community-Onset Bacteremia Due to Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli*: Risk Factors and Prognosis. Clin Infect Dis, **2010**; 50: 40-48.
8. Saely S, Kaye K, Fairfax M, Chopra T. Investigating the impact of the definition of previous antibiotic exposure related to isolation of extended spectrum  $\beta$ -Lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. Am J Infect Control, **2011**; 39: 390-395.
9. Doernberg SB, Winston LG. Risk factors for acquisition of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in an urban county hospital. Am J Infect Control **2012**; 40:123-127.
10. Mackway-Jones K, Marsden J, Windle J. Manchester Triage Group. Emergency Triage. London: BMJ Publishing Group, **1997**.
11. Lautenbach E, Patel J, Bilker W, Edelstein P, Fishman O. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors for Infection and Impact of Resistance on Outcomes. Clin Infect Dis, **2001**; 32:1162-1171.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 21th Informational Supplement. Approved standart M100-S21. Wayne, PA: CLSI, **2011**.
13. Coudron P, Moland E, Thomson K. Occurrence and Detection of AmpC  $\beta$ -Lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*

- Isolates at a Veterans Medical Center. *J Clin Microbiol*, **2000**; 38(5):1791-1796.
14. Sullivan LM, Massaro JM, D'Agostino RB. Presentation of multivariate data for clinical use: The Framingham Study risk score functions. *Stat Med*, **2004**; 23(10): 1631-1660.
  15. Bradford PA. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev*, **2001**; 14: 933–951.
  16. Villegas M, Blanco M, Sifuentes-Osornio J, Rossi, F. Increasing prevalence of extended-spectrum-beta lactamase among Gram-negative bacilli in Latin America – 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Braz J Infect Dis*, **2011**; 15(1): 34-39.
  17. Hawser S, Bouchillon S, Hoban D, Badal R. Emergence of High Levels of Extended-Spectrum-B-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in the Asia-Pacific Region: Data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program, 2007. *Antimicrob Agents Chemother*, **2009**; 53:3280–3284.
  18. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect*, **2001**; 7: 597–608.
  19. Pitout J, Nordmann P, Laupland K, Poirel L. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother*, **2005**; 56:52-59.
  20. Nogueira K, Higuti I, Nascimento A, Terasawa L. Occurrence of Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae* Isolated from Hospitalized Patients in Curitiba, southern Brazil. *Braz J Infect Dis*, **2006**; 10(6): 390-395.
  21. Superti S, Augusti G, Zavascki AP. Risk factors for and mortality of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, **2009**; 51(4): 211-216.
  22. Gupta V, Datta P. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in community isolates from North India: frequency and predisposing factors. *Int J Infect Dis*, **2007**; 11: 88-89.
  23. Lenhard-Vidal A, Cardoso R, Pádua R, Siqueira V. High prevalence rate of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) among *Enterobacteriaceae* in a small Brazilian public hospital. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2011**; 47(4):701-707.
  24. Santos D, Pimenta F, Alves R, Montalvão D, Santos D, Carmo Filho JR. Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in two hospitals

- in Goiânia/Brazil: Detection, Prevalence, Antimicrobial susceptibility and Molecular typing. *Brazilian Journal of Microbiology*, **2008**; 39: 608-612.
25. Minarini L, Poirela L, Trevisani N, Darini A, Nordmann P. Prevalence of Community-Occurring Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Brazil. *Curr Microbiol*, 2007; 54:335–341.
  26. Wollheim C, Guerra I, Conte V, et al. Nosocomial and community infections due to class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in southern Brazil. *Braz J Infect Dis*, **2011**; 15(2):138-143.
  27. Ben-Ami R, Rodriguez-Banõ J, Pitout J, et al. A Multinational Survey of Risk Factors for Infection with Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Nonhospitalized Patients. *Clin Infect Dis*, 2009; 49:682–690.
  28. Lee J, Kang C, Joo EH, et al. Epidemiology and Clinical Features of Community-Onset Bacteremia Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist*, 2010; 17(2):267-273.
  29. Rosa F, Pagani N, Fossati L, et al. The effect of inappropriate therapy on bacteremia by ESBL-producing bacteria. *Infection*, 2011; 39:555–561.
  30. Kang C, Wi, Y, Lee M, et al. Epidemiology and Risk Factors of Community Onset Infections Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains. *J Clin Microbiol*, 2012; 50(2):312–317.
  31. Rodriguez-Banõ J, Alcalá J, Cisneros J, Grill F. Community Infections Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med*, **2008**; 168(17):1897-1902.
  32. Calbo E, Romaní V, Xercavins M, et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother*, **2006**; 57:780–783.
  33. Behar P, Teixeira P, Fachel J, Kalil A. The effect of control group selection in the analysis of risk factors for extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. A prospective controlled study. *J Hosp Infect*, **2008**; 68: 123-129.
  34. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended spectrum  $\beta$ -lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, **2007**; 60:913–920.
  35. Tumbarello M, Treccarichi E, Bassetti M, et al. Identifying Patients Harboring Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* on Hospital Admission: Derivation and Validation of a Scoring System. *Antimicrob Agents Chemother*, **2011**; 55(7):3485–3490.

