

Investigação da resistência aos betalactâmicos e da produção de betalactamase de espectro estendido (ESBL) em isolados de *Escherichia coli* uropatogênicas ciprofloxacina-resistente

Ciprofloxacin-resistant uropathogenic Escherichia coli: study of beta-lactam susceptibility profile and ESBL-mediated resistance

Debora Vargas Farias¹, Adrielle Pieve de Castro¹, William Gustavo Lima², Magna Cristina de Paiva^{1*}

1. Laboratório de Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica. Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

2. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

***Autor correspondente:** Magna Cristina de Paiva. <https://orcid.org/0000-0001-9375-7261>. Av. Sebastião Gonçalves Coelho, 400 – Chanadour, Divinópolis, MG – CEP 35.501-296. E-mail: magnacpaiva@ufsj.edu.br

Data de Submissão: 01/10/2021; Data do Aceite: 14/03/2022.

Citar: Farias, DV; Castro, AP; Lima W G; Paiva M C. Investigação da resistência aos betalactâmicos e da produção de betalactamase de espectro estendido (ESBL) em isolados de *Escherichia coli* uropatogênicas ciprofloxacina-resistente. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v.4, n.1, p. 13-26, 2022. DOI: <https://doi.org/10.29327/226760.4.1-2>

RESUMO

As infecções do trato urinário (ITU's) são frequentes na população e causadas, principalmente, por espécies da ordem Enterobacteriales, como *Escherichia coli*. As quinolonas são amplamente utilizadas no tratamento empírico, porém tem sido marcante o relato de falência terapêutica devido a resistência bacteriana à esta classe de antimicrobianos, sendo instituídas outras classes para o tratamento dessas ITUs, como os betalactâmicos. Consequentemente, a resistência à essa classe tem aumentado, sendo a inativação por enzimas betalactamases a principal causa, com grande destaque para as Enzimas Betalactamases de Espectro Estendido (ESBL) e as carbapenemases. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil de suscetibilidade de *E. coli* uropatogênicas ciprofloxacina-resistentes aos principais betalactâmicos utilizados na clínica, bem como investigar a presença de enzimas ESBL entre esses isolados. O perfil de suscetibilidade aos betalactâmicos pela técnica de difusão em ágar e a investigação fenotípica pelo método de disco aproximação da produção de ESBL foram realizados de acordo com o *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019) em um total de 52 isolados. 32,7% (17/52) dos isolados de *E. coli* foram sensíveis e 30,8% (16/52) intermediários aos betalactâmicos testados. Ainda, 11,5% (6/52) apresentaram resistência aos carbapenêmicos e foi detectada a produção de ESBL em 22 isolados (42,3%). Esses achados revelam a importância da investigação do contexto da suscetibilidade de *E. coli* resistentes a ciprofloxacina e alertam para a necessidade da revisão constante de protocolos de tratamento de ITUs e monitoramento da disseminação da resistência bacteriana a esses agentes de relevância clínica.

Palavras-chave: Infecção do trato urinário; *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC); Betalactamases de Espectro Estendido; β -lactâmicos; Resistência bacteriana.

ABSTRACT

Urinary tract infections (UTIs) are frequent in the population and are mainly caused by species of the Enterobacterial order, such as *Escherichia coli*. Quinolones are widely used in empirical treatment, but the report of therapeutic failure due to bacterial resistance to this class of antimicrobials has been striking, with other classes being instituted for the treatment of these UTIs, such as beta-lactams. Consequently, resistance to this class has increased, with inactivation by betalactamase enzymes being the main cause, with great emphasis on the Extended Spectrum Betalactamase Enzymes (ESBL) and carbapenemases. Thus, this study aimed to evaluate the susceptibility profile of ciprofloxacin-resistant uropathogenic *E.coli* to the main beta-lactams used in the clinic, as well as to investigate the presence of ESBL enzymes among these isolates. The β -lactam susceptibility profile by the agar diffusion technique and the phenotypic investigation by the disk approximation method of ESBL production were performed according to the *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019) in 52 isolates of ciprofloxacin-resistant *E.coli*. 32.7% (17/52) of the isolates were sensitive and 30.8% (16/52) intermediate to the beta-lactams tested. Furthermore, 11.5% (6/52) were resistant to carbapenems and ESBL production was detected in 22 isolates (42.3%). These findings reveal the importance of investigating the context of the susceptibility of ciprofloxacin-resistant *E. coli* and highlight the need for constant review of UTI treatment protocols and monitoring of the spread of bacterial resistance to these clinically relevant compounds.

