

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ISABELA OSÓRIO DE FREITAS

**MORTALIDADE NAS INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
PRODUTORA DE B-LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO EM UNIDADE DE
TRATAMENTO INTENSIVO (UTI)**

Porto Alegre

2009

ISABELA OSÓRIO DE FREITAS

**MORTALIDADE NAS INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
PRODUTORA DE B-LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO EM UNIDADE DE
TRATAMENTO INTENSIVO (UTI)**

Dissertação apresentada a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, visando a obtenção do grau de Mestre em Ciências Pneumológicas.

Orientador : Prof. Dr. Paulo José Zimmermann Teixeira

Porto Alegre

2009

FREITAS, Isabela Osório de

Mortalidade nas infecções por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β - lactamase de espectro ampliado em Unidade de Tratamento Intensivo (UTI). Porto Alegre, UFRGS, 2009

Dissertação: Mestre em Ciências Pneumológicas

1- *Klebsiella pneumoniae*

2- β - lactamase de espectro ampliado

3- Mortalidade

À Júlia
Ao Alexandre
Aos pacientes

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo José Zimmermann Teixeira pela sua valiosa orientação.

Ao Prof. Dr. Paulo Renato Petersen Behar pela sua valiosa orientação e também grande amizade.

Ao Prof. Dr. Mário Bernades Wagner pela sua valiosa orientação no auxílio estatístico.

As médicas residentes do serviço de infectologia Ana Paula Pietrowski Bertuol e Patrícia Fisch pelo grande auxílio na coleta dos dados.

As colegas SCIH do HNSC: Lair Dias, Helvia Körting, Luciana Puga e Cleci Chielle.

Aos colegas da biblioteca e SAME do HNSC.

À Direção do HNSC e Gerência de Ensino e Pesquisa do GHC.

À colega enfermeira Gisele Maria Inchauspe Preussler do Serviço de Ambulatório Especializado da Prefeitura Municipal de Porto Alegre.

Aos coordenadores do pós-graduação.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Classificação das B- lactamases segundo Bush e cols.	14
Tabela 2. Teste de screening e confirmatório para ESBL em <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>E. coli</i>	21
Tabela 3. Teste de screening e confirmatório para ESBL em <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>E. coli</i>	21
Tabela 4. Características demográficas e clínicas dos pacientes com infecção por KpESBL e controles	44
Tabela 5. Classificação das infecções dos pacientes com infecção por KpESBL e controles	45
Tabela 6. Desfechos pacientes com infecção por KpESBL e controles em 30 dias dos grupos	46
Tabela 7. Comparação entre os grupos com infecção por KpESBL (casos) e controles para a ocorrência de mortalidade por diversas causas	46
Tabela 8. Taxa de mortalidade total e por KpESBL nos casos por sítio de infecção	47
Tabela 9. Taxa de mortalidade total e por KpESBL nos casos por adequação da terapia empírica	47
Figura 1. Curva de sobrevida ajustada obtida em modelo de regressão de Cox para a comparação de mortalidade por todas as causas comparando os grupos com infecção por KpESBL (casos) e controles	47

SUMÁRIO

1 RESUMO	7
2 ABSTRACT	9
3 INTRODUÇÃO	11
3.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de B-Lactamase Espectro Ampliado: importância clínica	11
3.2 <i>K. pneumoniae</i>: aspectos taxonômicos, clínicos e epidemiológicos	12
3.2.1 Taxonomia e classificação	12
3.2.2 Infecção causada por <i>K. pneumoniae</i>	12
3.2.3 Mecanismos de virulência e patogenicidade de <i>K. pneumoniae</i>	13
3.2.4 Mecanismos de resistência da <i>K. pneumoniae</i>	13
3.2.5 β -lactamase de espectro ampliado (ESBL)	15
3.2.6 Resistência aos carbapenêmicos em amostras bacterianas produtoras de ESBL	15
3.2.7 Epidemiologia das <i>K. pneumoniae</i>	16
3.2.8 Epidemiologia das ESBLs	17
3.3 Métodos Fenotípicos para detecção de ESBL	20
3.3.1 Disco de Difusão	20
3.3.2 Microdiluição	20
3.3.3 Teste de Aproximação de Discos	22
3.3.4 Teste Tridimensional	22
3.3.5 Etest	22
3.3.6 Sistemas Automatizados	23
3.4 Métodos Moleculares para detecção de ESBL	23
3.5 Mortalidade	24
3.6 Referências	27
4 OBJETIVOS	36
5 HIPÓTESES	37
6 ARTIGO EM PORTUGUÊS	38
ANEXOS	53
ARTIGO EM INGLÊS	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

1 RESUMO

Objetivo: Avaliar mortalidade nas infecções por *K. pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro ampliado (KpESBL) em pacientes internados em unidades de terapia intensiva(UTI).

Delineamento do estudo: Estudo de coorte histórico exposto-controlado, no período de janeiro de 2005 a outubro de 2007.

Ambiente: UTIs do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) em Porto Alegre /RS, Brasil.

Pacientes: Adultos, maiores de 18 anos, internados nas UTIs e selecionados para completar 70 casos e 140 controles.

Método: Os pacientes casos apresentavam infecção hospitalar por KpESBL e foram comparados aos pacientes controle que poderiam apresentar infecção por outro germe ou nenhuma infecção hospitalar (IH) na relação 1:2. Seguimento de 30 dias em ambos os grupos. As curvas de mortalidade foram realizadas pelo método de Kaplan-Meier.

Resultados: Em ambos os grupos, o maior desfecho foi a cura. A taxa de mortalidade foi de 42,9% nos casos e 48,6% nos controles. O presente estudo não demonstrou diferença estatística na mortalidade entre os pacientes com infecção por KpESBL e o grupo controle, tanto na análise univariada (risco relativo (RR)= 0,8 e intervalo de confiança (IC) de 95%, 0,52-1,23), como na regressão de Cox com fatores ajustados (RR= 0,86; IC95%= 0,54-1,35).

Conclusões: Os pacientes com infecção por KpESBL não apresentaram maior mortalidade que os demais pacientes da UTI. Os pacientes com infecção por KpESBL que apresentaram infecção urinária e tiveram a terapia empírica adequada demonstraram menor mortalidade.

2 ABSTRACT

Objective: To evaluate mortality rate due to infections by extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-Kp) among patients in intensive care unit (ICU).

Study design: Historical exposed-control cohort study conducted from January 2005 to October 2007.

Setting: ICUs of Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) in Porto Alegre, Brazil.

Patients: Adult patients older than 18 years hospitalized in ICU and enrolled up to 70 cases and 140 controls.

Method: The patients in the case group, who had nosocomial infection by ESBL-Kp, were compared with control patients, who had infections by other organisms or no nosocomial infection (NI), at a 1:2 ratio. Both groups were followed up for 30 days. Mortality curves were estimated using the Kaplan-Meier method.

Results: In both groups, the most frequent outcome was the cure. Mortality rate was 42.9% in the case group and 48.6% in the control group. There were no statistic differences in mortality between patients with ESBL-Kp infection and the control group in univariate analysis (Hazard ratio (HR) = 0.8; 95% confidence interval (CI), 0.52 – 1.23) or in Cox regression with adjusted factors (HR = 0.86; 95%CI, 0.54 – 1.35).

Conclusions: Patients with ESBL-Kp infection did not have higher mortality rates

than the control patients in the ICUs. Patients with ESBL-Kp infection, urinary infection or who received adequate empirical therapy had lower mortality rates.

3 INTRODUÇÃO

3.1 *Klebsiella pneumoniae* produtora de B-Lactamase Espectro Ampliado: importância clínica

O aumento de organismos multirresistentes, ou seja, resistentes a uma ou mais classes antimicrobianos é uma realidade mundial. Dentre esses, estão o estafilococo resistente a meticilina (MRSA), o enterococo resistente a vancomicina (VRE), bacilos Gram- negativos como a *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* produtoras de β -lactamase de espectro ampliado (ESBL) e *Acinetobacter* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes à todos antimicrobianos. As manifestações clínicas das infecções são semelhantes aos de germes sensíveis, porém as opções terapêuticas são extremamente limitadas. Bacilos Gram- negativos que produzem β -lactamase de espectro ampliado, resistentes à fluoroquinolonas, carbapenêmicos e aminoglicosídeos estão cada vez mais prevalentes. Alguns estudos têm demonstrado o aumento da mortalidade, tempo de estadia e custos entre os pacientes portadores de bacilos Gram- negativos multirresistentes^{1,2,3,4,5}.

Em infecções causadas por germes produtores de ESBL as opções terapêuticas se restringem a carbapenêmicos ou quinolonas⁶. Ocorre, também, um aumento de resistência em relação a outros antimicrobianos nos germes produtores de ESBL em relação a não produtores⁷, inclusive a imipenem⁸.

As cepas que produzem ESBL têm seu mecanismo de resistência mediado por plasmídios, o que implica em fácil transmissão horizontal. Essas são cepas resistentes a maioria dos β -lactâmicos, levando ao aumento da prescrição de carbapenêmicos, que são grandes indutores de resistência bacteriana. Também são cepas de difícil detecção no antibiograma tradicional, podendo liberar falsa sensibilidade (para cefalosporinas de terceira e quarta

geração), comprometendo o tratamento^{9, 10}.

Vários estudos têm demonstrado surtos em Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) por *K. pneumoniae* produtora de ESBL (KpESBL) e alguns destes relatam aumento da morbidade e mortalidade^{11, 12}.

Ainda, as casas de repouso podem apresentar pacientes colonizados e/ou infectados por KpESBL, apresentado-se como um grande reservatório destes germes¹³.

3.2 *K. pneumoniae*: Aspectos Taxonômicos, Clínicos e Epidemiológicos

3.2.1 Taxonomia e classificação

No gênero *Klebsiella* há três espécies associadas a infecção em humanos: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *K. granulomatis*. A *K. pneumoniae* apresenta três subespécies: a *K. pneumoniae*, *K. ozaenae* e *K. rhinoscleromatis*^{14,15,16}.

3.2.2 Infecção causada por *K. pneumoniae*

A grande maioria das infecções por *K. pneumoniae* são infecções associadas aos serviços de saúde ou pacientes debilitados pela sua doença de base. As infecções mais comuns causadas por *K. pneumoniae* são: infecções do trato urinário, ferida operatória, pneumonia, cateter vascular, tracto biliar, peritonites, meningites e bacteremias¹⁴.

3.2.3 Mecanismos de virulência e patogenicidade de *K. pneumoniae*

O principal fator de virulência descrito de *K. pneumoniae* é sua cápsula de polissacarídeos, que alcança mais de 70 variedades de antígenos, que é responsável pelo crescimento mucóide no meio laboratorial. O mecanismo de virulência da cápsula se dá através da inibição da fagocitose. Tem sido sugerido um papel da cápsula, também, na colonização do trato urinário. *K. pneumoniae* pode produzir uma variedade de tipos de fímbrias, incluindo o tipo-1 pili que estão envolvidas na aderências das células do hospedeiro¹⁴.

3.2.4 Mecanismos de resistência da *K. pneumoniae*

As β -lactamases são a maior defesa dos bacilos Gram-negativos contra os antimicrobianos β -lactâmicos¹⁷. TEM-1 foi a primeira β -lactamase mediada por plasmídio descrita em bacilos Gram-negativos em 1960, sua designação teve origem do nome da paciente o qual foi isolada, Temoniera¹⁸.

As β -lactamases foram classificadas por vários autores no decorrer dos anos. A classificação inicial das β -lactamases foi realizada por Sawai e colegas em 1968, dividia-as em penicilinasas e cefalosporinasas. Em 1973, Richmond e Sykes substituíram aquele esquema por um que agrupava por substrato inibido. Em 1976, Sykes e Matthew classificaram as β -lactamases produzidas por Gram-negativos de acordo com o elemento genético da formação da enzima. Em 1980, Ambler classificou de acordo com sua estrutura molecular. A mais recente classificação, realizada por Bush, Jacoby e Medeiros em 1995, inclui as ESBL, conforme demonstrado na Tabela 1^{18, 19}.

3.2.5 B- lactamase de espectro ampliado

As β -lactamases de espectro ampliado (ESBL) são enzimas produzidas por bacilos Gram-negativos, principalmente *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e *Escherichia coli*, que hidrolisam todos os β - lactâmicos, exceto carbapênemicos e cefamicinas. Estas têm origem principalmente em plasmídios e podem ser inibidas *in vitro* por inibidores da beta-lactamases, tais como: ácido clavulânico, sulbactam ou tazobactam^{18, 19, 20, 21}.

A primeira ESBL, a SHV-2, foi descrita na Alemanha, numa infecção por *Klebsiella ozaenae* em 1983^{18, 20, 22, 23}. A maioria das ESBL são derivadas das β - lactamases TEM e SHV¹⁸. A primeira ESBL observada na França foi no Hospital de Ensino de Clermont, em Ferrand no ano 1984²⁰. Nos Estados Unidos, o primeiro relato de ESBL foi em 1987, TEM-12 em *E. coli* e TEM- 10 em *K. pneumoniae*²⁴.

3.2.6 Resistência aos carbapenêmicos em amostras bacterianas produtoras de ESBL

A resistência a carbapenêmicos em isolados de *K. pneumoniae* tem a associação de β -lactamase mediada por plasmídios e perda de porina. Um segundo mecanismo é uma β -lactamase capaz de hidrolisar os carbapenêmicos (metallocarbapenemases). As metallocarbapenemases foram primeiramente encontradas em *K. pneumoniae* em 1994 no Japão. A metallocarbapenemase IMP tem sido relatada em Singapura e Taiwan. Outras carbapenemases são as KPC-1, KPC-2 e KPC-3, estas duas últimas em Nova York²¹. Há relato, também, de resistência a ertapenem, porém mantida a sensibilidade a imipenem e meropenem²⁵.

3.2.7 Epidemiologia de *K. pneumoniae*

Klebsiella sobrevive mais tempo nas mãos, na pele e nos objetos inanimados em relação as demais enterobactérias^{24, 26}. Em 1997 e 1998, o estudo do programa de vigilância de antimicrobianos SENTRY já demonstrou que *Klebsiella* era o 5º agente em infecções de tecidos moles e pele na América Latina em 8,3% e 7,5% respectivamente²⁷.