36. Mauldin P, Salgado C, Hansen I, Durup D, Bosso J. Attributable Hospital Cost and Length of Stay Associated with Health Care-Associated Infections Caused by Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, **2010**; 54(1):109-115.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A resistência às cefalosporinas de terceira geração nos microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, sobretudo devido à produção de ESBL, era tradicionalmente relatada apenas em infecções adquiridas em ambiente hospitalar, entretanto, na última década tem sido cada vez mais frequentes os relatos de infecções em pacientes em acompanhamento ambulatorial e também nas infecções comunitárias. Devido ao fato das *Enterobacteriaceae* serem os microrganismos mais frequentemente isolados nas amostras clínicas, sendo responsáveis pelos mais diversos tipos de infecções hospitalares e comunitárias, a disseminação de resistência nesse grupo é preocupante.

O sucesso do tratamento das infecções depende, em grande parte, da instituição de terapia antibiótica empírica apropriada, todavia a presença de bactérias resistentes aumenta as chances de erros no tratamento inicial e de atraso na instituição de terapêutica antimicrobiana apropriada, os quais estão associados a piores resultados clínicos, como aumento do tempo de internação, de morbidade e mortalidade, promovendo, conseqüentemente, aumento das despesas hospitalares. Contudo, as limitações terapêuticas não se restringem às oximino-cefalosporinas, uma vez que, em geral, as ESBL estão codificadas em grandes plasmídios conjugativos, que frequentemente carregam genes de resistência a outras classes de antibióticos. Embora menos frequentemente, as AmpC  $\beta$ -lactamases (notadamente conhecidas como cromossomais), podem também encontradas em plasmídios, tornando mais comum a sua disseminação.

O presente estudo avaliou o perfil de susceptibilidade das enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração a outros agentes antimicrobianos. A Tabela 2 apresenta os resultados da susceptibilidade aos antimicrobianos testados. Observou-se que, dos isolados nos quais a droga foi testada, 75,5% eram resistentes ao cefepime, 64,9% eram resistentes à sulfametoxazol-trimetoprim e 56,9% eram resistentes ao ciprofloxacino.

**Tabela 2 - Resistência a diferentes agentes antimicrobianos nas amostras de Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração.**

<b>Antimicrobiano</b>	<b>% de isolados resistentes</b>	<b>Nº de amostras nas quais a droga foi testada</b>
Amoxicilina – clavulanato	27 (90,0%)	30
Piperacilina – Tazobactam	38 (77,6%)	49
Cefepime	40 (75,5%)	53
Ertapenem	0 (0%)	44
Imipenem	0 (0%)	19
Meropenem	0 (0%)	47
Ciprofloxacino	29 (56,9%)	51
Gentamicina	18(34,6%)	52
Amicacina	1 (2,1%)	48
Sulfametoxazol-Trimetoprim	24(64,9%)	37

A elevada frequência de resistência a outros grupos de antibióticos nas *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL e/ou AmpC indica que inadequações na terapia antibiótica empírica podem ocorrer mesmo quando as cefalosporinas de terceira geração não são a droga de escolha, e opções como o fluoroquinolonas e sulfametoxazol-trimetoprim são feitas, limitando sobremaneira as opções terapêuticas. A amicacina e os carbapenêmicos mostraram-se como as opções terapêuticas mais confiáveis para o tratamento das infecções causadas pelas *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração. Entretanto, esse dado deve ser avaliado com cautela, pois apesar dos carbapenêmicos se mostrarem ativos contra as *Enterobacteriaceae*, a emergência de resistência a esse grupo pressupõe limitação ao uso excessivo desses.