Keywords: Urinary tract infection; Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC); Extended Spectrum Betalactamase Enzymes (ESBL); Beta-lactams; Antimicrobial resistance.

INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário (ITU) são reconhecidas como as infecções bacterianas mais incidentes em todo o mundo. Estima-se que 150 milhões de pessoas são afetadas pelas ITUs anualmente, sendo que 40% das mulheres desenvolvem ao menos um episódio durante a vida e 11% delas tem pelo menos um caso ao ano (KAKIAN et al., 2019).

As ITUs são causadas mais frequentemente por bactérias Gram-negativas, sendo as principais espécies pertencentes à ordem Enterobacterales, como *Escherichia coli*, *Proteus spp.* e *Klebsiella pneumoniae* (LOPES, TAVARES, 2005). *E. coli* é responsável pela maior proporção de ITUs, seja em ambiente hospitalar ou na comunidade. O nicho de *E. coli* pode ser o meio ambiente, mas ela também faz parte da microbiota intestinal do homem e de outros animais. No entanto, existem patótipos desta espécie que adquiriram atributos específicos de

virulência, os quais conferem uma aumentada habilidade de adaptação a novos nichos, causando uma grande variedade de doenças, incluindo infecções do trato urinário, feridas, pneumonia em pacientes imunossuprimidos e meningite em neonatos (KAPER et al., 2004).

O patótipo de *E. coli* que causa ITU é denominado *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC), sendo distinto da *E. coli* comensal, com fenótipos epidemiologicamente associados envolvendo expressão de adesinas (fímbria tipo I, fímbria P, fímbria S), produção de toxinas (hemolisina, fator de necrose tumoral), sideróforos (aerobactina e enterobactina) e cápsula (KAPER et al., 2004).

Para o tratamento de ITU são utilizadas diversas classes de antimicrobianos, como por exemplo: aminoglicosídeos, betalactâmicos, sulfametoxazol-trimetropina, quinolonas, fosfomicina e nitrofurantoína (COSTA

et al., 2010). Dentre estas, as quinolonas constituem importantes fármacos contra estas infecções, possivelmente devido às altas concentrações renais alcançadas e amplo espectro de ação, justificando o emprego destas para tratamento de indivíduos com ITU, com grande destaque para a ciprofloxacina (PACHECO et al., 2009).

Por ser a mais recomendada para o tratamento de ITUs e, portanto, mais exposta às bactérias, tem sido relatado um aumento da resistência bacteriana a ciprofloxacina, que pode ser ocasionada por diversos mecanismos, entre eles, mutações de genes cromossômicos que codificam as DNA girase e topoisomerase IV; mutações em genes regulatórios da expressão de bombas de efluxo e da expressão de porinas da membrana externa (RUIZ, 2003).

Em infecções causadas por linhagens de UPECs resistentes as quinolonas, os antimicrobianos betalactâmicos figuram como uma opção terapêutica nesses casos. Desde a penicilina, vários outros betalactâmicos foram desenvolvidos e utilizados na clínica, incluindo cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos. Estes antimicrobianos atuam como agentes bactericidas, interrompendo a formação da parede celular bacteriana e tem sido observado o uso crescente nas práticas médicas humanas, veterinárias e agrárias (BUSH; BRADFORD, 2016).

O uso indiscriminado dos betalactâmicos favoreceu o desenvolvimento da resistência bacteriana a esses fármacos e os mecanismos de resistência envolvem modificações estruturais das proteínas ligadoras de penicilina (PLP), alterações nos canais de porina específicos responsáveis pela difusão do fármaco e produção de enzimas betalactamases, codificadas pelo gene *bla*, capazes de hidrolisar o anel betalactâmico resultando na inativação do antimicrobiano e causando falha terapêutica (TSE et al., 2018).