No estudo do programa de vigilância de antimicrobianos SENTRY de hospitais brasileiros com amostras de 2003-2008, *K. pneumoniae* foi encontrada nas seguintes taxas: 12,5% em infecções de corrente sanguínea e 13,5% em pneumonias²⁸. Em um estudo de infecções em úlceras de pacientes diabéticos de origem comunitária no Ceará/Brasil, os resultados demonstraram que *K. pneumoniae* foi o agente mais isolado em 21,2%, seguido da *Morganella morganii* em 19,9% e *E. Coli* 15,4% dos casos²⁹.

Em um estudo na Malásia, em unidades de terapia intensiva pediátrica e neonatal, oncologia e hematologia, foi encontrado nas culturas, na presença de septicemia, o predomínio de *Klebsiella spp* em 36,5%, seguido de *Pseudomonas* 20% e *E. coli* 17,5% dos casos⁶. Em uma maternidade na Àrabia Saudita, a bactéria mais isolada foi a *K. pneumoniae*, em 1997 e 1999, 15% e 17% respectivamente⁸.

Tabela 1. Classificação das B- lactamases segundo Bush e cols.

Grupo Bush e cols 1995	Grupo Bush 1989	Grupo Richmond & Sykes	Grupo Ambler (molecular)	Antibiótico Substrato preferente	Inibição p/ Inibidores de β - lactamases	Tipo de enzima	Enzimas Principais	Origem Principal	Bactérias envolvidas
1	1	Ia,b,c	C	Cefalosporinas	A.Clavul. - não Tazobactam - sim	Pequeno espectro	Ampc	Cromossoma	Bacilos Gram negativos
2*	2a	Não Incluída	A	Penicilinas	Sim	Pequeno espectro	Penicilinas	Cromossoma e plasmídio	Bactérias Gram positivas
2b	2b	III	A	Penicilinas e Cefalosporinas	Sim	Amplo espectro	TEM-1 TEM-2 SHV-1	Plasmídio	Bacilos Gram negativos
2be	2b	Não Incluída	A	Penicilinas , Cefalosporinas e monobactâmicos	Sim e não	Espectro estendido	Várias TEM e SHV	Plasmídio	Bacilos Gram negativos
2br	Não Incluída	Não Incluída	A	Penicilinas	Não	Pequeno espectro	Várias TEM	Plasmídio	Bacilos Gram negativos
2c	2c	II e IV	A	Penicilinas	Sim	Pequeno espectro	PSE Carbencilases	Cromossoma	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2d	2d	V	D	Oxacilina	Não	Pequeno espectro	OXA Oxacilinas	Cromossoma e plasmídio	Bacilos Gram negativos
2e	2e	Ic	A	Cefalosporinas	Sim	Pequeno espectro	Várias	Cromossoma	Proteus, <i>B. fragilis</i>
2f	Não incluída	Não Incluída	A	Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenases	Não	Espectro estendido	Raras Carbapenases	Cromossoma	Serratia, Enterobacter
3	3	Não Incluída	B	Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenases, Monobactâmicos	Não	Amplo espectro	Várias	Cromossoma	<i>S.maltophilia</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. cepacia</i> , <i>B. fragilis</i>
4	4	Não Incluída	Não Incluída	Penicilinas	Não	Pequeno espectro	Várias	Cromossoma	Bacilos Gram negativos

Adaptado de Walter Tavares. Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfecciosos 5:55-144.2002

3.2.8 Epidemiologia das ESBLs

Através de estudos epidemiológicos e moleculares, já foi demonstrado a transmissão intrahospitalar e interhospitalar da KpESBL, enfatizando a importância das medidas de controle de infecção para o bloqueio epidemiológico desta bactéria^{30, 31, 32}.

Estas enzimas são importantes clinicamente devido a transferência da resistência entre as enterobactérias e também porque já foi demonstrado colonização por germe produtor de ESBL em mais de 50% dos pacientes após 30 dias de internação hospitalar²⁰.

As enterobactérias produtoras de ESBL têm sido responsáveis por vários surtos no mundo^{33, 34, 35}. O uso de antibióticos de amplo espectro, principalmente cefalosporinas de terceira geração, e as más práticas de controle de infecção podem facilitar a disseminação dessas bactérias, mediadas por plasmídios^{20, 36, 37, 38, 39}.

Há mais de 300 tipos de β - lactamase de espectro ampliado descritas até então, e o tipo predominante varia geograficamente⁴⁰. Em um estudo na cidade de São Paulo, foram detectados os tipos SHV, TEM e CTX-M em 63%, 17,3% e 33,9% respectivamente⁴¹. Na Alemanha, predominam os tipos SHV-2 e SHV-5; na França, SHV-3, SHV-4 e TEM-3; e nos Estados Unidos, TEM 10,12 e 26. O tipo SHV-2 é disseminado internacionalmente²⁶. A CTX-M-15 é encontrada na maioria dos países europeus⁴².

No Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC), no período de maio a novembro de 1999, em 120 amostras de *Klebsiella pneumoniae*, ocorreram 63 amostras (52,5%) de produtoras de ESBL. No segundo semestre de 2003, em 135 amostras, 85 (63%) eram produtoras de ESBL. No primeiro semestre de 2004, de 62 amostras testadas pelo MicroScan®, 44 (71%) foram positivas, e de 50 testadas pelo Vitek® 31(62%) foram positivas, tendo em média 67% de KpESBL⁴³. No primeiro semestre de 2005, de 377 amostras de *Klebsiella pneumoniae*, 55% foram positivas para ESBL⁴⁴.

Em um estudo realizado em hospitais brasileiros em 2001, o índice de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL era de 48,4%⁴⁵. Em um estudo no Ceará, sobre infecções comunitárias em úlceras de pacientes diabéticos, os resultados apontaram que 6% dos pacientes apresentavam enterobactérias produtoras de ESBL. A enterobactéria de maior prevalência foi a *K. pneumoniae* das 33 isoladas e 7 (21,2%) eram produtoras de ESBL²⁹.

Em 1997 e 1998, o estudo do programa de vigilância de antimicrobianos SENTRY já demonstrou uma alta incidência de 35% de *Klebsiella sp* como produtora de ESBL, em infecções de tecidos moles e pele na América Latina²⁷. No estudo do programa de vigilância de antimicrobianos SENTRY em hospitais brasileiros com amostras de 2003-2008, 50% de *K. pneumoniae* apresentaram fenótipo de ESBL²⁸.

O estudo de infecções de corrente sanguínea, realizado no Hospital São Lucas em Porto Alegre, demonstrou uma taxa de 55,6% e 9,4% nas amostras de *K. pneumoniae* e *E. coli*, respectivamente, quanto a produção de ESBL⁴⁶.

Em Curitiba, um estudo com 498 bactérias isoladas em dois hospitais, demonstrou uma taxa de 57,4% das amostras de *K. pneumoniae* como produtoras de ESBL⁴⁷.

Segundo Shah²⁰, a prevalência das *enterobactérias* produtoras de ESBL foi de 37,50% nas infecções associadas a serviços de saúde e 6% nas comunitárias. A mais alta prevalência foi em *K. pneumoniae* seguida de *Enterobacter cloacae* e *E. coli*²⁰.

Na Europa, há uma grande variação da incidência de organismos produtores de ESBL. Na França, a proliferação de bactérias produtoras de ESBL foi dramática. No início de 1990, 25% a 35% dos isolados de *K. pneumoniae* eram produtores de ESBL. O norte da França apresentou uma diminuição de KpESBL de 19,7% em 1996 para 7,5% em 2000. No oeste da Europa, em UTIs, 25% das amostras de *K. pneumoniae* eram produtoras de ESBL em 1997 e 1998. Na Turquia, em um estudo com pacientes de UTI de 8 hospitais, os resultados apresentaram 58% de incidência KpESBL. Na América do Norte, em pacientes de UTIs, foi

encontrada uma incidência de *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de 3ª geração de 13%. No National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS), de 1998 à 2000, foi encontrado 6%, de 6101 amostras, de *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de 3ª geração em um estudo com 110 UTIs. Em um estudo com pacientes de UTI no Brasil, Venezuela e Colômbia, foi encontrado 30% a 60 % de KpESBL. Num hospital do sul da África, foi encontrado 36,1% de amostras de KpESBL em 1998 e 1999. Na Ásia, também há uma grande variação na incidência de ESBL, no maior hospital de ensino em Beijing, 27% de amostras de sangue de *K. pneumoniae* e *E. coli*, de 1997 à 1999, eram produtoras de ESBL. Em um hospital no Japão, 25% das amostras de *K. pneumoniae* eram produtoras de ESBL em 1998 e 1999²¹.

Em um estudo na parte central da França, em Auvergne, entre 2001 e 2002, foi encontrado 0,9% de *Klebsiella* produtora de ESBL, em contraste com outros estudos no mesmo país, com 13,3% em 1998 e 9,4% em 1990. Neste estudo, houve predomínio da ESBL TEM - 3⁴⁸.

Num estudo de vigilância em 24 UTIs na Europa, em 1997 e 1998, foi demonstrado que 25% das infecções por *Klebsiella spp* eram produtoras de ESBL⁷. Em um estudo na Malásia, em UTIs pediátrica e neonatal, oncologia e hematologia, foi encontrado nas culturas, na presença de septicemia, 52,8% de *Klebsiella spp* e *E. coli* produtoras de ESBL⁶.

Na Índia, as infecções do trato urinário por *Klebsiella spp* também apresentaram uma alta taxa na produção de ESBL, 38,5% em estudo⁴⁹ e 25,6% em outro⁵⁰. Em uma maternidade na Arábia Saudita, onde a bactéria mais isolada foi *K. pneumoniae*, em 1997 e 1999, 27,5% produziam ESBL⁸. No Brooklyn, New York (NY), numa amostra de 15 hospitais, foi encontrado 44% de *K. pneumoniae* produtora de ESBL em 1997⁵¹.

Em um estudo transversal, na Tailândia em 2003, para determinar prevalência e fatores de risco para aquisição de bacilos Gram-negativos produtores de ESBL, encontrou nas amostras de *Klebsiella pneumoniae* 56,9% como produtoras de ESBL⁵².

3.3 Métodos Fenotípicos para detecção de ESBL

O Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) padronizou para detecção de ESBL em *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* e *Proteus mirabilis* uma metodologia que inclui teste de screening e teste confirmatório (Disco de Difusão ou Microdiluição). Métodos alternativos também poderão ser utilizados como: Teste de Aproximação de Discos, Teste Tridimensional, Etest e Sistemas Automatizados^{9,53}.

Os testes de Disco de Difusão ou Microdiluição são altamente sensíveis e específicos em relação aos teste genotípicos, podendo apresentar falsos positivos e negativos. *K. pneumoniae* e *E. coli* que apresentam SHV-1 podem apresentar teste falso positivo devido a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para ceftazidima ser alta, como 32µg/ml . *K. pneumoniae* produtora de ESBL e β-lactamase do tipo AmpC- pode apresentar falso negativo devido esta não ser inibida pelo ác. clavulânico²¹.

3.3.1 Disco de Difusão

O resultado do teste de screening é baseado no diâmetro dos halos do antibiograma e comparados a tabela do CLSI. O teste confirmatório com disco impregnado com a droga em comparação com o disco com a droga e inibidor da beta-lactamase (disco combinado) no reconhecimento do aumento do halo no disco combinado (Tabela 2).

3.3.2 Microdiluição

O resultado do teste de screening é baseado na concentração inibitória mínima (CIM) comparadas a tabela do CLSI (Tabela 3). O teste confirmatório com meio com a droga em

comparação com o meio com a droga e inibidor da beta-lactamase (meio combinado), no reconhecimento da diminuição da CIM no meio combinado (Tabela 3).

Tabela 2. Teste de screening e confirmatório para ESBL em *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli*

Método	Teste de screening inicial	Teste confirmatório fenotípico
<i>Meio</i>	<i>Ágar Mueller- Hinton</i>	<i>Ágar Mueller- Hinton</i>
Concentração do antimicrobiano no disco	Cefpodoxima 10µg ou Ceftazidima 30µg ou Aztreonam 30µg ou Cefotaxima 30µg ou Ceftriaxona 30µg (o uso de mais de um antimicrobiano aumenta a sensibilidade na detecção)	Ceftazidima 30µg Ceftazidima/ác. clavulânico 30/10µg e Cefotaxima 30µg Cefotaxima/ác. clavulânico 30/10µg (o teste confirmatório requer o uso de ambos ceftazidima e cefotaxima, isolados e em associação com ác. clavulânico)
Inóculo/ condições de incubação/ tempo de incubação	Recomendações padrão para o teste de disco de difusão	Recomendações padrão para o teste de disco de difusão
Resultados	Cefpodoxima ≤ 17mm Ceftazidima ≤ 22mm Aztreonam ≤ 27mm Cefotaxima ≤ 27mm Ceftriaxona ≤ 25mm	Aumento de ≥ 5mm no diâmetro da zona para um dos dois agentes testados em associação com ác. clavulânico em relação a zona do agente testado sozinho = ESBL(ex: zona ceftazidime = 16; ceftazidime/ác. clavulânico = 21)

CLSI- Janeiro 2005 Documento M100-S15

Tabela 3. Teste de screening e confirmatório para ESBL em *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli*

Método	Teste de screening inicial	Teste confirmatório fenotípico
<i>Meio</i>	<i>CAMHB</i>	<i>CAMHB</i>
Concentração do antimicrobiano no disco	Cefpodoxima 4µg/ml ou Ceftazidima 1µg/ml ou Aztreonam 1µg/ml ou Cefotaxima 1µg/ml ou Ceftriaxona 1µg/ml (o uso de mais de um antimicrobiano aumenta a sensibilidade na detecção)	Ceftazidima 0,25 a 128µg/ml Ceftazidima/ác. clavulânico 0,25/4 a 128/4µg/ml e Cefotaxima 0,25 a 64µg/ml Cefotaxima/ác. clavulânico 0,25/4 a 64/4µg/ml (o teste confirmatório requer o uso de ambos ceftazidima e cefotaxima, isolados e em associação com ác. clavulânico)
Inóculo/ condições de incubação/ tempo de incubação	Recomendações padrão para o teste de diluição em caldo	Recomendações padrão para o teste de diluição em caldo
Resultados	Crescimento = pode indicar produção de ESBL (i.e. CIM ≥ 2µg/ml para ceftazidima, aztreonam, cefotaxima ou ceftriaxona ou CIM ≥ 8µg/ml para cefpodoxima).	Uma diminuição da concentração ≥ 3 diluições da CIM para quaisquer dos agentes antimicrobianos testados em combinação com ác. clavulânico contra sua CIM no respectivo teste isolado = ESBL (por ex: ceftazidime CIM = 8µg/ml; ceftazidime/ác. clavulânico CIM = 1µg/ml).