A ideia deste estudo veio a partir de uma preocupação com o risco de que as terapias antibióticas instituídas empiricamente para os pacientes atendidos no Pronto Atendimento do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais estivessem sendo inapropriadas, dada a complexidade dos pacientes ali atendidos, e o consequente risco de infecção por microrganismos multirresistentes. Isso é mais verdadeiro para pacientes com quadros infecciosos mais graves (sepse grave ou choque séptico). Infelizmente, no presente estudo, não foi possível caracterizar os processos infecciosos apresentados pelos pacientes, definindo a sua gravidade.

Pretende-se, na sequência, validar os resultados deste estudo em uma segunda coorte, e propor um protocolo de terapia antibiótica empírica para pacientes com suspeita de infecção por enterobactérias admitidos no Pronto Socorro do Hospital das Clínicas, orientado pelo *score* de risco para microrganismos resistentes às cefalosporinas de terceira geração que incluísse um carbapenêmico, o qual seria mantido até a obtenção dos resultados microbiológicos. Os desfechos medidos seriam, por exemplo, frequência de terapia antibiótica inapropriada, tempo de internação, e mortalidade hospitalar.

## 7 CONCLUSÕES

De acordo com a análise dos dados obtidos no presente estudo, conclui-se que:

- A frequência de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras coletadas nas primeiras 48 h de internação de pacientes internados em um hospital universitário de alta complexidade foi elevada.
- Presença de estoma e nos últimos seis meses, e o sexo masculino foram considerados fatores de risco independentes para a presença de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração em amostras coletadas nas primeiras 48 h de internação.
- A probabilidade prevista de isolamento de enterobactérias resistentes às cefalosporinas de terceira geração se eleva gradualmente com a soma dos pontos obtidos para cada fator de risco no *score* calculado no presente trabalho.
- A presença de *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração foi associada a piores resultados ao tratamento antibiótico, a um maior tempo de internação, maior frequência de internação em CTI ou na Sala de Emergência.
- *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* foram as espécies mais frequentemente resistentes às cefalosporinas de terceira geração.
- O trato urinário foi o mais frequentemente acometido por *Enterobacteriaceae* resistentes.
- A frequência de terapia antibiótica empírica inapropriada foi significativamente maior nos pacientes com *Enterobacteriaceae* resistentes às cefalosporinas de terceira geração e esta foi associada a maior ocorrência de óbito.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, E. P.; CHAIN, E. An enzyme from bacteria able to destroy Penicillin. **Nature**, 146, 1940. 837.

AMÁBILE-CUEVAS, C. F. Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. **Journal of Infection in Developing Countries**, 4(3), 2010. 126-131.

AMBLER, R. P. The Structure of  $\beta$ -lactamases. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, 289, 1980. 321-331.

ARPIN, C. et al. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Community and Private Health Care Centers. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, 47, 2003. 3506–3514.

ASENSIO, A. et al. Trends in yearly prevalence of third-generation cephalosporin and fluoroquinolone resistant Enterobacteriaceae infections and antimicrobial use in Spanish hospitals, Spain, 1999 to 2010. **Eurosurveillance**, 16(40), 2011. 1-9.

BANÕ, J. R.; CISNEROS, J.; GRILL, F. Community Infections Caused by Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing Escherichia coli. **Archives of Internal Medicine**, 168(17), 2008. 1897-1902.

BANÕ, J. R. et al. Epidemiology and Clinical Features of Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli in Nonhospitalized Patients. **Journal of Clinical Microbiology**, 42(3), 2004. 1089–1094.

BANÕ, J. R. et al. Community-Onset Bacteremia Due to Extended-Spectrum b-Lactamase-Producing Escherichia coli: Risk Factors and Prognosis. **Clinical Infectious Diseases**, 50, 2010. 40-48.

BANÕ, J. R.; PATERSON, D. L. A Change in the Epidemiology of Infections Due to Extended-Spectrum b-Lactamase-Producing Organisms. **Clinical Infectious Diseases**, 42, 2006. 935–937.

BONNET, R. Growing Group of Extended-Spectrum b-Lactamases: the CTX-M Enzymes. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, 48(1), 2004. 1-14.