Dentre as betalactamases, são destacadas as Enzimas Betalactamases de Espectro Estendido (ESBL; do inglês, *Extended-spectrum beta-lactamase*). O esquema de classificação das ESBLs baseia-se na preferência de substrato da enzima e na inativação na presença de inibidores específicos, sendo divididos em dois grupos: o grupo 2be, que incluem enzimas do tipo TEM, SHV e CTX-M, e grupo 2d, que agrupam enzimas ESBL do tipo OXA. Além disso, as betalactamases são classificadas em quatro grupos A, B, C e D segundo Ambler, considerando a similaridade entre as cadeias de aminoácidos das enzimas (BUSH; JACOBY, 2009).

Outro grupo de enzimas de grande relevância é o das carbapenemases, ativas contra os agentes betalactâmicos carbapenêmicos. As carbapenemases mais comuns pertencem as classes A (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, KPC; *Guiana extended spectrum*, GES); B (*New Delhi metallo-beta-lactamase*, NDM; *Verona imipenemase*, VIM; *Imipenemase*, IPM) e D (Oxacilinas, OXA 48, OXA 181) de Ambler e transferidas por elementos genéticos móveis (LOGAN, WEISNTEN, 2017). Essas classes são subdivididas em dois grandes grupos: as serino β -lactamases (classes A, C e D), onde as enzimas classe A, hidrolisam preferencialmente benzilpenicilina, com fraca hidrólise de cefalosporinas, carbapenêmicos ou monobactâmicos e o grupo das metalo- β -lactamases (classe B), que apresentam maior capacidade de hidrolisar carbapenêmicos e necessita de íons de zinco em seu sítio ativo para facilitar a hidrólise (BUSH; JACOBY, 2009).

Os genes que codificam para betalactamases são amplamente distribuídos e podem disseminar facilmente já que muitos deles se encontram em elementos genéticos móveis, como plasmídios, transposons e integrons. Além disso, tem sido relatado que estes elementos genéticos carregam genes de

resistência a outras classes de antimicrobianos, o que pode favorecer o surgimento de bactérias com fenótipo de multirresistência, comprometendo o sucesso terapêutico (SILVA; LINCOPAN, 2012).

Considerando a diversidade de mecanismos de resistência bacteriana e a grande disseminação dos genes codificadores de betalactamase, é de suma importância investigar o perfil de suscetibilidade aos betalactâmicos em espécies bacterianas clinicamente importantes como *E. coli*. Desta forma, o objetivo deste estudo é aumentar o conhecimento do contexto da resistência aos principais betalactâmicos bem como da circulação das enzimas ESBL entre isolados clínicos de *E. coli* uropatogênica resistentes a ciprofloxacina. Para o melhor do nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que busca caracterizar o perfil de resistência a agentes betalactâmicos e produção de ESBL na população de UPECs resistentes a ciprofloxacina no país. Os dados desta pesquisa poderão auxiliar na elaboração de protocolos de tratamento das ITUs e também das medidas de contenção da disseminação da resistência bacteriana a esses fármacos.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados bacterianos

Um total de 52 isolados de *E. coli* resistentes a ciprofloxacina recuperadas de urina de pacientes com ITU foram utilizadas neste estudo. Os isolados clínicos foram gentilmente cedidos pelos setores de Microbiologia dos Laboratórios LabVida (Hospital São João de Deus e São Judas), Prontolab (Hospital Santa Lucia) e BIOIMAGEM (Hospital Santa Mônica) – Divinópolis-MG. As amostras bacterianas foram cedidas sem qualquer informação sobre o paciente, tais como idade, sexo ou origem, apenas obedeceram aos critérios de seleção (*E. coli* resistente a ciprofloxacina), de acordo com as instruções dos respectivos comitês

de ética em pesquisa para isenção da aprovação do protocolo de pesquisa.