CIM = concentração inibitória mínima/CLSI- Janeiro 2005 Documento M100-S15

3.3.3 Teste de Aproximação de Discos

Teste realizado com um disco de clavulanato ou sulbactam colocado a 20mm dos discos de beta-lactâmicos. O aumento ou a distorção da zona de diâmetro ao redor do beta-lactâmico, zona fantasma, indica a presença de ESBL. Descrito em 1988 por Jarlier *et. al* e modificado em 2001 pelo CLSI⁵³.

O teste pode ser usado como screening e apresenta sensibilidade em torno de 79%-85%, segundo Rossi⁹ e sensibilidade de 79%-97% e especificidade de 94%-100%, segundo Paterson²¹.

3.3.4 Teste Tridimensional

O teste é realizado com um disco de ceftazidima, ceftriaxone, cefepima ou aztreonam no centro da placa. Remove-se um cilindro de ágar (4mm) de uma distância de 2mm do disco, preenche com 30µl do inóculo e se coloca o disco de amoxicilina/clavulanato do lado oposto do buraco do inóculo, centro a centro, com o disco do antibiótico. O teste é positivo com a inibição da zona ao redor do disco com antibiótico testado²¹. O teste apresenta sensibilidade de 95%⁹.

3.3.5 Etest

A CIM é obtida através de fitas impregnadas por ceftazidime (0,5-32µg/ml) numa extremidade e ceftazidime/ácido clavulânico (4µg/ml) na outra, a ESBL é detectada com uma redução da CIM da cefalosporina com o ácido clavulânico em relação a CIM da cefalosporina \geq 8 vezes. A sensibilidade deste método como teste fenotípico é de 87%-100% e especificidade de 95%-100%^{21, 54}.

3.3.6 Sistemas Automatizados

Os sistemas automatizados incluem teste com beta-lactâmico associados com inibidores da β -lactamase. O Vitek® utiliza cefotaxima e ceftazidima (0,5 μ g/ml) isoladas e com ácido clavulânico (4 μ g/ml). A sensibilidade e especificidade do método excede à 90%. O resultado é positivo quando apresenta redução do crescimento na presença do ácido clavulânico. O resultado falso-negativo pode ocorrer em *K. pneumoniae* produtora de ESBL e β -lactamase do tipo AmpC^{9,21}. O sistema VITEK 2 apresentou 100% de acurácia na detecção das ESBLs TEM e SHV em *Klebsiella*⁵⁵.

O MicroScan® tem demonstrado sensibilidade maior que 90%⁹. Utiliza também a cefotaxima e ceftazidima isoladas e com ácido clavulânico, podendo apresentar falso-negativo na presença de bactéria produtora de AmpC e falso-positivo na presença de outras β -lactamases sensíveis ao ácido clavulânico, como K1 da *K. oxytoca*⁵⁶.

3.4 Métodos Moleculares para detecção de ESBL

A detecção das ESBLs por testes genotípicos também apresenta dificuldades. Nos estudos iniciais, a identificação molecular das ESBLs era feita pelo ponto isoelétrico, hoje como existem mais de 100 β -lactamases do tipo TEM, muitas com o mesmo ponto, não é mais possível. O mesmo acontece com outras ESBL como: OXA, SHV, CTX-M¹⁸.

Os primeiros genes de β -lactamase foram detectados por provas de DNA, específicas para SHV e TEM. O método molecular mais comum e fácil de detectar β -lactamases é Polymerase Chain Reaction (PCR) com primers de oligonucleotídeos que são específicos para os genes das β -lactamases¹⁸. Outro método proposto para identificação de SHV é o ligase chain

reaction (LCR)¹⁸.

O sequenciamento de nucleotídeos mantém-se como método padrão para determinação de genes específicos das β -lactamases, porém, também pode apresentar resultados variáveis conforme o método usado¹⁸.

3.5 Mortalidade

No estudo de Paterson⁵⁷ em bacteremias por KpESBL foi encontrado uma mortalidade de 23,5% e quando iniciado carbapenêmico esta mortalidade reduziu para 4,8%.

Em outra análise de Paterson⁵⁸ em bacteremias por KpESBL foi encontrado 27% de mortalidade e 23% por *K. pneumoniae* não produtora de ESBL. Avaliando a mortalidade em infecções associadas a bacteremia por *K. pneumoniae*, em relação ao foco primário, foi encontrado 37% em bacteremia por pneumonia nosocomial, 22% por infecção por cateter, 20% por infecção de ferida operatória, 16% por coleções intraabdominais e 12% por infecção urinária.

No estudo de Hyle⁵⁹, um estudo de coorte retrospectivo sobre infecções por *E. coli* e *K. pneumoniae* produtoras de ESBL, foi encontrado mortalidade de 17,1%. Neste estudo a terapia inicial inadequada demonstrou ser fator de risco independente para mortalidade nas infecções não urinárias.

Em um estudo caso-controle sobre infecções por *K. pneumoniae* resistente e sensível à carbapenêmico, a taxa de mortalidade total encontrada foi de 48% e 20% e quando avaliada mortalidade relacionada à infecção por *K. pneumoniae* foi de 38% e 12% respectivamente².

No estudo de Hamilton⁶⁰, que avaliava fatores de risco para mortalidade entre infecções por *K. pneumoniae* e *E. coli*, a taxa de mortalidade foi respectivamente 24,1% e 8,1%. Neste

estudo, a mortalidade em relação ao fato dos germes apresentarem resistência à quinolona não apresentou significância estatística.

Em um estudo de coorte retrospectivo para avaliar mortalidade nas infecções por *K. pneumoniae* e *E. coli* resistentes a quinolona, o resultado demonstrou uma mortalidade de 13% e 5,7% respectivamente. Neste estudo, a resistência à quinolona foi fator de risco independente para mortalidade, enquanto a produção de ESBL não⁶¹.

Em um estudo realizado para avaliar fatores de risco nas infecções de corrente sanguínea por *E. coli* e *Klebsiella* sp produtoras ESBL e não produtoras de ESBL no Hospital Infantil da Filadelfia, foi encontrado mortalidade de 36% e 13% respectivamente, porém a diferença não apresentou significância estatística⁶².

Em uma maternidade na Árabia Saudita, onde a bactéria mais isolada foi *K. pneumoniae*, a taxa de mortalidade total nos pacientes com infecção por KpESBL foi de 42,7%⁸.

Em um estudo realizado, em Porto Alegre, para avaliar fatores de risco para aquisição de infecções por KpESBL, a taxa de mortalidade relacionada à mesma foi de 21% nos casos e 19% no grupo controle (*K. pneumoniae* não produtora de ESBL), enquanto a taxa de mortalidade total de 22% e 21% respectivamente⁶³.

Em um outro estudo, também realizado em Porto Alegre, para avaliar fatores de risco para infecções de corrente sanguínea por KpESBL e *E. coli* produtora de ESBL (casos), os resultados apontaram uma taxa de mortalidade de 51% e 29,8% no grupo controle (pacientes com infecções por *K. pneumoniae* e *E. coli* não produtoras de ESBL), apresentado significância estatística⁴⁶.

Em um estudo caso-controle retrospectivo na Coreia, que avaliava infecções por *K. pneumoniae* produtora (casos) e não produtora de ESBL, os resultados demonstraram uma taxa de mortalidade de 35% e 28,5% (p=0,841) respectivamente. Nos casos a taxa de mortalidade,

em 30 dias, foi de 10,5% quando os pacientes foram tratados com imipenem ou ciprofloxacina e de 63,5% com os demais antimicrobianos⁶⁴.

Em um estudo transversal, na Tailândia, cujos dados foram coletados em 2003, para determinar prevalência e fatores de risco para aquisição de bacilos Gram-negativos produtores de ESBL e não produtores de ESBL, os resultados encontraram uma taxa de mortalidade de 41,3% e 19,8% respectivamente⁵².

Em um estudo de coorte retrospectivo, na Carolina do Norte, para avaliar mortalidade em bacteremia por Enterobactérias produtoras de ESBL e não produtoras (*Klebsiella sp* 63%, *E. coli* 23% e *Proteus sp* 14%), foi demonstrado maior mortalidade nas primeiras. A taxa de mortalidade total foi de 35% nos casos e 18% nos controles; a taxa de mortalidade associada à infecção nos casos e controles foi 30% e 16% respectivamente; e o retardo da terapia adequada ocorreu em 66% dos casos e 7% dos controles e esta diferença teve significância estatística⁶⁴.

Em um estudo de coorte para avaliar mortalidade de infecções de corrente sanguínea por *K. pneumoniae* e *E. coli* produtoras de ESBL e não produtoras, de origem comunitária, no Hospital Universitario de Thammasat, os resultados encontrados foram 36% e 15% de mortalidade respectivamente. Na análise da mortalidade por germe nas infecções por KpESBL foi de 92% e nas infecções por *E. coli* produtora de ESBL foi de 8%⁶⁶.

Os estudos que de algum modo descrevem a mortalidade analisaram mais de um germe, ou seja, *K. pneumoniae* e *E. coli*, enterobactérias e bacilos Gram-negativos, sendo importante salientar que a virulência dos germes é individualizada e independente da resistência ser semelhante.

Como na literatura existem poucos estudos que são delineados para avaliar a mortalidade em infecções por KpESBL e também há divergências em relação ao aumento da mortalidade, demonstra-se a necessidade de mais estudos com este objetivo^{59, 63, 67}.

3.6 Referências

1. Guideline Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of Multidrug-resistant organisms in healthcare settings. CDC 2006.
2. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunct Therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:1099-1106.
3. Qavi A, Maurer SS, Mariano N, Urban C et al. Increased Mortality Associated with a Clonal Outbreak of Ceftazidime-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. A Case-Control Study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:63-68.
4. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Eldelstein PH, Fishmann NO. Extended-Spectrum β -Lactamase-producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis*. 2001;32:1162-1171.
5. Cosgrove SE. The Relationship between Antimicrobial Resistance and Patient Outcomes: Mortality, Length of Hospital Stay, and Health Care Costs. *Clin Infect Dis* 2006;42:S82-9.
6. Arifin H, Navaratnam P, Kee TK, Balan G. Antibiotic Resistance Patterns in Nosocomial Gram-negative Bacterial Infections in units with Heavy Antibiotic Usage. *J Trop Pediatr*. 2004;50(1):26.
7. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000;45(2):183.
8. Bilal NE, Gedebo M. Clinical and community strains of *Klebsiella pneumoniae*: multiple and increasing rates of antibiotic resistance in Abha, Saudi Arabia. *British Journal of Biomedical Science*. 2000;57:185-191.

9. Rossi F, Andrezzi D. Bacilos Gram-negativos: Beta-lactamases. Resistência Bacteriana. Interpretando o antibiograma. Atheneu São Paulo. 2005;5:65-94.
10. Manchanda V, Singh NP, Goyal R, Kumar A, Thukral SS. Phenotypic characteristics of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* & evaluation of available phenotypic techniques for detection of extended spectrum beta-lactamases. Indian J Med Res. 2005;122(4):330-337.
11. Decré D, Garchit B, Lucet JC, Arlet G, Bergone-Beresin E, Regnier B. Clinical and Bacteriologic Epidemiologic of Extended- Spectrum β -Lactamase- producing Strains of *Klebsiella pneumoniae* in a Medical Intensive Care Unit. Clin Infect Dis. 1998;27:834-844.
12. Gupta A, Della-Lata P, Todd B et al. Outbreak of Extended- Spectrum β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Intensive Care Unit Linked to Artificial Nails. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25:210-215.
13. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV et al. Multiple Antibiotic-Resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in Nursing Homes. JAMA 1999;281(6):517-523.
14. Donnenberg M. *Enterobacteriaceae*. In Mandell G, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005:2567-2586.
15. Martinez J, Martinez L, Roseblueth M, Silva J, Martinez-Romero E. How are gene sequence analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. International Microbiology 2004;7:261-268.
16. Abbott SL. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other *Enterobacteriaceae*. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. Manual of Clinical Microbiology 9th ed. Washington: ASM Press 2007:698-715.
17. Jacoby GA, Munoz-Price LS Mechanisms of Disease The New β -Lactamases. N Engl J Med. 2005;352:380-391.