BRADFORD, P. A. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. **Clinical Microbiology Reviews**, 14, 2001. 933–951.

BUSH, K. Characterization of  $\beta$ -lactamases. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, 33, 1989. 259–263.

BUSH, K. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in North America, 1987–2006. **Clinical Microbiology and Infection**, 14 (1), 2008. 134–143.

BUSH, K. Bench-to-bedside review: The role of  $\beta$ -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. **Critical Care**, 14:224, 2010.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 54(3), 2010. 969–976.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A Functional Classification Scheme for  $\beta$ -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 39, 1995. 1211-1233.

CARATTOLI, A. Resistance Plasmid Families in Enterobacteriaceae. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 53(6), 2009. 2227–2238.

COQUE, T.; BAQUERO, F.; CANTON, R. Increasing prevalence of ESBL- producing Enterobacteriaceae in Europe. **Eurosurveillance**, 13 (47), 2008. 1-11.

CORMICAN, M. et al. Extended spectrum beta-lactamase production and fluorquinolone resistance in pathogens associated with community. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 32(4), 1998. 317-319.

DEMIRDAG, H.; HOSOGLU, S. Epidemiology and risk factors for ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: a case control study. **Journal of Infection in Developing Countries**, 4(11), 2010. 717-722.

DENTON, M. Enterobacteriaceae. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 29(3), 2007. S9–S22.

DROPA, M. et al. Extended-spectrum beta-lactamases among enterobacteriaceae isolated in a public hospital in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 51, 2009. 203-209.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. EARSS Annual Report 2008. **European Antimicrobial Resistance Surveillance System**, 2009.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. **Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)**, 2011.

FLEMING, A. The antibacterial action of cultures of a Penicillium, with special reference to their use in the isolation of B influenzae. **British Journal of Experimental Pathology**, 10, 1929. 226-236.

FRANK, T. et al. Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriaceae, Central African Republic. **Emerging Infectious Diseases**, 12, 2006. 863-865.

GALES, A. C. et al. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 73, 2012. 354-360.

GISKE, C. G. et al. Clinical and Economic Impact of Common Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(3), 2008. 813-821.

GISKE, C. G. et al. Redefining extended-spectrum b-lactamases: balancing science and clinical need. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 63, 2009. 1–4.

GNIADKOWSKI, M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. **Clinical Microbiology and Infection**, 7, 2001. 597–608.

GUPTA, V.; DATTA, P. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in community isolates from North India: frequency and predisposing factors. **International Journal of Infectious Diseases**, 11, 2007. 88-89.

HALL, B. G.; BARLOW, M. Revised Ambler classification of b-lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 10, 2005. 1050-1051.

HAWKEY, P. M. Prevalence and clonality of extended-spectrum b-lactamases in Asia. **Clinical Microbiology and Infection**, 14 (11), 2008. 159–165.

HAWKEY, P. M.; JONES, A. M. The changing epidemiology of resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 64 (1), 2009. i3-i10.

HAWSER, S. et al. Emergence of High Levels of Extended-Spectrum-B-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in the Asia-Pacific Region: Data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program, 2007. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, 53, 2009. 3280–3284.

HOLT, J. G. (Ed.). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000.

HOOTON, T. M. et al. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adults 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, 50, 2010. 625–663.

HSIEH, C. J.; SHEN, Y. H.; HWANG, K. P. Clinical Implications, Risk Factors and Mortality Following Community-onset Bacteremia Caused by Extended-spectrum. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, 43(3), 2010. 240–248.

JACOBY, G. A. AmpC B-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, 22(1), 2009. 161-182.

JACOBY, G. A.; MUNOZ-PRICE, L. S. The New B-lactamases. **The New England Journal of Medicine**, 352, 2005. 380-391.

JAURIN, B.; GRUNDSTROM, T. AmpC cephalosporinase of Escherichia coli K-12 has a different evolutionary origin from that of b-lactamases of the penicillinase type. **Proceeding of National Academy Sciences**, 78, 1981. 4897-4901.

JOHNSON, J. R. et al. Epidemic Clonal Groups of Escherichia coli as a Cause of Antimicrobial-Resistant Urinary Tract Infections in Canada, 2002 to 2004. **Antimicrobial Agents and chemotherapy**, 53(7), 2009. 2733–2739.