Para a identificação da espécie e determinação da resistência a ciprofloxacina foi utilizado o sistema automatizado VITEK 2®, versão 04.02 (bioMérieux, França), de acordo com as instruções do fabricante. Enterobacterales cuja concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela técnica de microdiluição em caldo para ciprofloxacina é $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ é classificado como resistente a este fármaco pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI), Manual M100 S29, 2019.

As amostras foram armazenadas em caldo BHI (*Brain Heart infusion*, Difco) com glicerol 15% v/v e estocadas em freezer -80°C no Laboratório de Microscopia, Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica do Campus Centro-Oeste Dona Lindu da Universidade Federal de São João del-Rei.

Para a realização dos experimentos, as amostras foram reativadas em 3,5 mL de caldo BHI duplo concentrado e incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida, foram inoculadas em ágar Nutriente (Isofar, Brasil) para verificação da pureza e viabilidade, sendo assim conduzidas para a realização dos experimentos.

Determinação do perfil de suscetibilidade aos agentes betalactâmicos

O perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos imipenem (IPM), meropenem (MEM), ertapenem (ERT), ceftazidima (CAZ), ceftaxima (CTX) e amoxicilina/ácido clavulânico (AMC), foi determinado pela técnica de difusão de disco em ágar padronizada e interpretada segundo o Manual M100 S29, CLSI (2019), considerando os pontos de corte (*breakpoints*) estabelecidos

pelo mesmo. *Escherichia coli* American Type Culture Collection (ATCC) 25922 foi utilizada como controle dos experimentos.

Determinação fenotípica da produção de Enzima Betalactamase de Espectro Estendido (ESBL)

Os isolados de *E. coli* resistentes a ciprofloxacina foram submetidos ao teste fenotípico de dupla difusão de discos para determinação da produção de ESBL, utilizando os substratos antimicrobianos ceftazidima, aztreonam, ceftriaxona e cefotaxima e o inibidor de betalactamase ácido clavulânico, de acordo com o protocolo do CLSI (2019). Resumidamente, os substratos foram posicionados a uma distância de 20mm de um disco de amoxicilina/ácido clavulânico em uma placa de ágar Mueller Hinton previamente inoculada com a

suspensão bacteriana teste. A concentração celular do inóculo e os critérios de preparo seguiram as orientações do CLSI (2019). Após incubação a 37°C por 24 horas, a visualização de uma distorção de halo próximo a, pelo menos um, disco de substrato, configura resultado fenotípico de produtor de ESBL. *E. coli* AMP34 (ALVES-COELHO et al., 2021) foi utilizada como controle positivo dos experimentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, isolados de *E. coli* resistentes a ciprofloxacina (n=52) foram investigados quanto ao perfil de suscetibilidade aos fármacos betalactâmicos e a possível produção de mecanismo de resistência enzimática (ESBL) contra a ação destes agentes, cujos resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Perfil de suscetibilidade dos isolados de *Escherichia coli* ciprofloxacina-resistente aos agentes betalactâmicos.

Código	Antimicrobianos betalactâmicos									Produção de ESBL
	MEM	IMP	ERT	AMC	ATM	CRO	CAZ	CTX	CFO	
EC 01	S	R	I	R	R	R	R	R	R	+
EC 02	R	R	I	R	R	R	R	R	R	+
EC 03	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 04	R	I	R	R	R	R	R	R	R	+
EC 05	S	S	S	S	S	S	S	S	R	-
EC 06	S	S	S	S	S	S	S	S	R	-
EC 07	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 08	S	S	S	S	S	S	S	S	I	-
EC 09	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 10	R	I	I	R	R	R	R	R	R	+
EC 11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 12	S	S	S	S	S	S	I	S	S	-
EC 13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 15	S	S	S	S	S	R	S	S	S	-
EC 16	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 17	S	S	I	R	R	R	R	R	R	+
EC 18	S	S	S	S	S	R	S	R	S	-