18. Bradford P. Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(4):933-951.
19. Tavares W. Resistência Bacteriana. In: Tavares W ed. *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos*. 3ª edição. São Paulo: Atheneu; 2002:55-144.
20. Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBLs): Characterization, Epidemiology, and Detection. *Crit Rev Microbio.* 2004;30:25-32.
21. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:657-686.
22. Kliebe C, Nies B, Meyer J et al. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;28:302-307.
23. Lucet JC, Decré D, Fichelle A et al. Control of a Prolonged Outbreak of Extended-Spectrum β -Lactamases- Producing *Enterobacteriaceae* in a University Hospital. *Clin Infect Dis.* 1999;29:1411-8.
24. West PWJ. Extended- Spectrum β -Lactamase- producing *Klebsiella spp.* *British Journal of Biomedical Science.* 2000;57:226-233.
25. Leavitt A, Chmelnitsky I, Colodner R, Ofek I, Carmeli Y, Navon- Venezia S. Ertapenem Resistance among Extended-Spectrum β -Lactamases- Producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol.* 2009;47:969-974.
26. Nordmann P. Trends in β -Lactamase resistance among *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis.* 1998;27(1):S100-6.
27. Gales AC, Jones RN, Pfaller MA, Gordon KA, Sader HS, Sentry Study Group. Two –year Assessment of the Pathogen Frequency and Antimicrobial Resistance Patterns among Organisms Isolated from Skin and Soft Tissue Infections in Latin American Hospitals:

- Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-98. *Int J Infect Dis.* 2000;4(2):75-84.
28. Andrade SS., Sader HS, Barth A L, Ribeiro J, Zoccoli C, Pignatari A C, and Gales A C. Antimicrobial Susceptibility of Gram-negative Bacilli Isolated in Brazilian Hospitals Participating in the SENTRY Program (2003-2008). *Braz J Infect Dis.* 2008;12(Suppl.2):3-9.
29. Motta RN, Oliveira MM, Magalhaes PSF, Dias AM, Aragão LP, Forti AC et al. Plasmid – Mediated Extended-Spectrum β -Lactamases- Producing Strains of *Enterobacteriaceae* Isolated from Diabetes Food Infections. In a Brazilian Diabetic Center. *Braz J Infect Dis.* 2003;7(2):129-134.
30. Monnet DL, Biddle JW, Edwards JR, Culver DH et al. Evidence of Interhospital Transmission of Extended-Spectrum β -Lactam-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States, 1986 to 1993. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1997;18(7):492-498.
31. Yu WL, Winokur PL, Jones RN, Sader HS. Surveillance in Taiwan Using Molecular Epidemiology for Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004;25:812-818.
32. Yamasaki K, Komatsu M, Yamashita T, Shimakama K, Ura T, Nishio H et al. Production of CTM-X-3 extended-spectrum β -lactamase and IMP-1 metallo β -lactamase by five Gram-negative bacilli: survey of clinical isolates from seven laboratories collected in 1998 and 2000, in the Kinki region of Japan. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2003;51:631-638.
33. Decre D, Burghoffer B, Gautier V, Peti JC, Arlet G. Outbreak of multi-resistant *Klebsiella oxytoca* involving strains with extended-spectrum β -Lactamases and strains with extended-spectrum activity of the chromosomal β -Lactamase. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2004;54(5):881-888.

34. Hong H, Chun J, Lee Y. Detection of Extended-Spectrum β -Lactamase- producing Multidrug-Resistant Environmental Isolates of *Escherichia coli* That Bind to Human Bladder Cells. *Microb Drug Resist*. 2004;10(2):184-189.
35. Kim JY, Park YJ, Kim S, Kang MW, Lee SO, Lee KY. Nosocomial outbreak by *Proteus mirabilis* producing extended-spectrum β -Lactamase VEB-1 in a Korean university hospital. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54(6):1144-1147.
36. Chanawong A, Zali FHM, Heritage J, Lulitavond A, Hawkey PM. SHV-12, SHV-5, SHV-2a and VEB-1 extended-spectrum β -Lactamases in Gram-negative bacteria isolated in a university hospital in Thailand. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001;48:839-852.
37. Lee SO, Lee ES, Park SY, Kim SY, Seo YH, Cho YK. Reduced use of Third-generation cephalosporins decreases the acquisition of extended-spectrum Beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004;25(10):832-837.
38. Du B, Long Y, Liu H, Chen D, Liu D, Xu y et al. Extended-Spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med*. 2002;28:1718-1723.
39. Livermore DM, Hawkey PM. CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005;56:451-454.
40. Lahey Clinic. *β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes*. Disponível em: <<http://www.lahey.org/studies>>. Acesso em: 5 nov 2009.
41. Dropa M, Balsalobre LC, Lincopan N, Mamizuca EM, Murakami T, Cassetari VC et al. Extended-Spectrum Beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* Isolated in a Public Hospital in Brazil *Rev Inst Med Trop. S. Paulo* 2009;51(4):203-209.
42. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Eurosurveillance*. 2008;13:1-11.

43. Hospital Nossa Senhora Conceição – Controle de Infecção Hospitalar. Relatório da Resistência Bacteriana aos Antibióticos. Primeiro Semestre; 2004.
44. Hospital Nossa Senhora Conceição – Controle de Infecção Hospitalar. Relatório da Resistência Bacteriana aos Antibióticos. Primeiro Semestre; 2005.
45. Sader H, Gales A C, Pfaller M A et al. Pathogen Frequency and Resistance Patterns in Brazilian Hospitals: Summary of Results from Three Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis.* 2001;5(4):200-214.
46. Superti SV, Augusti G, Zavascki AP. Risk Factors for Mortality of Extended-Spectrum β -Lactamases Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Nosocomial Bloodstream Infections. *Rev Inst Med Trop. S. Paulo* 2009;51(4):211-216.
47. Nogueira KS, Higuti IH, Nascimento AJ, Terasawa LB, Oliveira S, Matos AP et al. 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.
48. De Champs C, Chanal C, Sirot C, Baradue R, Romaszko JP, Bonnet R et al. Frequency in diversity of Class A Extended-Spectrum β -Lactamases in hospitals of the Auvergne, France: a 2 year prospective study. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2004;54:634-639.
49. Khurana S, Taneja N, Sharma M. Extended spectrum β -Lactamase mediated resistance in urinary tract isolates of family *Enterobacteriaceae*. *Indian J Med Res.* 2002;116:145-149.
50. Tankihwale SS, Jalgaonkar SV, Ahamad S, Hassni U, Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. *Indian J Med Res.* 2004;120(6):553-556.
51. Saurina G, Quale JM, Manikal VM, Oydna E, Landman D. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in Brooklyn, NY: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2000;45(6):895-898.

52. Methee C, Junsriwong P, Keerasuntonpong A, Tribuddharat C, Thamlikitkul V. Epidemiology of Extended-Spectrum beta-lactamase producing gram negative bacilli at Siriraj Hospital, Thailand, 2003. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005;36(6):1503-1509.
53. Azevedo PA, Gonçalves ALS, Musskopf MI, Ramos CG, Dias CA. Laboratory Test in the Detection of Extended- Spectrum beta-lactamase Production: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Screening Test, E-Test, the Double Disk Confirmatory Test, and Cefoxitin Suscetibility Testing. *Braz J Infect Dis*. 2004;8(5):372-377.
54. Sanders CC, Barry AL, Washington JA, Shubert C, Moland ES, Traczewsk MM et al. Detection Extended-Spectrum beta-Lactamases Producing Members of the family *Enterobacteriaceae* with at the Vitek ESBL Test. *J Clin Microbiol*. 1996;34(12): 2997–3001.
55. Livermore DM, Brown DFJ. Detection of beta-Lactamase - mediated resistance. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001;48(S1):59-64.
56. Sturenburg E, Lang M, Horstkotte MA, Laufs R, Mack D. Evaluation of the MicroScan ESBL plus confirmation panel for detection of extended-spectrum beta-Lactamases in clinical isolates of oxyimino-cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54(5):870-875.
57. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S, Casellas JM et al. Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: implications of production of Extended-Spectrum beta-Lactamases. *Clin Infect Dis*. 2003;39:31-7.
58. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S; Casellas JM et al. Antibiotic International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: implications of Extended-Spectrum beta-Lactamases production in nosocomial infections. *Ann Intern Med*. 2004;140:26-32.

59. Hyle HP, Lipworth AD, Zaoutis TE. et al. Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase- producing enterobacteriaceae: variability by site of infection. *Ann Intern Med.* 2005;165:1375-1380.
60. Hamilton KW, Bilker WB, Lautembach E. Controlling for Severity of Illness in Assesment of the Association between Antimicrobial-resistant Infection and Mortality: Impact of Calculation of Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II Scores at Different Time Points. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:832-836.
61. Lautenbach E, Metley JP, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman ND. Association between Fluoroquinolona Resistance and Mortality in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Infections. The Role of Inadequate Empirical Antimicrobial Therapy. *Clin Infect Dis.* 2005;41:923-9.
62. Zaoutis ET, Goyal M, Chu JM, Coffin SE et al. Risk Factors for and Outcomes of Bloodstream Infection caused by Extended- Spectrum β -Lactamases Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella Species* in Children. *Pediatrics.* 2005;115(4):942-949.
63. Behar PRP. Fatores de risco para aquisição de *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -Lactamase de espectro estendido em hospitais de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado. Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Goes. UFRJ 2002.
64. Kang CI, Kim SH, Kim DM, Park WB, Lee KD, Kim HB et al. Risk factors for and Clinical of Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum beta-lactamases Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:860-867.
65. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmely Y. Clinical and Economic Impact of bacteremia with Extended-Spectrum- β -Lactamase- producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(4):1257-1262.
66. Apisarnthanarak A, Kiratisin P, Mundy LM. Preditors of Mortality From Community-Onset Bloodstream Infectiouns Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase- Producing

Escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29:671-674.

67. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-Spectrum β -Lactamases and Clinical Outcomes Current Data. Clin Infect Dis. 2006;42(4):164-72.

4 OBJETIVO

O presente estudo foi delineado para avaliar mortalidade das infecções por *K. pneumoniae* produtora de ESBL em pacientes internados em unidades de terapia intensiva.

5 HIPÓTESES

- 1- Os pacientes com infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL apresentam maior mortalidade que os pacientes sem infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL.
- 2- Dentre as infecções por *K. pneumoniae* produtora de ESBL, as infecções do trato urinário apresentam menor mortalidade.
- 3- Os pacientes com infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL e adequação do uso de antibióticos apresentam menor mortalidade.

6 ARTIGO EM PORTUGUÊS

MORTALIDADE NAS INFECÇÕES POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUTORA DE B-LACTAMASE DE ESPECTRO AMPLIADO EM UNIDADE DE TRATAMENTO INTENSIVO (UTI)

RESUMO

Objetivo: Avaliar mortalidade nas infecções por *K. pneumoniae* produtora de β - lactamase de espectro ampliado (KpESBL) em pacientes internados em unidades de terapia intensiva(UTI).

Delineamento do estudo: Estudo de coorte histórico exposto-controlado, no período de janeiro de 2005 a outubro de 2007.

Ambiente: UTIs do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) em Porto Alegre /RS, Brasil.

Pacientes: Adultos, maiores de 18 anos, internados nas UTIs e selecionados para completar 70 casos e 140 controles.

Método: Os pacientes casos apresentavam infecção hospitalar por KpESBL e foram comparados aos pacientes controle que poderiam apresentar infecção por outro germe ou nenhuma infecção hospitalar (IH) na relação 1:2. Seguimento de 30 dias em ambos os grupos. As curvas de mortalidade foram realizadas pelo método de Kaplan-Meier.

Resultados: Em ambos os grupos, o maior desfecho foi a cura. A taxa de mortalidade foi de 42,9% nos casos e 48,6% nos controles. O presente estudo não demonstrou diferença estatística na mortalidade entre os pacientes com infecção por KpESBL e o grupo controle,

tanto na análise univariada (risco relativo (RR)= 0,8 e intervalo de confiança (IC) de 95%, 0,52-1,23), como na regressão de Cox com fatores ajustados (RR= 0,86; IC95%= 0,54-1,35).

Conclusões: Os pacientes com infecção por KpESBL não apresentaram maior mortalidade que os demais pacientes da UTI. Os pacientes com infecção por KpESBL que apresentaram infecção urinária e tiveram a terapia empírica adequada demonstraram menor mortalidade.

Descritores: *Klebsiella pneumoniae*, mortality, extended-spectrum beta-lactamase

INTRODUÇÃO

O aumento de germes multirresistentes é uma realidade mundial. Bacilos Gram-negativos que produzem β -lactamase de espectro ampliado, resistentes a fluoroquinolonas, carbapenêmicos e aminoglicosídeos estão mais prevalentes atualmente. Alguns estudos tem demonstrado o aumento da mortalidade, de tempo de estadia e custos entre os pacientes portadores de bacilos Gram-negativos multirresistentes^{1, 2, 3, 4, 5}. Em infecções causadas por germes produtores de ESBL as opções terapêuticas se restringem à carbapenêmicos ou quinolonas⁶.

Vários estudos têm demonstrado surtos em UTI por KpESBL e alguns destes têm sido relatados com aumento da morbidade e mortalidade^{7,8}.

A mortalidade das infecções por KpESBL encontrada nos estudos variam de 20% a 35%^{9, 10, 11, 12} e o retardo da terapia adequada em germes produtores de ESBL parece estar relacionado com maior mortalidade, principalmente em infecções não urinárias^{13, 14}.

Os estudos que de algum modo descrevem a mortalidade analisaram mais de um germe, ou seja, *K. pneumoniae* e *E. coli*, enterobactérias e bacilos Gram-negativos, sendo importante salientar que a virulência dos germes é individualizada e independente da

resistência ser semelhante. Outro aspecto importante a se considerar é o fato de que os estudos delineados para avaliar fatores de risco para *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli*, bacilos Gram-negativos ou enterobactérias produtores ESBL, secundariamente estimam a mortalidade^{11,12,15,16}.

Como existem poucos estudos que são delineados para avaliar mortalidade em infecções por KpESBL e também há divergência em relação ao aumento da mortalidade relatada^{11,13,17}, o objetivo do presente estudo foi avaliar a mortalidade apenas por KpESBL através de um delineamento específico, ou seja, através de um estudo de coorte histórico exposto- controlado.

METODOLOGIA

Participantes

Pacientes internados nas UTIs do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) no período de janeiro 2005 a outubro de 2007.

Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo de coorte histórico exposto-controlado. Os critérios de inclusão foram: pacientes adultos, maiores de 18 anos, internados nas UTIs do hospital no período de janeiro de 2005 a outubro de 2007 até completar 70 casos e 140 controles. Os casos eram pacientes que apresentaram infecção hospitalar por KpESBL identificados por cultura. A detecção foi realizada através das fichas de vigilância epidemiológica do Serviço de Controle

de Infecção Hospitalar (SCIH). O seguimento foi de 30 dias, a partir da data da cultura. Os pacientes controles, na relação 1:2, foram pacientes da mesma UTI e presentes na mesma época do caso, podendo apresentar infecção por outro germe ou nenhuma infecção hospitalar (IH). Critério de exclusão dos controles foi apresentar infecção por KpESBL. Devido à relação 1:2 para casos e controle, não houve a necessidade de pareamento entre eles.