KAYE, K. S. et al. Risk Factors for Emergence of Resistance to Broad-Spectrum Cephalosporins among Enterobacter spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 45, 2001. 2628–2630.

KNOTHE, H. . E. A. Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefturoxime in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Serratia marcescens. **Infection**, 11, 1983. 315-317.

KO, Y. J. et al. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Korean community and hospital settings, 2012. Disponivel em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs15010-012-0272-3>>.

KUMAR, A. et al. Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock. **Chest**, 136, 2009. 1237–1248.

KUSTER, S. . E. A. Risks factors for infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at a tertiary care university hospital in Switzerland. **Infection**, 38(1), 2010. 33-40.

LEE, S. et al. Emergence of Antibiotic Resistance during Therapy for Infections Caused by Enterobacteriaceae Producing AmpC b-Lactamase: Implications for Antibiotic Use. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52(3), 2008. 995-1000.

LEWIS II, J. S. et al. First Report of the Emergence of CTX-M-Type Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases (ESBLs) as the Predominant ESBL Isolated in a U.S. Health Care System. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, 51, 2007. 4015–4021.

LING, T. et al. Multicenter Antimicrobial Susceptibility Survey of Gram-Negative Bacteria Isolated from Patients with Community-Acquired Infections in the People's Republic of China. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, 50(1), 2006. 374–378.

LIVERMORE, D. M. Defining an extended-spectrum b-lactamase. **Clinical Microbiology and Infection**, 14 (1), 2008. 3–10.

LIVERMORE, D. M. et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 59, 2007. 165-174.

LUVSANSHARAV, U. O. et al. Prevalence of and risk factors associated with faecal carriage of CTX-M  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in rural Thai communities. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 67(7), 2012. 1769-74.

Disponível em:  
<<http://jac.oxfordjournals.org/content/early/2012/04/18/jac.dks118.full.pdf+html>>.  
Acesso em: 03 Agosto 2012.

MATA, C. et al. Plasmid typing and genetic context of AmpC b-lactamases in Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes: findings from a Spanish hospital 1999–2007. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 67, 2012. 115–122.

MEDEIROS, A. A. Evolution and Dissemination of B-Lactamases Accelerated by Generations of B-lactams Antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**, 24, 1997. S19-S45.

MINARINI, L. et al. Prevalence of Community-Occurring Extended Spectrum b-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Brazil. **Current microbiology**, 54, 2007. 335–341.

MITSUHASHI, S.; INOUE, M. Mechanisms of resistance to betalactam antibiotics. **Springer Verlag**, 1981. 41–56.

MOTTA, R. N. et al. Plasmid-Mediated Extended-Spectrum b-lactamase-Producing Strains of Enterobacteriaceae Isolated from Diabetes Foot Infections in a Brazilian Diabetic Center. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 7(2), 2003. 129-134.

MUROA, S. et al. Risk Factors Associated with Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Nosocomial Bloodstream Infections in a Tertiary Care Hospital: A Clinical and Molecular Analysis. **Chemotherapy**, 58, 2012. 217-224.

NOGUEIRA, K. et al. Occurrence of Extended-Spectrum Beta-lactamases in Enterobacteriaceae Isolated from Hospitalized Patients in Curitiba, southern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 10(6), 2006. 390-395.

PATERSON, D. Resistance in gram negative bacteria: Enterobacteriaceae. **American Journal of Infection Control**, 34(5), 2006. S21-S28.

PATERSON, D.; BOMONO, R. Extended Spectrum B-lactamases: A Clinical Update. **Clinical Microbiology Reviews**, 18, 2005. 657-686.

PEIRANO, G. et al. Molecular Epidemiology over an 11-Year Period (2000 to 2010) of Extended-Spectrum B-Lactamase-Producing Escherichia coli Causing Bacteremia in a

Centralized Canadian Region. **Journal of Clinical Microbiology**, 50(2), 2012. 294–299.

PEREZ, F. et al. The continuing challenge of ESBLs. **Current Opinion in Pharmacology**, 7(5), 2007. 459–469.

PHILIPPON, A.; ARLET, G.; JACOBY, G. A. Plasmid-Determined AmpC-Type  $\beta$ -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 46, 2002. 1-11.

PITOUT, J. D. Recent changes in the epidemiology and management of extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae. **Medicine Reports** , 1:84, 2009.