Código	Antimicrobianos betalactâmicos									Produção de ESBL
	MEM	IMP	ERT	AMC	ATM	CRO	CAZ	CTX	CFO	
EC 19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 20	I*	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 21	S	S	S	S	S	S	S	I	S	-
EC 22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 23	I	I	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 24	S	S	S	S	S	S	I	S	S	-
EC 25	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 26	I	I	I	R	R	R	R	R	R	+
EC 27	S	S	S	S	S	S	S	I	S	-
EC 28	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 29	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 30	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 31	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 32	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 33	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 34	S	S	S	S	S	S	I	S	S	-
EC 35	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 36	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 37	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 38	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 39	S	S	S	S	S	S	S	R	S	-
EC 40	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 41	I	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 42	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 43	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 44	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 45	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 46	I	I	I	R	R	R	R	R	R	+
EC 47	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 48	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
EC 49	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 50	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+
EC 51	S	S	S	S	S	S	I	S	S	-
EC 52	S	S	S	R	R	R	R	R	R	+

Escherichia coli (EC); (Meropenem (MEM); Imipenem (IMP); Ertapenem (ERT); Amoxicilina/ácido clavulânico (AMC); Aztreonam (ATM); Ceftriaxona (CRO); Ceftazidima (CAZ); Cefotaxima (CTX); Cefoxitina (CFO); Sensível (S); Intermediário (I); Resistente (R) segundo o CLSI (2019); (+) Positivo, (-) Negativo.

Dentre os isolados de *E. coli* ciprofloxacina-resistentes estudados, 32,7% (17/52) foram sensíveis a todos os betalactâmicos testados. Possivelmente, a baixa suscetibilidade aqui observada pode estar relacionada ao amplo uso destes antimicrobianos no meio clínico para o tratamento de ITU (VERONIKA et al., 2010). SUÁREZ-TRUEBA et al. (2014) também relataram uma taxa de suscetibilidade menor que 50% entre cepas de *E. coli* isoladas de culturas de urina do Hospital Clínico Cirúrgico “Hermanos Ameijeiras” La Habana – Cuba. No Brasil, em um estudo conduzido em isolados de *E. coli* provenientes de uroculturas de pacientes gestantes atendidas em um hospital do Pará, também foi observada taxa de suscetibilidade aos betalactâmicos próxima da que foi aqui obtida (OLIVEIRA et al., 2016).

Em contraste aos nossos achados, TARLTON et al. (2019) mostraram uma taxa de sensibilidade de 69% dos isolados de UPEC aos betalactâmicos em um Serviço de Saúde da Universidade da Califórnia – Berkeley, enquanto em Santa Catarina – Brasil, VENTURIERI et al. (2019) encontraram suscetibilidade frente aos agentes betalactâmicos de 90% dos isolados de *E. coli*. Deve ser notado que as variações do perfil de suscetibilidade aos betalactâmicos em UPECs resistentes a ciprofloxacina podem ser atribuídas a diferenças de exposições dos pacientes a esses antimicrobianos, independentemente de serem da comunidade ou internado em uma unidade hospitalar (SILVA et al., 2017). Infecção do trato urinário é uma das patologias mais comuns, sendo contabilizados 150 milhões de casos anualmente, e apesar disso o acesso a exames microbiológicos para o diagnóstico e direcionamento da terapêutica ainda é muito limitado (PRICE et al., 2016). Assim, protocolos de tratamento regionalizados com base em estudos de suscetibilidade locais são empregados e dessa forma, antimicrobianos tais como aminoglicosídeos e sulfametoxazol-trimetoprima podem ser preferencialmente indicados (PRICE et al., 2016; SILVA et al., 2017).

Neste estudo, pôde ser observado que a resistência aos betalactâmicos estudados entre os isolados de *E. coli* ciprofloxacina-resistente ocorre em função da produção de ESBL em 42,3% dos isolados (22/52).