Ambiente

O estudo foi realizado nas UTIs do HNSC em Porto Alegre /RS, Brasil. Hospital geral que se caracteriza por ser de atendimento terciário, 100% público, com aproximadamente 900 leitos e com 3 unidades de tratamento intensivo, totalizando 26 leitos deste gênero. Ainda se caracteriza por ser um Hospital de ensino e que apresenta Controle de Antimicrobianos exercido por 3 médicos infectologistas.

Coleta de dados

Os dados foram coletados através das fichas de vigilância epidemiológica do SCIH e do prontuário médico, incluindo o eletrônico. Os dados coletados a partir de uma ficha clínica e orientada por um Manual de Coleta de Dados, foram colocados numa planilha do Excel 2007 e analisados pelo SPSS 16.0.

A avaliação de gravidade nos pacientes foi realizada por meio do *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II)*^{18,19}. A classificação e o diagnóstico das infecções foram realizados pelos critérios do *Center for Disease Control and Prevention (CDC)*²⁰.

Os dados coletados foram: nome, sexo, registro, data de nascimento e albumina. Foram também coletados dados referentes a procedimentos invasivos: cirurgia, sonda vesical de demora, ventilação mecânica, tubo endotraqueal, traqueostomia, cateter arterial, cateter de Swan-Ganz e cateter venoso central até 30 dias antes da infecção por *K. pneumoniae* para os casos e do início do seguimento para os controles. Coletaram-se dados a respeito da presença das seguintes condições, até 30 dias antes do início do seguimento: diabetes melitus, colagenoses, insuficiência cardíaca congestiva, quimioterapia, doença pulmonar obstrutiva crônica, acidente vascular encefálico, imunossupressor, neoplasia maligna, infecção por HIV, doença hepática crônica, infarto agudo do miocárdio (IAM) ou síndrome coronariana aguda (SCA), insuficiência renal crônica e uso crônico de corticóide.

A sensibilidade no antibiograma da KpESBL foi registrada para aos seguintes antibióticos: imipenem, meropenem, ertapenem, ciprofloxacina, ofloxacina, gentamicina, amicacina e sulfametoxazol e trimetoprima. Foi considerado adequado o tratamento empírico quando o antibiótico usado era sensível na cultura.

Os desfechos por óbito devido à infecção por KpESBL ou outro germe foram considerados em pacientes que apresentavam clínica de infecção (leucocitose/leucopenia, febre/hipotermia, choque, falência ou comprometimento de órgãos) e critérios do CDC. O óbito por outra doença foi considerado em pacientes que apresentavam a descrição no prontuário ou no atestado de óbito. A cura foi considerada quando o paciente apresentava infecção ou uma doença aguda. A melhora foi considerada quando o paciente apresentava estabilização de uma doença crônica.

Métodos laboratoriais

Todas as culturas foram realizadas no sistema automatizado VITEK® e todas as amostras de *Klebsiella pneumoniae* foram testadas para ESBL. O teste para detecção de ESBL no VITEK® é realizado com cefotaxime (0,5µg/ml) e ceftazidime (0,5µg/ml) isolados e associados com ácido clavulânico (4µg/ml), de acordo com as normas do CLSI²¹.

Análises estatísticas

A amostra foi calculada pelo Programa para Epidemiologistas PEPI versão 4.0, estimando um poder de 80% e $p=0,05$ para detectar diferença de taxa de mortalidade de 40% a 20%, ajustado para até 5 fatores além da exposição à ESBL.

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa SPSS, versão 16.0. As variáveis categóricas foram descritas pela frequência absoluta e frequência relativa percentual. As variáveis quantitativas foram descritas pela média e o desvio padrão. As curvas de mortalidade foram realizadas pelo método de Kaplan-Meier.

O risco relativo (RR) foi obtido pelo modelo de regressão de Cox na análise bivariada e ajustada aos seguintes fatores: idade, APACHE II, traqueostomia, cateter arterial, cateter de Swan-Ganz, doença hepática crônica, IAM ou SCA, insuficiência renal crônica, corticóide, outras (principalmente alcoolismo, tabagismo e obesidade). O APACHE II foi fator de ajuste pela importância clínica e os demais fatores pelo valor do p na análise bivariada menor que 0,2.

As comparações das taxas de mortalidade entre os casos por sítio de infecção e pela adequação da terapia empírica foram realizadas pelo teste qui-quadrado.

RESULTADOS

Na comparação entre os grupos caso e controle, houve diferença significativa na análise bivariada somente nas variáveis idade e traqueostomia, conforme a Tabela 4. A idade média dos casos foi 57,01(\pm 15,79) e nos controles de 56,16 (\pm 19,27). No grupo controle, 96 (68,6%) dos pacientes apresentaram infecção hospitalar; 18(12,9%) infecção comunitária e 26 (18,6%) não apresentaram infecção. Entre as infecções, 92 (80,7%) tiveram o germe identificado.

Tabela. 4 Características demográficas e clínicas dos pacientes com infecção por KpESBL e controles

	Casos n=70	Controle n=140	P
Sexo masc,	34 (48,6)	75 (53,6)	0,29
Idade	57,01 \pm 15,79	56,16 \pm 19,27	0,016
APACHE II	23,03 \pm 20,47	22,67 \pm 18,09	0,53
Cirurgia	27 (38,6)	61 (43,6)	0,29
Albumina	2,40 \pm 0,72	2,37 \pm 0,64	0,34
SVD	70 (100)	138 (98,6)	0,44
VM	69 (98,6)	136 (97,1)	0,45
TET	68 (97,1)	136 (97,1)	0,68
Traqueostomia	39 (55,7)	52 (37,1)	0,008
Cateter arterial	23 (32,9)	30 (21,4)	0,053
Swan-Ganz	11 (15,7)	11 (7,9)	0,068
CVC	70 (100)	139 (99,3)	0,66
Co-morbidade	55 (78,6)	117 (83,6)	0,24
DM	25 (35,7)	48 (34,3)	0,47
Colagenoses	2 (2,9)	1 (0,7)	0,25
ICC	13 (18,6)	24 (17,1)	0,46
Quimioterapia	1 (1,4)	6 (4,3)	0,26
DPOC	17 (24,3)	43 (30,7)	0,21
AVE	13 (18,6)	19 (13,6)	0,22
Imunossupressor	2 (2,9)	4 (2,9)	0,65
Neoplasia	9 (12,9)	19 (13,6)	0,53
HIV	7 (10)	16 (11,4)	0,48
DHC	3 (4,3)	13 (9,3)	0,15
IAM ou SCA	11 (15,7)	11 (7,9)	0,06
IRC	4 (5,7)	15 (10,7)	0,17
Corticóide	8 (11,4)	25 (17,9)	0,18
Outras	12 (17,1)	36 (25,7)	0,11

Dados são apresentados como número (percentagem), média \pm DP. KpESBL – *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro ampliado. SVD- sonda vesical de demora. VM- ventilação mecânica. TET- tubo endotraqueal. CVC- cateter venoso central. DM- Diabete Melitus. ICC- insuficiência cardíaca congestiva. DPOC- doença pulmonar obstrutiva crônica. AVE-acidente vascular encefálico. DHC- doença hepática crônica. IAM- Infarto Agudo do Miocárdio. SCA- Síndrome coronariana Aguda.

Quanto ao sítio de infecção foram encontradas mais freqüentemente: pneumonia, sepse de foco urinário e não urinário e infecção urinária conforme a Tabela 5. Entre os pacientes com pneumonia, somente um entre os casos e dois entre os controles não estavam associados à ventilação mecânica.

Tabela 5. Classificação das infecções dos pacientes com infecção por KpESBL e controles

Sítio da Infecção	Casos n=70 n(%)	Controles n=114 n(%)
Pneumonia	15 (21,4)	52 (45,6)
Sepse outros focos	15 (21,4)	39 (34,2)
Sepse urinária	14 (20)	5 (4,4)
ITU	14 (20)	3 (2,6)
CVS	5 (7,1)	2 (1,8)
FO profunda	3 (4,3)	0 (0)
LRI	2 (2,9)	4 (3,5)
FO órgão espaço	2 (2,9)	1 (0,9)
GI-IAB	0 (0)	4 (3,5)
Outros	0 (0)	4 (3,5)

KpESBL – *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro ampliado. ITU=infecção do trato urinário. CVS= cardiovascular. FO= ferida operatória. LRI= traqueobronquite. GI-IAB= intraabdominal.

A sensibilidade das amostras de KpESBL foi maior para imipenem, em 69 casos (1 não testado – NT). Os demais antibióticos apresentaram menor sensibilidade: amicacina em 58, meropenem em 41 (27 NT), ertapenem em 27 (38 NT), ciprofloxacina em 12, sulfametoxazol/ trimetoprima em 12, ofloxacina em 7 (52 NT) e gentamicina em 1.

Em ambos os grupos o maior desfecho foi a cura, A taxa de mortalidade foi 42,9% nos casos e 48,6% nos controles, conforme as Tabelas 6 e 7. O presente estudo demonstrou que não houve diferença estatística, na mortalidade entre os pacientes com infecção por KpESBL e o grupo controle, tanto na análise univariada (RR=0,8, IC= 95%, 0,52-1,23), como na regressão de Cox com fatores ajustados (RR= 0,86, IC95%= 0,54-1,35), conforme a Tabela 7 e Figura 1.

O presente estudo também não demonstrou diferença entre os casos na taxa de mortalidade total e específica por infecção por KpESBL em relação ao sítio de infecção, conforme a Tabela 8, e a adequação da terapia empírica, conforme a Tabela 9.

Tabela 6. Desfechos pacientes com infecção por KpESBL e controles em 30 dias dos grupos

	Casos n=70 n(%)	Controles n=140 n(%)
Óbito por KpESBL	17 (24,3)	-
Óbito por outro germe	11(15,7)	45(32,1)
Óbito por outra doença	2(2,9)	23(16,4)
Cura	40(57,1)	66(47,1)
Melhora	0	6(4,3)

KpESBL- *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL

Tabela7. Comparação entre os grupos com infecção por KpESBL (casos) e controles para a ocorrência de mortalidade por diversas causas

Causas de Mortalidade	Análise Descritiva		Análise Univariada			Regressão de Cox		
	Casos n = 70	Controles n = 140	HR	IC95%	P	HR	IC95%	P
Todas [1+2+3]	30 (42,9)	68 (48,6)	0,80	0,52 a 1,23	0,30	0,86	0,54 a 1,35	0,50
Infecciosas [1+2]	28 (40,0)	45 (32,1)	1,12	0,70 a 1,79	0,65	1,19	0,72 a 1,98	0,50
Outras Infecciosas [2]	11 (15,7)	45 (32,1)	0,44	0,23 a 0,85	0,02	0,48	0,24 a 0,96	0,04
Não-infecciosas [3]	2 (2,9)	23 (16,4)	0,16	0,04 a 0,68	0,01	0,17	0,04 a 0,72	0,02
Não-KpESBL [2+3]	13 (18,6)	68 (48,6)	0,35	0,19 a 0,63	<0,001	0,38	0,21 a 0,70	<0,001

KpESBL: *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro ampliado; Causa de mortalidade: [1] específica por KpESBL, [2] outro germe, [3] outra causa não infecciosa; HR: risco relativo (Hazard Ratio); IC95%: intervalo de confiança de 95%; P: significância estatística. Os fatores incluídos na regressão de Cox foram: idade, APACHE-II, traqueostomia, presença de cateter Swam-Ganz, presença de cateter arterial, presença de doença hepática crônica, presença de infarto agudo do miocárdio ou doença coronariana, insuficiência renal crônica, uso de corticóide e outras co-morbidades.

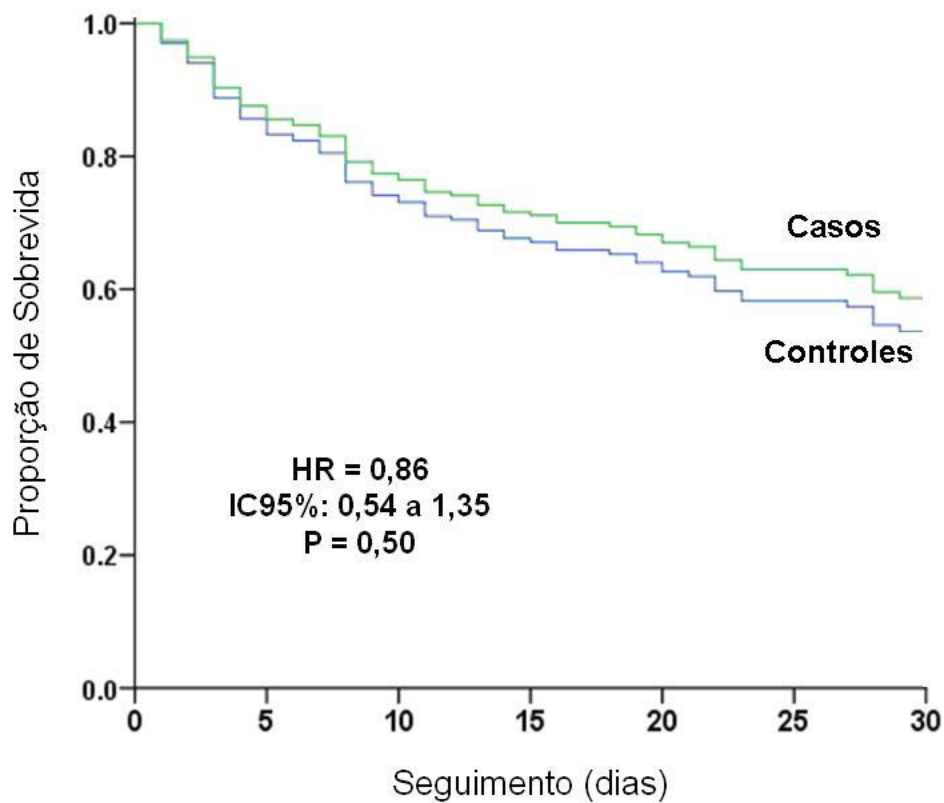


Figura 1. Curva de sobrevivida ajustada obtida em modelo de regressão de Cox para a comparação de mortalidade por todas as causas comparando os grupos com infecção por KpESBL (casos) e controles.