PITOUT, J. D. Infections with Extended-Spectrum b-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Changing Epidemiology and Drug Treatment Choices. **Drugs**, 70 (3), 2010. 313-333.

PITOUT, J. et al. Emergence of Enterobacteriaceae producing Extended Spectrum B-Lactamase(ESBLs) in the community. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 56, 2005. 52-59.

POLSFUSS, S. et al. Practical Approach for Reliable Detection of AmpC Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*. **Journal of Clinical Microbiology**, 49(8), 2011. 2798–2803.

REULAND, E. A. et al. High prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae carriage in Dutch community patients with gastrointestinal complaints. **Clinical Microbiology and Infection**, 18(8), 2012.

RICHMOND, M. H.; SYKES, R. B. The  $\beta$ -lactamases of Gram negative bacteria and their possible physiological role. **Advances in Microbial Physiology**, 9, 1973. 31–88.

RONALD, A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. **The American Journal of Medicine**, 113, 2002. 14–19.

ROSSOLINI, G. M.; D'ANDREA, M. M.; MUGNAIOLI, C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum b-lactamases. **Clinical Microbiology and Infection**, 14 (1), 2008. 33–41.

SCHWABER, M. J.; CARMELI, Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended spectrum B lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 60, 2007. 913–920.

SUPERTI, S.; AUGUSTI, G.; ZAVASCKI, A. P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum-b-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 51(4), 2009. 211-216.

VALVERDE, A. et al. Dramatic Increase in Prevalence of Fecal Carriage of Extended Spectrum B-Lactamases-Producing Enterobacteriaceae during Nonoutbreak Situation in Spain. **Journal of Clinical Microbiology**, 42, 2004. 4769–4775.

VILLEGAS, M. V. et al. Prevalence of extended-spectrum b-lactamases in South America. **Clinical Microbiology and Infection**, 14 (1), 2008. 154–158.

VILLEGAS, M. V. et al. Increasing prevalence of extended-spectrum-beta lactamase among Gram-negative bacilli in Latin America – 2008 update from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 15(1), 2011. 34-39.

WINN, W. et al. **Konemam Diagnóstico Microbioológico: Texto e Atlas Colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

WOLLHEIM, C. et al. Nosocomial and community infections due to class A extended-spectrum b-lactamase (esbl)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Disease**, 15(2), 2011. 138-143.

ZHANEL, G. et al. Antimicrobial Resistant Pathogens in Intensive Care Units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) Study, 2005/2006. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 52 (4), 2008. 1430-1437.



## APÊNDICES

**Apêndice 1** - Questionário aplicado para obtenção de dados clínicos e laboratoriais.

### QUESTIONÁRIO

**Projeto:** *Enterobacteriaceae* produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48h de internação em um hospital geral: prevalência, fatores de risco e impactos na evolução clínica

Caso                       Controle

**IDENTIFICAÇÃO:** \_\_\_\_\_

**Nome:** \_\_\_\_\_

**No. Prontuário HC:** \_\_\_\_\_

**Sexo:** \_\_\_\_M \_\_\_\_F                      **Idade:** \_\_\_\_ anos

**Data de nascimento:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Data de internação no HC:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Data da coleta:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Data de inclusão no estudo:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

### DADOS MICROBIOLÓGICOS

**Enterobactéria isolada 1:** \_\_\_\_\_ **cod:** \_\_\_\_

**Enterobactéria isolada 2:** \_\_\_\_\_ **cod:** \_\_\_\_

**Colonização** \_\_\_\_                      **Infecção:** \_\_\_\_

**Resultado de TSA 1:**

Sensível:

S. intermediária:

Resistente:

**Resultado de TSA 2:**

Sensível:

S. intermediária:

Resistente:

NSA \_\_\_\_ \*se apenas um germe isolado nas primeiras 48h

### DADOS PREGRESSOS

**Paciente admitido de transferência:**  SIM  NÃO

Se sim:

UPA

Outro hospital ou clínica

**Data da internação no local de origem:** \_\_\_\_\_

**Procedimentos invasivos nas últimas 4 semanas:** SI  NÃ

Se sim, que procedimento: \_\_\_\_\_

**Uso de prótese ou órtese:**  SIM  NÃO

Se sim, que tipo: \_\_\_\_\_

**Uso de antibióticos últimos 90 dias:**  SIM  NÃO

Cefalosporinas

Quinolonas

Aminoglicosídeos

$\beta$ -lactâmico + Inibidor de  $\beta$ -lactamase

Ignorado

Outros

**Uso de antibióticos nos últimos 12 meses :**  SIM  NÃO

**Internação por mais de 48h nos últimos 3 meses:**

SIM  NÃO

Se sim, qual a unidade: \_\_\_\_\_

**Internação nos últimos 6 meses:**  SIM  NÃO

Se sim, qual a unidade: \_\_\_\_\_

**Esteve internado em CTI nos últimos 6 meses:**  SIM  NÃO

**História de ITU de recorrência:**  SIM  NÃO

### DADOS DA INTERNAÇÃO ATUAL

**Comorbidades (\*Considerar diagnósticos da internação):**

Diabetes mellitus ID \_\_\_\_ NID \_\_\_\_

- Insuficiência renal crônica (ClCr menor 30 ml/min)
- Insuficiência hepática (Cirrose hepática diagnosticada)
- Tumor Sólido
- Doença hematológica maligna
- Outras
- Insuficiência cardíaca conhecida

Imunossupressão:       SIM  
 NÃO

Se sim:

- Medicamentos,
- HIV,
- Outros

**Sítio primário de infecção, se houver:**

- Trato urinário
- Trato respiratório inferior
- Corrente sanguínea
- Pele e tecidos moles
- Outros
- NSA

**Gravidade da doença na admissão:**

Classificação de risco (Protocolo de Manchester) \_\_\_\_\_

Escore de Charlson: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ pontos

**Droga(s) de escolha (tratamento empírico):** \_\_\_\_\_

**Tratamento empírico recebido:**

- Apropriado     Inapropriado     NSA \*se colonização.

**Internação no CTI ou em sala de emergência:**

SIM     NÃO

**Evolução clínica:**

- Resolução completa
- Resolução parcial
- Insucesso terapêutico
- Resultado incerto

**Data fim seguimento:**

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Data alta hospitalar:**

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Condição de alta hospitalar:**

- Alta para domicílio  
 Transferência  
 Óbito

**Dados da Evolução clínica:****Data:**Febre:  Sim \_\_\_\_\_  Não

Leucometria:

**Data:**Febre:  Sim \_\_\_\_\_  Não

Leucometria:

**Data:**Febre:  Sim \_\_\_\_\_  Não

Leucometria:

**Data:**Febre:  Sim \_\_\_\_\_  Não

Leucometria:

## Apêndice 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Projeto:** *Enterobacteriaceae* produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48h de internação em um hospital geral: prevalência, fatores de risco e impactos na evolução clínica

**Pesquisador Responsável:** Vandack Alencar Nobre Jr.

**Curso de pós-graduação:** Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical FM-UFMG

Você está sendo convidado a participar do estudo “*Enterobacteriaceae* produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48h de internação em um hospital geral: prevalência, fatores de risco e impactos na evolução clínica”. Esta pesquisa tem o objetivo determinar a frequência, os fatores de risco e as consequências para a saúde de um tipo de resistência das bactérias contra os antibióticos, chamada “ESBL”. Algumas bactérias que vivem normalmente no nosso intestino podem desenvolver esse tipo de resistência, e tornar o tratamento mais difícil no caso de uma infecção. As infecções causadas por elas são mais comuns nos pacientes internados, mas podem acontecer também fora do hospital.

Essas bactérias podem causar infecções graves e precisam ser tratadas adequadamente o mais rápido possível para que o paciente tenha mais chances de recuperação. Há poucos conhecimentos sobre quais são as causas dessa resistência quando o paciente não está internado. A finalidade deste estudo é avaliar com que frequência esse tipo de bactéria é encontrado em pessoas que acabaram de chegar ao hospital, ou seja, já trouxeram a bactéria com elas. Além disso, os pesquisadores querem descobrir o que contribui para isso, de modo a evitar esse problema no futuro. Por fim, é muito importante saber quem tem maior risco de portar essa bactéria, porque assim os médicos podem dar o antibiótico correto mesmo antes de ter o resultado dos exames.

Você poderá participar desse estudo respondendo algumas perguntas de um questionário. Todos os dados obtidos serão utilizados exclusivamente com a finalidade de pesquisa.