São descritos na literatura a produção de ESBL entre UPECs resistentes a fluoroquinolonas. A resistência a quinolonas envolve mutações cromossômicas nas regiões determinantes da resistência à quinolona (QRDR, do inglês, *quinolone resistance-determining regions*) que abrigam os genes que codificam a DNA-girase (*gyrA* e *gyrB*) e topoisomerase IV (*parC* e *parE*) ou transferência horizontal de genes da família *qnr*, *aac* (6') *Ib-cr*, *qepA* ou *oqxAB*, ou ainda, outros mecanismos como o aumento da atividade das bombas de efluxo, modificação do alvo ou inativação do antimicrobiano (HOOPER, JACOBY, 2016; RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2016). Os genes que conferem resistência a quinolonas podem ser disseminados interespecie bacterianas via aquisição de plasmídios, que frequentemente carregam os genes que codificam ESBL, tais como *bla*_{CTX-M-15'}, *bla*_{CTX-M-14} e *bla*_{TEM-116}. Assim, tem sido relatado o aumento de bactérias, incluindo UPECs, resistentes simultaneamente a quinolonas e betalactâmicos, impondo desafios à terapêutica das ITUs (ARZAGUN et al., 2018).

Deve ser ressaltado que a produção de ESBL é um importante mecanismo de defesa das Enterobacterales, uma vez que ela é capaz de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de todas as gerações e monobactâmicos, diminuindo assim as opções terapêuticas. A prevalência de *E. coli* produtoras de ESBL tem aumentado nos últimos anos (32% em 2016 para 42% em 2017) e estudos relatam que as prevalências desses microrganismos variaram em diferentes regiões do mundo (BUSH; BRADFORD, 2016; FERNANDO et al., 2017; GONÇALVES et al., 2016).

No Brasil, as taxas de UPEC ESBL-positivas relatadas variam de 6,45% em infecções comunitárias no Rio Grande do Sul (MARTINS, PICOLI, 2011), a 65,38% no ambiente hospitalar no Amazonas (DINIZ, SANTOS, 2019). Assim, UPECs com este fenótipo estão distribuídas entre esses diferentes ambientes e a maior detecção em isolados hospitalares pode refletir a maior exposição bacteriana aos antimicrobianos destas classes bem como a maior triagem realizada nos casos mais graves (hospitalares) em detrimento dos mais leves (comunitários) (MALEKZADEGAN et al., 2018). Curiosamente, em um estudo realizado no Rio de Janeiro por DIAS et al. (2009), não foram observadas a produção de ESBL por isolados de *E. coli* uropatogênicas recuperadas de mulheres atendidas em uma clínica pública, o que pode estar relacionado com o desenho do estudo uma vez que os autores incluíram pacientes com ITU adquirida na comunidade e nosso estudo incluiu também pacientes com ITU hospitalar. No entanto, diante da alta taxa (32,7%) encontrada no presente estudo, mais pesquisas devem ser conduzidas a fim de monitorar esse perfil de resistência das UPECs no Brasil.

Em outros países, maiores taxas de UPEC ESBL-positivas já foram relatadas entre pacientes com ITU adquirido no ambiente hospitalar, tais como na China (55,5%) (QUAN et al., 2017), Nepal (62,13%) (YADAV, PRAKASH, 2017) e Índia (61,4%) (BASU, MUKHERJEE, 2018). Possivelmente as diferenças entre as taxas de *E. coli* ESBL-positivas se devem ao uso inadequado e excessivo de antimicrobianos nas diferentes áreas geográficas, para além do ambiente clínico (SEDIGHI ET AL., 2015; HASHEMIZADEH ET AL., 2019).

Interessantemente, neste estudo foram identificados isolados ESBL-negativos (58%, 30/52) resistentes a CRO (2, 3,8%), com suscetibilidade diminuída (intermediário) a CAZ (4, 7,7%), resistentes ou com

suscetibilidade diminuída (intermediário) a CFO (3, 5,7%) e CTX (4, 7,7%). Alguns estudos relatam a resistência à cefalosporinas entre isolados de *E. coli* ESBL-negativos. Na Inglaterra, a taxa de resistência a CTX observada em UPECs ESBL-negativas foi de 13,8% e de 21,3% para CAZ (ABERNETHY et al., 2017). BASU, MUKHERJEE (2018) apontam resistência de 9,03% para os antimicrobianos ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO) e cefotaxima (CTX) em isolados ESBL-negativos recuperados de pacientes hospitalizados em Kolkata – Índia.