Tabela 8. Taxa de mortalidade total e por KpESBL nos casos por sítio de infecção.

Sítio da Infecção	Mortalidade Total%(n)	P	Mortalidade por KpESBL%(n)	P
Sepse de outros focos	60 (9)		33,3(5)	
Sepse urinária	50(7)		28,6(4)	
Outros*	41,7 (5)	0,31	16,7(2)	0,73
Pneumonia	40(6)		26,4(4)	
ITU	21,4(3)		14,3(2)	

*Outros- infecção cardiovascular, bronquite, intra-abdominal e ferida operatória. ITU=infecção do trato urinário. KpESBL= *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro ampliado. T. O teste de chi-square foi usado para comparar as taxas de mortalidade entre os casos de acordo com o sítio da infecção.

Tabela 9. Taxa de mortalidade total e por KpESBL nos casos por adequação da terapia empírica.

Terapia empírica	Mortalidade por KpESBL % (n)	P
Adequada	19(4)	0,68
Não adequada	29,6(8)	
Não realizada	22,7(5)	

KpESBL= *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro ampliado. O teste de chi-square foi usado para comparar as taxas de mortalidade ente os casos de acordo com a adequação da terapia empírica.

DISCUSSÃO

A grande contribuição do presente estudo, que o distingue enormemente dos demais, é o seu delineamento planejado especificamente para avaliar a mortalidade dos pacientes com infecção por KpESBL. Outro aspecto importante deste estudo foi avaliar apenas as infecções por um único microorganismo, excluindo-se colonização, e utilizando critérios de diagnósticos do CDC.

A mortalidade total neste estudo foi elevada em relação aos estudos revisados, 42,9% nos casos e 48,6% nos controles. Este resultado deve estar relacionado ao fato deste estudo incluir somente pacientes de UTI, pois os demais estudos na literatura descrevem mortalidade associada à bacteremia ou infecções geralmente em pacientes de UTI mas também em enfermarias^{2,9,10,11,12,13,14,15,16}. Neste grupo de pacientes por nós estudado, aqueles com infecção por KpESBL não apresentaram maior mortalidade que os demais, tanto na mortalidade de todas as causas, quanto na mortalidade por causas infecciosas, por outras causas infecciosas que não KpESBL e não infecciosas, conforme a Tabela 7. Este resultado se deve ao fato de não haver diferença na mortalidade entre os grupos ou pelo número de casos e controles terem sido insuficientes para detectar variações menores do que 20% de mortalidade. Na mortalidade por causa não KpESBL, houve diferença estatística porque os casos, como é esperado, apresentaram mortalidade maior por KpESBL.

Infecções por *K. pneumoniae* produtora de ESBL estão cada vez mais prevalentes e as opções terapêuticas cada vez mais restritas, porque além da resistência aos beta-lactâmicos, frequentemente podem também apresentar resistência a aminoglicosídeos e quinolonas^{1, 6}. O presente estudo também demonstrou características deste perfil de resistência, as amostras de *Klebsiella pneumoniae* que causaram as infecções analisadas neste estudo apresentaram: 98,5% de sensibilidade ao imipenem; 83% a amicacina; 58,5% ao meropenem; 38,5% ao ertapenem; 17% a ciprofloxacina e sulfametoxazol/trimetroprima; 10% a ofloxacina e 1,5% a gentamicina.

No delineamento deste estudo, os pacientes com sepse foram divididos em duas categorias: sepse de foco urinário e sepse de outros focos. Este cuidado foi tomado devido a outro estudo demonstrar que a terapia inicial inadequada foi fator de risco independente para mortalidade nas infecções não urinárias¹³.

Nos casos, tanto a mortalidade total como a específica por KpESBL apresentaram-se maior entre os pacientes com sepse de foco urinário, sepse de outros focos e pneumonia, porém não houve diferença estatística. A menor mortalidade ocorreu nos casos que apresentaram infecção urinária.

O retardo da terapia adequada demonstrou ser fator de risco na mortalidade associadas à bacteremia por enterobactérias produtoras de ESBL em um estudo na Carolina do Norte¹⁴. No presente estudo, entre os casos, a mortalidade específica por KpESBL apresentou-se maior entre os pacientes que a terapia empírica foi inadequada, ou seja, o antibiótico prescrito não demonstrou sensibilidade no antibiograma, porém não houve diferença estatística, conforme Tabela 9. A mortalidade específica por KpESBL foi menor entre os pacientes com terapia empírica adequada, em relação a terapia não adequada, 19% e 29,6% respectivamente.

Os pacientes com infecção por KpESBL não apresentaram maior mortalidade que os demais pacientes (Tabela 7 e Figura 1), embora tivessem disponíveis apenas uma classe de antimicrobianos, ou seja, os carbapenêmicos. Da mesma forma os pacientes com infecção urinária por KpESBL e aqueles com terapia empírica adequada apresentaram menor mortalidade, conforme Tabelas 8 e 9, mesmo que estatisticamente não significativa.

REFERÊNCIAS

1. Guideline Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of Multidrug-resistant organisms in healthcare settings. CDC 2006.
2. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunct Therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:1099-1106.
3. Qavi A, Maurer SS, Mariano N, Urban C et al. Increased Mortality Associated with a Clonal Outbreak of Ceftazidime- Resistant *Klebsiella pneumoniae*. A Case- Control Study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:63-68.
4. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Eldelstein PH, Fishmann NO. Extended-Spectrum β -Lactamase- producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis*. 2001;32:1162-1171.
5. Cosgrove SE. The Relationship between Antimicrobial Resistance and Patient Outcomes: Mortality, Length of Hospital Stay, and Health Care Costs. *Clin Infect Dis* 2006;42:S82-9.
6. Arifin H, Navaratnam P, Kee TK, Balan G. Antibiotic Resistance Patterns in Nosocomial Gram-negative Bacterial Infections in units with Heavy Antibiotic Usage. *J Trop Pediatr*. 2004;50(1):26.

7. Decré D, Garchit B, Lucet JC, Arlet G, Bergone-Beresin E, Regnner B. Clinical and Bacteriologic Epidemiologic of Extended- Spectrum β -Lactamase- producing Strains of *Klebsiella pneumoniae* in a Medical Intensive Care Unit. Clin Infect Dis. 1998;27:834-844.
8. Gupta A, Della-Lata P, Todd B et al. Outbreak of Extended- Spectrum β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Intensive Care Unit Linked to Artificial Nails. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25:210-215.
9. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S, Casellas JM et al. Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: implications of production of Extended-Spectrum β -Lactamases. Clin Infect Dis. 2003;39:31-7.
10. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S; Casellas JM et al. Antibiotic International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: implications of Extended-Spectrum β -Lactamases production in nosocomial infections. Ann Intern Med. 2004;140:26-32.
11. Behar PRP. Fatores de risco para aquisição de *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -Lactamase de espectro estendido em hospitais de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado. Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Goes. UFRJ 2002.
12. Kang CI, Kim SH, Kim DM, Park WB, Lee KD, Kim HB et al. Risk factors for and Clinical of Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum beta-lactamases Producing *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25:860-867.
13. Hyle HP, Lipworth AD, Zaoutis TE. et al. Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase- producing *Enterobacteriaceae*: variability by site of infection. Ann Intern Med. 2005;165:1375-1380.
14. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmely Y. Clinical and Economic Impact of bacteremia with Extended-Spectrum- β -Lactamase- producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(4):1257-1262.

15. Zaoutis ET, Goyal M, Chu JM, Coffin SE et al. Risk Factors for and Outcomes of Bloodstream Infection caused by Extended- Spectrum β -Lactamases Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella Species* in Children. *Pediatrics*. 2005;115(4):942-949.
16. Methee C, Junsriwong P, Keerasuntonpong A, Tribuddharat C, Thamlikitkul V. Epidemiology of Extended-Spectrum beta-lactamase producing gram negative bacilli at Siriraj Hospital, Thailand, 2003. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005;36(6):1503:1509.
17. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-Spectrum β -Lactamases and Clinical Outcomes Current Data. *Clin Infect Dis*. 2006;42(4):164-72.
18. Knaus WA, Draper E A, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818-29.
19. Gooder VJ, Farr BR, Young MP. Accuracy and efficiency of an automated system for calculating APACHE II scores in an intensive care unit. *Proc AMIA Annu Fall Symp*. 1997:131-5.
20. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/ NHSN Surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36:309-32.
21. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Performance Standards of Antimicrobial Suscetibility Testing: 15th informational supplement. (M100-S15) 2005.

ANEXOS

MANUAL DE COLETA DE DADOS

MORTALIDADE NAS INFECÇÕES POR KPESBL NA UTI

INSTRUÇÕES:

A coleta dos dados inicia através da lista de infecções por *Klebsiella pneumoniae* na UTI fornecida pelo Serviço de Controle de Infecção. Todos os pacientes desta lista deverão ser avaliados pela sua Ficha de Notificação de Infecções (FNI) neste serviço, no período de 14h as 17h com a secretária Cleci,.

Nos pacientes CASOS as informações deverão ser coletadas das FNI e repassadas para a Ficha de avaliação deste trabalho. O APACHE II e a albumina, como também outras informações, poderão ser verificados através do prontuário eletrônico. O prontuário médico no SAME poderá ser pedido se estiver faltando mais informações.

No SAME deverá ser fornecida a data da detecção da KpESBL em cada caso, para identificação de dois controles para cada caso, de 8h às 11:30 e 13h às 17:30. Solicitar com Marilce a reserva de no máximo 10 prontuários com 48h de antecedência no período.

Nos pacientes CONTROLES as informações deverão ser coletadas dos prontuários e repassadas para a ficha de avaliação deste trabalho. APACHE II e a albumina, como também outras informações, poderão ser verificados através do prontuário eletrônico.

Os dados deverão estar o mais claro possível.

Em caso de dúvida perguntar a Dra. Isabela Freitas.

Variáveis	Respostas
Nome	Nome do paciente
Registro	Registro do hospital
Sexo	-
Paciente n	Número do paciente no trabalho
Caso / controles	KpESBL (+) e dois controle
DN	Data de nascimento
DI na UTI	Data de internação na UTI
Leito	-

Questões 9 – procedimentos

Sim	Ter sofrido estes procedimentos nesta internação e nos últimos 30 dias a contar da data do exame (KpESBL)
Não	-

Questão 10 – co-morbidades

Sim	Apresentar estas patologias
Não	-

Questão 11 – Número do Apache II nas primeiras 24 horas na UTI

Questão 12 – Dosagem de albumina mais próxima da data de internação na UTI

Questão 13 – Infecção

Hospitalar	Infecção adquirida no HNSC – critérios CDC
Comunitária	Infecção não adquirida no HNSC e nem em outra instituição hospitalar
NI	Não identificada

Questão 14 – número de dias do paciente internado na UTI antes da detecção da infecção

Questão 15 – germe

KpESBL positiva	Casos
KpESBL negativa	controle
Não isolado germe	Controle
Outro germe	controle e citar o germe

Questão 16

Caso	Data do exame KpESBL
Controle	Data do início da coleta de dados que corresponde a data do exame KpESBL do seu caso

Questão 17- material coletado do exame KpESBL (caso) ou de outras infecções

Questão 18 – qual sítio da infecção de acordo com critérios do CDC

Questão 19 - sensibilidade

Sim	No antibiograma da KpESBL demonstra sensibilidade
Não	No antibiograma da KpESBL demonstra resistência plena ou intermediária
NT	Não testada

Questão 20 – escolha terapia empírica

Sim	Escolha de um antibiótico que o antibiograma demonstrou sensibilidade à Kp ou outro germe
Não	Escolha de um antibiótico que o antibiograma demonstrou resistência total ou intermediária a Kp ou outro germe
NR	Não realizada a terapia empírica

Questão 21 – troca de antibiótico

Sim, após antibiograma.	Houve devido ao antibiograma
Sim, outros	Houve troca devido a outros fatores
Não	Não houve troca

Questão 22 – escolha após antibiograma

Sim	Escolha de antibiótico que a Kp ou outro germe são sensíveis pelo antibiograma
Não	Escolha de antibiótico que a Kp ou outro germe são resistentes pelo antibiograma
NR	Não realizada a terapia sugerida por antibiograma

Questão 23 – desfecho

Data	Data do desfecho – 30 dias do exame ESBL/ caso - 30 dias do início observ/ controle
Óbito por KpESBL (+)	Morte por KpESBL (caso) no período de até 15 dias a contar da identificação do germe
Óbito por KpESBL (-)	Morte por Kp não ESBL
Óbito por outro germe	Morte por outro germe especificar
Óbito por outra patologia	Morte por outra patologia
Cura	Tratada a infecção ou outra patologia aguda
Melhora	Patologia crônica

FICHA DE COLETA DE DADOS
MORTALIDADE NAS INFECÇÕES POR KPESBL NA UTI

1- NOME: _____

2- REGISTRO: _____

3- SEXO (1) F (2) M

4- PCT N: _____

5- (1) Caso - (2) Controle A - (3) Controle B

6- DN: _____

7- DI na UTI: ____/____/____

8- LEITO: _____

RESPONDER (1) Sim (2) Não nas questões de 9 a 10.