Os dados que identificam você e a sua doença serão mantidos em sigilo. Você não deixará de ser acompanhado ou receber os cuidados ou tratamento devidos por ter se recusado a participar da pesquisa. A pesquisa não mudará em nada o seu tratamento; portanto, não há riscos para a sua saúde se você dela participar. Não há pagamento para a participação na pesquisa.

A equipe de pesquisadores estará disponível para qualquer dúvida ou resolução de problemas eventuais. Caso ainda persistam dúvidas ou você se sinta lesado por algum motivo, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Tel. 3409-4592).

Você poderá retirar o seu consentimento a qualquer momento, sem necessidade de justificar a sua atitude aos pesquisadores. Não há despesas previstas para a sua participação na pesquisa, e não há benefícios diretos para você por dela participar.

**Termo de consentimento:**

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que fui bem informado (a) a respeito da pesquisa “Enterobacteriaceae produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48h de internação em um hospital geral: prevalência, fatores de risco e impactos na evolução clínica” e estou ciente de que as informações obtidas são sigilosas e somente serão utilizadas para fins de pesquisa.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Paciente

\_\_\_\_\_  
Testemunha

\_\_\_\_\_  
Pesquisador

**Os telefones abaixo podem lhe ser úteis para esclarecimentos:**

**Pesquisadores:**

- 1-Dr. Vandack Alencar Nobre Jr (Hospital das Clínicas): 3309-4195
- 2- Mirian Cristina de Oliveira – 9956-3060
- 3- Clara Rodrigues Alves de Oliveira -:8689-3237

**Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG** – Av. Pres. Antônio Carlos 6627 Unidade Administrativa II, 2º Andar – Sala 2005. Campus UFMG CEP 31.270-901 - Belo Horizonte, MG. Tel: (31) 3409-4592.

## ANEXOS

## Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE - 0211.0.203.000-11

Interessado(a): Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior  
Departamento de Clínica Médica  
Faculdade de Medicina - UFMG

## DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 19 de julho de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Enterobacteriaceae produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48h de internação em um hospital geral: prevalência, fatores de risco e impactos na evolução clínica"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

  
Prof. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG

## Anexo 2 – Ata de Defesa



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409640 FAX: (31) 3409641



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MIRIAN CRISTINA DE OLIVEIRA, registro número 2011656081. No dia dezoito de janeiro de dois mil e treze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de dissertação indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar o trabalho final intitulado: "Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital universitário: frequência, fatores de risco e impactos na evolução clínica", requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Vandack Alencar Nobre Jr, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Profa. Roberta Maia de Castro Romanelli	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Profa. Anna Sara Shafferman Levin	Instituição: USP	Indicação: <u>APROVADA</u>

Pelas indicações, a candidata foi considerada: APROVADA

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 18 de janeiro de 2013.

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr. \_\_\_\_\_  
 Profa. Roberta Maia de Castro Romanelli \_\_\_\_\_  
 Profa. Anna Sara Shafferman Levin \_\_\_\_\_  
 Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior/Coordenador \_\_\_\_\_

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador. Prof. Vandack Alencar Nobre Jr.  
 Coordenador do Programa de  
 Pós-Graduação em Ciências da Saúde:  
 Infectologia e Medicina Tropical  
 Faculdade de Medicina - UFMG



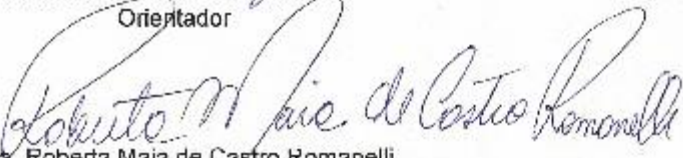
**Anexo 3– Declaração de Aprovação**


FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640

**DECLARAÇÃO**

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos professores doutores Vandack Alencar Nobre Jr, Roberta Maia de Castro Romanelli e Anna Sara Shafferman Levin, aprovou a defesa de dissertação intitulada: "Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital universitário: frequência, fatores de risco e impactos na evolução clínica" apresentada pela mestranda Mirian Cristina de Oliveira para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 18 de janeiro de 2013.

  
Prof. Vandack Alencar Nobre Jr  
Orientador

  
Profa. Roberta Maia de Castro Romanelli

  
Profa. Anna Sara Shafferman Levin