9-PROCEDIMENTOS INVASIVOS:

() 1-Cirurgia :

(1) Abdominal

(2) Urológica

(3) Neurológica

(4) Torácica

(5) Cardíaca

(6) Ortopédica

(7) Ginecológica

(8) Vascular

(9) Outras: _____

() 2- SVD

() 3- VM

() 4-Tubo endotraqueal

() 5-Traqueostomia

() 6- Cateter arterial

() 7- Swan – Ganz

() 8-CVC

10-CO-MORBIDADES:

() DM

() Neoplasia Maligna

() Colagenoses

() Infecção HIV

() ICC

() Doença Hepática Crônica

() Quimioterapia

() IAM ou SCA

() DPOC

() Insuf. Renal Crônica

() AVE

() Corticóide crônico (+ 2 semanas)

() Imunossupressor

() Outras: _____

11-APACHEII: _____

12- ALBUMINA: _____

13- INFECCÃO: (1) Hospitalar (2) Comunitária (3) NI

14 - Dias de internação na UTI até detectar infecção : _____

15- GERME:

(1) KpESBL positiva

(3) Não isolado germe

(2) KpESBL negativa

(4) Outro germe: _____

16-DATA DO EXAME (caso) ou INÍCIO da COLETA de DADOS (controle): ____/____/____

17 - MATERIAL:

1. () Escarro
2. () Urina
3. () Sangue
4. () LBA
5. () Asp. endotraqueal
6. () Liq. ascite
7. () Liq. pleural
8. () LCR
9. () Cateter
10. () Sec. FO
11. () Outros: _____

18 - QUAL INFECÇÃO:

1. () PNEU
2. () ITU
3. () Sepse (foco primário ITU)
4. () Sepse (outros focos)
5. () Infecção Cardiovascular (CVS)
6. () LRI-BRON
7. () Infecção intraabdominal (GI-IAB)
8. () Meningite (CNS/ MEN)
9. () FO superficial (SSI-SUP)
10. () FO profunda (SSI-DEEP)
11. () FO de órgão – espaço
12. () Outros: _____

19-SENSIBILIDADE KpESBL: (1) SIM (2) NÃO (3) NT

1. () Imipenem
2. () Meropenem
3. () Ertapenem
4. () Ciprofloxacina
5. () Ofloxacina
6. () Gentamicina
7. () Amicacina
8. () SMT-TMP

ADEQUAÇÃO DO TRATAMENTO

TERAPIA EMPIRICA:

20- Escolha

(1) SIM (2) NÃO (3) NR

21- Houve troca de ATB

(1) SIM, após antibiograma (2) SIM, outros (3) NÃO

TERAPIA SUGERIDA POR ANTIBIOGRAMA:

22- Escolha

(1) SIM
(2) NÃO
(3) NR

23-DESFECHEO: DATA: ____/____/____

- (1) Óbito por KpESBL(+)
- (2) Óbito por KpESBL (-)
- (3) Óbito por outro germe
- (4) Óbito por outra patologia
- (5) Cura
- (6) Melhora

Observações: _____

ARTIGO EM INGLÊS

MORTALITY DUE TO INFECTIONS BY EXTENDED-SPECTRUM B-LACTAMASE-
PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* AMONG INTENSIVE CARE UNIT (ICU)
PATIENTS

ABSTRACT

Objective: To evaluate mortality rate due to infections by extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-Kp) among patients in intensive care unit (ICU).

Study design: Historical exposed-control cohort study conducted from January 2005 to October 2007.

Setting: ICUs of Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) in Porto Alegre, Brazil.

Patients: Adult patients older than 18 years hospitalized in ICU and enrolled up to 70 cases and 140 controls.

Method: The patients in the case group, who had nosocomial infection by ESBL-Kp, were compared with control patients, who had infections by other organisms or no nosocomial infection (NI), at a 1:2 ratio. Both groups were followed up for 30 days. Mortality curves were estimated using the Kaplan-Meier method.

Results: In both groups, the most frequent outcome was the cure. Mortality rate was 42.9% in the case group and 48.6% in the control group. There were no statistic differences in mortality between patients with ESBL-Kp infection and the control group in univariate analysis (Hazard ratio (HR) = 0.8; 95% confidence interval(CI), 0.52 – 1.23) or in Cox regression with adjusted factors (HR = 0.86; 95%CI, 0.54 – 1.35).

Conclusions: Patients with ESBL-Kp infection did not have higher mortality rates than the control patients in the ICUs. Patients with ESBL-Kp infection, urinary infection or who received adequate empirical therapy had lower mortality rates.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, mortality, extended-spectrum beta-lactamase

INTRODUCTION

The increase in multidrug-resistant organisms in large Hospitals is a worldwide reality. Extended-spectrum beta-lactamase-producing gram-negative bacteria resistant to fluoroquinolones, carbapenems and aminoglycosides have become widely prevalent. Some studies found an increase in mortality, length of hospital stay and costs among patients infected with multidrug-resistant gram-negative bacteria ^{1, 2, 3, 4, 5}. In infections caused by ESBL-producers, treatment options are limited to carbapenems or quinolones ⁶.

Several studies investigated ESBL-Kp infection outbreaks in ICUs, some of which were associated with increases in morbidity and mortality ^{7,8}.

The mortality associated with ESBL-Kp infections ranges from 20% to 35% ^{9,10,11,12}, and delays in adequate treatment in infections by ESBL-producers seems to be associated with higher mortality, particularly in cases of nonurinary infections ^{13,14}.

In general, studies that described mortality analyzed two or more organisms simultaneously, such as *K. pneumoniae* and *E. coli*, or enterobacteria and Gram-negative bacteria. It is important to remember that bacterial virulence is determined for each individual organisms, although resistance may be similar. Moreover, others studies, primarily designed to evaluate risk factors for infections by ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* and *E. coli*, Gram-negative organisms or enterobacteria, also estimated mortality ^{11,12,15,16}.

Few studies in the literature were designed to evaluate mortality in ESB-Kp infections, and their results about increased mortality are often divergent ^{11,13,17}. This study was planned and specifically designed as a historical exposed-control cohort study to evaluate mortality among patients with ESBL-Kp infection.

METHODS

Patients

This study enrolled patients hospitalized in the ICUs of Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) from January 2005 to October 2007.

Study design

This is a historical exposed-control cohort study. Inclusion criteria were: adult patients, older than 18 years, hospitalized in one of the ICUs of HNSC from January 2005 to October 2007. Patients were included until there were 70 cases and 140 controls. Cases were patients with nosocomial infection by ESBL-Kp detected in culture isolates. Cases were identified by checking the epidemiological surveillance forms of the Nosocomial Infection Control System (NICS). Follow-up lasted 30 days from the date when the culture was obtained. Control patients, at a 1:2 ratio, were hospitalized in the same ICU at the same time as the case patient, and had infection by another organisms or no nosocomial infection (NI). The exclusion criterion for control patients was infection by ESBL-Kp. There was no need to pair up cases and control because of the 1:2 ratio.

Setting

The study was conducted in the ICUs of HNSC in Porto Alegre, Brazil. HNSC is a 100% public tertiary-care general hospital with about 900 beds and 3 intensive care units, which totals 26 ICU beds. It is also a teaching hospital where 3 infection control specialists are responsible for the Antimicrobial Control Program.

Data collection

Data were collected from epidemiological surveillance forms of the NICS and medical charts, including electronic records. The data collected from clinical forms, according to a Data Collection Manual, were entered in an Excel 2007 spreadsheet and analyzed using the SPSS 16.0 software.

The evaluation of severity was performed using the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II) scores^{18, 19}. Infection classification and diagnoses were performed according to the Center for Disease Control and Prevention (CDC) criteria²⁰.

Data collected were: name, sex, record number, date of birth, and albumin concentrations. Data about invasive procedures were also collected: surgery, urinary catheter, mechanical ventilation, endotracheal tube, tracheotomy, intra-arterial catheter, Swan-Ganz catheter, and central venous line up to 30 days before *K. pneumoniae* infection and to the beginning of follow-up for control patients. Data were collected about the presence of the following conditions up to 30 days before the beginning of follow-up: diabetes, connective tissue disease, congestive heart failure, chemotherapy, chronic obstructive pulmonary disease, brains stroke, immunosuppression, malignant tumor, HIV infection, chronic liver disease, acute myocardial infarction (AMI) or acute coronary syndrome (ACS), chronic kidney disease and chronic use of corticosteroids.

The ESBL-Kp susceptibility test to antimicrobials included the following antibiotics: imipenem, meropenem, ertapenem, ciprofloxacin, ofloxacin, gentamicin, amikacin, and sulfamethoxazole trimethoprim. Initial empirical treatment was classified as adequate when the antibiotic used was susceptible to the antibiotic in culture.

Deaths due to infection by ESBL-Kp or other organisms were recorded for patients that had clinical signs of infection, such as leukocytosis/leukopenia, fever/hypothermia, shock, organ failure or dysfunction, and who met the CDC criteria. Death due to other diseases was recorded for patients that had a different description in their medical chart or death certificate. Cure was recorded when the patient had a previous infection or acute disease. Improvement was recorded when the patient reached a stable condition for a chronic disease.

Laboratory tests

All the cultures were made in the VITEK® automatic system, and all the *Klebsiella pneumoniae* samples were tested for ESBL-production. The test to detect ESBL-production in the VITEK® was performed with cefotaxime and (0.5 µg/ml) and ceftazidime (0.5 µg/ml) alone and in combination with clavulanic acid (4 µg/ml) according to the CLSI recommendations²¹.

Statistical analysis

The sample size was calculated using the PEPI 4.0 epidemiology software at an estimated power of 80% and $p=0.05$ to detect a difference of 40% to 20% in mortality rate, adjusted for up to 5 factors in addition to exposure to ESBL-producers.

The SPSS 16.0 software was used for all statistical analyses. Categorical variables were described as absolute frequencies and relative percentages. Quantitative variables were described as means and standard deviations. Mortality curves were calculated using the Kaplan-Meier method.

Hazard ratio (HR) was calculated according to the Cox regression model for bivariate analysis and adjusted for the following factors: age, APACHE II score, tracheotomy, intra-

arterial catheter, Swan-Ganz catheter, chronic liver disease, AMI or ACS, chronic kidney disease, corticosteroid use, other conditions (particularly alcoholism, smoking and obesity). The APACHE II score was used as a factor for adjustment because of its clinical importance, and the other factors, due to the fact that they reached a p value lower than 0.2 in bivariate analysis.

The chi-square test was used to compare mortality rates between cases according to infection site and adequacy of empirical therapy.

RESULTS

The comparison between case and control groups revealed a significant difference in bivariate analysis only for age and tracheotomy (Table 1). Mean age of patients in the case group was 57.01(\pm 15.79), and in the control group, 56.16 (\pm 19.27). In the control group, 96 (68.6%) patients had nosocomial infections; 18 (12.9%) had community acquired infections; and 26 (18.6%) had no infection. Of all infections, 92 (80.7%) had its causative organisms identified.

The analysis of infection site or the kind of the infections syndromes showed that the most frequent were: pneumonia, urinary and nonurinary sepsis and urinary infection (Table 2). Of the cases of patients with pneumonia, only one in the case group and two in the control group not were associated with MV.

Susceptibility of the ESBL-Kp samples was greater to imipenem in 69 cases (one not tested – NT). Susceptibility to other antibiotics was lower: amikacin in 58 samples, meropenem in 41 (27 NT), ertapenem in 27 (38 NT), ciprofloxacin in 12, sulfamethoxazole trimethoprim in 12, ofloxacin in 7 (52 NT) and gentamicin in 1.

In both groups, the most frequent outcome was the cure. The mortality rate was 42.9% in the case group and 48.6% in the control group (Tables 3 and 4). This study did not find statistically significant difference in mortality between patients with ESBL-Kp infection and the control group in univariate analysis (HR=0.8, 95%CI, 0.52 – 1.23), nor in the Cox regression with adjusted factors (HR= 0.86, 95%CI, 0.54 - 1.35) (Table 4 and Figure 1).

This study also did not find any differences between cases in total and specific mortality rates for ESBL-Kp infection in association with infection site (Table 5) or adequacy of empirical therapy (Table 6).

DISCUSSION

The major contribution this study, seems to be its design, as it was planned and specifically designed to evaluate mortality among patients with ESBL-Kp infection. Other important characteristic of this study was that it evaluate only one microorganism, rather than colonization, and classified infections according to the CDC criteria.

Total mortality in this study was high in comparison to those in the literature reviewed: 42.9% in the case group and 48.6% in the control group. This result may be associated with the fact that this study included only patients in ICU, whereas the other studies in the literature describe mortality associated bacteremia or infections usually in patients in ICU as well as in other hospital wards^{2,9,10, 11, 12, 13, 14, 15, 16}. The group of patients with ESBL-Kp infection studied here did not have higher mortality rates than other ICU patients, both in mortality due to all causes and mortality due to infection, infections other than ESBL-Kp, and to noninfectious causes (Table 4). This result, and the fact that there were no differences in mortality rates between groups, may indicate that the numbers of case and control patients should have been higher to detect a significant difference. The results of

mortality rates due to causes other than ESBL-Kp infection were statistically different because mortality due to ESBL-Kp infection was greater in the case group, as expected.

Infections by ESBL-producing *K. pneumoniae* are becoming more prevalent, and the treatment options, more limited because of the resistance to beta-lactam drugs, as well as to aminoglycosides and quinolones^{1,6}. This study found a similar resistance or susceptibility profile: infections by ESBL-Kp had a 98.5% susceptibility to imipenem, 83% to amikacin, 58.5% to meropenem, 38.5% to ertapenem, 17% to ciprofloxacin and sulfamethoxazole trimethoprim, 10% to ofloxacin and 1.5% to gentamicin.

Patients with sepsis were divided in two categories in this study: urinary and nonurinary sepsis. Special attention was paid to this separation to avoid a bias found in another study¹³, which found that inadequate initial empiric therapy was identified as an independent risk factor for mortality in nonurinary infections.

In the case group, both total mortality and mortality due to ESBL-Kp infection were greater among patients with a urinary sepsis, nonurinary sepsis and pneumonia, but the difference was not statistically significant. The lowest mortality rate was found among cases that had urinary infection.

Delays in adequate therapy were a risk factor for mortality associated with bacteremia by ESBL-producing enterobacteria in a study conducted in North Carolina¹⁴. In our study, mortality due to ESBL-Kp infection was greater among patients for whom empirical therapy was inadequate, that is, the organisms was not susceptible to the antibiotic prescribed according to the antibiogram. However, this difference was not statistically significant (Table 6). Specific mortality due to ESBL-Kp was lower among patients that received adequate empirical therapy than among those for whom therapy was inadequate (19% and 29.6%).

Mortality among patients with ESBL-Kp infection was not higher than among other critically-ill patients (Table 4, Figure 1), although only one therapeutic class of drugs

(carbapenems) was available. Similarly, patients with urinary infection due to ESBL-Kp and adequate empirical therapy had lower mortality rates (Table 5 and 6), but this difference was not statistically significant.

REFERENCES

1. Guideline Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of Multidrug-resistant organisms in healthcare settings. CDC 2006.
2. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunct Therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:1099-1106.
3. Qavi A, Maurer SS, Mariano N, Urban C et al. Increased Mortality Associated with a Clonal Outbreak of Ceftazidime-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. A Case-Control Study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:63-68.
4. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Eldelstein PH, Fishmann NO. Extended-Spectrum β -Lactamase-producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis*. 2001;32:1162-1171.
5. Cosgrove SE. The Relationship between Antimicrobial Resistance and Patient Outcomes: Mortality, Length of Hospital Stay, and Health Care Costs. *Clin Infect Dis* 2006;42:S82-9.
6. Arifin H, Navaratnam P, Kee TK, Balan G. Antibiotic Resistance Patterns in Nosocomial Gram-negative Bacterial Infections in units with Heavy Antibiotic Usage. *J Trop Pediatr*. 2004;50(1):26.
7. Decré D, Garchit B, Lucet JC, Arlet G, Bergone-Beresin E, Regnner B. Clinical and Bacteriologic Epidemiologic of Extended-Spectrum β -Lactamase-producing Strains of

- Klebsiella pneumoniae* in a Medical Intensive Care Unit. Clin Infect Dis. 1998;27:834-844.
8. Gupta A, Della-Lata P, Todd B et al. Outbreak of Extended- Spectrum β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Intensive Care Unit Linked to Artificial Nails. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25:210-215.
 9. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S, Casellas JM et al. Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: implications of production of Extended-Spectrum β -Lactamases. Clin Infect Dis. 2003;39:31-7.
 10. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S; Casellas JM et al. Antibiotic International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: implications of Extended-Spectrum β -Lactamases production in nosocomial infections. Ann Intern Med. 2004;140:26-32.
 11. Behar PRP. Fatores de risco para aquisição de *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -Lactamase de espectro estendido em hospitais de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado. Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Goes. UFRJ 2002.
 12. Kang CI, Kim SH, Kim DM, Park WB, Lee KD, Kim HB et al. Risk factors for and Clinical of Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum beta-lactamases Producing *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25:860-867.
 13. Hyle HP, Lipworth AD, Zaoutis TE. et al. Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase- producing *Enterobacteriaceae*: variability by site of infection. Ann Intern Med. 2005;165:1375-1380.
 14. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmely Y. Clinical and Economic Impact of bacteremia with Extended-Spectrum- β -Lactamase- producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(4):1257-1262.
 15. Zaoutis ET, Goyal M, Chu JM, Coffin SE et al. Risk Factors for and Outcomes of Bloodstream Infection caused by Extended- Spectrum β -Lactamases Producing *Escherichia*

coli and *Klebsiella Species* in Children. *Pediatrics*. 2005;115(4):942-949.

16. Methee C, Junsriwong P, Keerasuntonpong A, Tribuddharat C, Thamlikitkul V. Epidemiology of Extended-Spectrum beta-lactamase producing gram negative bacilli at Siriraj Hospital, Thailand, 2003. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005;36(6):1503:1509.

17. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-Spectrum β -Lactamases and Clinical Outcomes Current Data. *Clin Infect Dis*. 2006;42(4):164-72.

18. Knaus WA, Draper E A, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818-29.

19. Gooder VJ, Farr BR, Young MP. Accuracy and efficiency of an automated system for calculating APACHE II scores in an intensive care unit. *Proc AMIA Annu Fall Symp*. 1997:131-5.

20. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/ NHSN Surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008;36:309-32.

21. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Performance Standards of Antimicrobial Suscetibility Testing: 15th informational supplement. (M100-S15) 2005.

Table 1 – Demographic and clinical characteristics of patients with ESBL-Kp infection and control patients

	Cases n=70	Controls (n=140)	p
Sex, male	34 (48.6)	75 (53.6)	0.29
Age	57.01±15.79	56.16±19.27	0.016
APACHE II	23.03±20.47	22.67±18.09	0.53
Surgery	27 (38.6)	61 (43.6)	0.29
Albumin	2.40±0.72	2.37±0.64	0.34
UC	70 (100)	138 (98.6)	0.44
MV	69 (98.6)	136 (97.1)	0.45
ETT	68 (97.1)	136 (97.1)	0.68
Tracheotomy	39 (55.7)	52 (37.1)	0.008
Intra-arterial catheter	23 (32.9)	30 (21.4)	0.053
Swan-Ganz	11 (15.7)	11 (7.9)	0.068
CVL	70 (100)	139 (99.3)	0.66
Other disease	55 (78.6)	117 (83.6)	0.24
DM	25 (35.7)	48 (34.3)	0.47
Connective tissue disease	2 (2.9)	1 (0.7)	0.25
CHI	13 (18.6)	24 (17.1)	0.46
Chemotherapy	1 (1.4)	6 (4.3)	0.26
COPD	17 (24.3)	43 (30.7)	0.21
BS	13 (18.6)	19 (13.6)	0.22
Immunosuppression	2 (2.9)	4 (2.9)	0.65
Neoplasia	9 (12.9)	19 (13.6)	0.53
HIV	7 (10)	16 (11.4)	0.48

Table 1 – Demographic and clinical characteristics of patients with ESBL-Kp infection and control patients (continued)

	Cases n=70	Controls (n=140)	p
CLD	3 (4.3)	13 (9.3)	0.15
AMI or ACS	11 (15.7)	11 (7.9)	0.06
CKF	4 (5.7)	15 (10.7)	0.17
Corticoid drug	8 (11.4)	25 (17.9)	0.18
Other	12 (17.1)	36 (25.7)	0.11

Data described as number (percentage), mean \pm SD. ESBL-Kp – extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. UC – urinary catheter. MV – mechanical ventilation. ETT – endotracheal tube. CVL – central venous line. DM- Diabetes mellitus. CHF – congestive heart failure. COPD – chronic obstructive pulmonary disease. BS – brain stroke CLD – chronic liver disease AMI – acute myocardial infarction ACS – acute coronary syndrome CKF- chronic kidney failure .

Table 2 – Infection classification of patients with ESBL-Kp infection and control patients

Infection site	Cases n=70	Controls (n=114)
	n (%)	n (%)
Pneumonia	15 (21.4)	52 (45.6)
Nonurinary sepsis	15 (21.4)	39 (34.2)
Urinary sepsis	14 (20)	5 (4.4)
UTI	14 (20)	3 (2.6)
CVS	5 (7.1)	2 (1.8)
Deep SW	3 (4.3)	0 (0)
LRI	2 (2.9)	4 (3.5)
SW – organ, site	2 (2.9)	1 (0.9)
GI-IAB	0 (0)	4 (3.5)
Other	0 (0)	4 (3.5)

ESBL-Kp – extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* UTI – urinary tract infection. CVS= cardiovascular. SW – surgical wound. LRI - tracheobronchitis. GI-IAB= intra-abdominal.

Table 3 – Outcomes of patients with ESBL-Kp infection and control patients at 30 days for each group

	Cases n=70	Controls (n=140)
	n (%)	n (%)
Deaths due to ESBL-Kp infection	17 (24.3)	-
Death due to infection by other organisms	11(15.7)	45(32.1)
Death due to other disease	2(2.9)	23(16.4)
Cure	40(57.1)	66(47.1)
Improvement	0	6(4.3)

ESBL-Kp- ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*

Table 4 – Comparison between groups with ESBL-Kp infection (cases) and controls for the occurrence of death due to different causes

Cause of death	Descriptive analysis		Univariate analysis			Cox regression		
	Cases n = 70	Controls n = 140	HR	95%CI	p	HR	95%CI	p
All [1+2+3]	30 (42.9)	68 (48.6)	0.80	0.52 to 1.23	0.30	0.86	0.54 to 1.35	0.50
Infections [1+2]	28 (40.0)	45 (32.1)	1.12	0.70 to 1.79	0.65	1.19	0.72 to 1.98	0.50
Other infections [2]	11 (15.7)	45 (32.1)	0.44	0.23 to 0.85	0.02	0.48	0.24 to 0.96	0.04
Noninfectious causes [3]	2 (2.9)	23 (16.4)	0.16	0.04 to 0.68	0.01	0.17	0.04 to 0.72	0.02
Other than ESBL-Kp [2+3]	13 (18.6)	68 (48.6)	0.35	0.19 to 0.63	<0.001	0.38	0.21 to 0.70	<0.001

ESBL-Kp: Extended spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Cause of death: [1] specific due to ESBL-Kp infection, [2] another germ, [3] other noninfectious cause; HR: Hazard Ratio; 95%CI: 95% confidence interval; P: statistic significance. The factors included in Cox regression were: Age, APACHE II score, tracheotomy, Swan-Ganz catheter, intra-arterial catheter, chronic liver disease, acute myocardial infarction or coronary disease, chronic kidney failure, use of corticosteroid drugs, and other diseases.

Table 5 – Total and ESBL-Kp mortality rates in the case group according to infection site.

Infection site	Mortality		Mortality	
	Total %(n)	p	due to ESBL-Kp infection %(n)	p
Nonurinary sepsis	60 (9)		33.3(5)	
Urinary sepsis	50(7)		28.6(4)	
Other*	41.7 (5)	0.31	16.7(2)	0.73
Pneumonia	40(6)		26.4(4)	
UTI	21.4(3)		14.3(2)	

* Other: cardiovascular infection, bronchitis, intra-abdominal and surgical wound. UTI – urinary tract infection. ESBL-Kp – extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. The chi-square test was used to compare mortality rates between cases according to infection site.

Table 6 – Total and ESBL-Kp mortality rates in case group according to empirical therapy adequacy.

Empirical therapy	Mortality due to ESBL-Kp infection %(n)	p
Adequate	19 (4)	
Not adequate	29.6 (8)	0.68
Not tested	22.7 (5)	

ESBL-Kp – extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. The chi-square test was used to compare mortality rates between cases according to adequacy of empirical therapy.

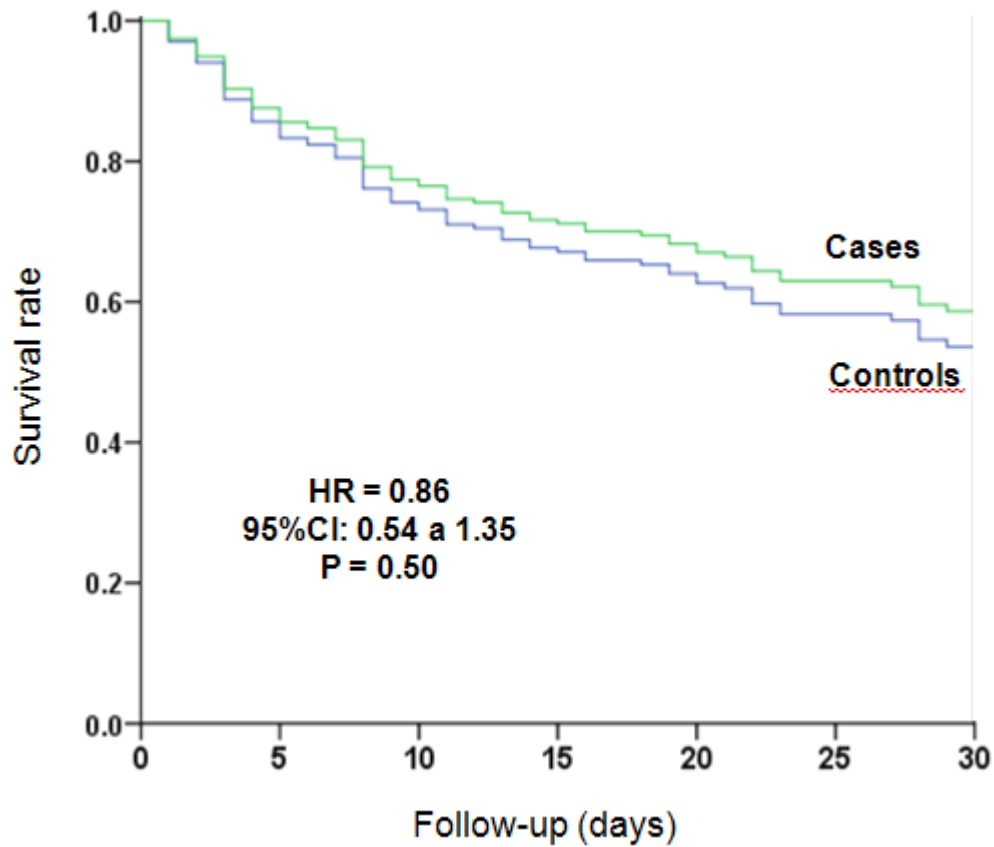


Figure 1 – Adjusted survival curves calculated using Cox regression for the comparison of mortality due to all causes between the groups of patients with ESBL-Kp infection (cases) and the control group.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A alta incidência de infecções por KpESBL é uma realidade mundial, principalmente em UTIs, e há divergência na literatura quanto a maior mortalidade deste germe em relação aos demais ou à outras patologias. Os estudos encontrados na literatura além de analisarem secundariamente a mortalidade, avaliaram mais de um germe, ou seja, não somente a KpESBL.

O presente estudo teve um delineamento específico para avaliar mortalidade por infecções por KpESBL - estudo de coorte histórico exposto- controlado. O mesmo não demonstrou maior mortalidade entre os pacientes com infecção por KpESBL e o grupo controle, a taxa de mortalidade nos casos foi de 42,9% e nos controles 48,6%, porém não houve diferença estatística, tanto na análise univariada (RR=0,8, IC= 95%, 0,52-1,23), como na regressão de Cox com fatores ajustados (RR= 0,86, IC95%= 0,54-1,35).

Estudos deste tipo são importantes para maior entendimento da mortalidade de germes multirresistentes e também porque há uma tendência em associar germes com pouca opção terapêutica com maior mortalidade.