No Brasil as taxas de resistência foram de 9,23% concomitantemente para CAZ, CRO e CTX, em isolados de *E. coli* provenientes de pacientes adultos hospitalizados em UTIs no ano de 2015 (BRASIL, ANVISA, 2015). Além disso, FREITAS et al. (2016) encontraram uma taxa de resistência de 3,1%, 13,3% e 27,3%, respectivamente para os antimicrobianos CAZ, CRO e CTX, em isolados UPECs procedentes de ambulatórios e enfermarias em Bauru – SP. De uma maneira geral, parece que resistência as cefalosporinas mediada por mecanismos outros que ESBL ainda é baixa, o que é corroborado por Shahbazi et al. (2018) que não observaram resistência a CAZ, CRO e CTX em isolados ESBL-negativos de UPECs de origem hospitalar em Teerã – Irã.

O surgimento de isolados UPECs com fenótipo de resistência a múltiplos antimicrobianos, incluindo betalactâmicos, é considerado um sério problema, devido à limitação das alternativas para o tratamento de ITU. Neste estudo, um único isolado ESBL-negativo (EC 18) apresentou resistência a CRO e CTX simultaneamente. Possivelmente isso é atribuído à presença de outros mecanismos relacionados à resistência a cefalosporinas que incluem produção de outros tipos de betalactamases, redução da afinidade das proteínas ligadoras de penicilina (PLP), impermeabilidade de membrana celular bacteriana e aumento do efluxo do antimicrobiano (JACOBY, 2009).

Resistência ou suscetibilidade diminuída a CFO foi observada em dos isolados de UPEC resistentes a ciprofloxacina e ESBL-negativos correspondentes a 5,7% (3/52) dos isolados desta coleção. Na Coreia do Sul e no Irã, taxas de resistência a CFO descritas em UPECs foram, respectivamente, de 5,1% (LEE et al., 2015) e 15,5% (HAGHIGHATPANAH, MOJTAHEDI, 2019). No Brasil, taxas diversas de resistência a cefoxitina são relatadas, sendo de 11% no Hospital e Maternidade de São Paulo (ARAÚJO et al., 2012), 6,2% em um pronto atendimento no município de Rio Grande – RS (ARAÚJO et al., 2017) e 9,0% em amostras de ITU adquiridas na comunidade do Rio de Janeiro (DA SILVA et al., 2017).

Especificamente a resistência a CFO está associada à produção bacteriana, incluindo em muitos uropatógenos Gram-negativos, de enzimas betalactamases tipo AmpC as quais hidrolisam a maioria das penicilinas e cefalosporinas. Além disso, enzimas AmpC não são inibidas pelo ácido clavulânico, sulbactam ou tazobactam, fármacos frequentemente associados a betalactâmicos que inibem as ESBL, possibilitando assim o uso de betalactâmicos mesmo quando o isolado é produtor destas enzimas. A maioria das betalactamases AmpC são cromossômicas e podem ser encontradas em *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp* e *Citrobacter spp*, porém, em 2007, foram detectados genes *bla_{AmpC}* mediados por plasmídeo, possibilitando a disseminação interespecies destas enzimas (JACOBY, 2009).

A resistência a cefoxitina tem sido considerada um marcador da presença da produção de AmpC em isolados bacterianos. No entanto, para a confirmação deve ser utilizada metodologia molecular para detecção do gene *blaAmpC*, uma vez que a expressão do gene com a codificação da enzima pode estar ocorrendo em níveis baixos (ou

basal) não refletindo fenotipicamente sua produção (JACOBY, 2009; BAJAJ et al., 2016).

Os carbapenêmicos imipenem (IMP), ertapenem (ERT), e meropenem (MEM) foram incluídos nesse estudo,sendoquecorrespondemosantimicrobianos betalactâmicos para os quais os isolados de *E. coli* apresentaram maior suscetibilidade (86,5%, 86,5% e 82,7%, respectivamente).

De uma maneira geral, a suscetibilidade aos carbapenêmicos entre isolados UPECs resistentes a ciprofloxacina é alta. Na Índia, Bajaj et al. (2016) mostraram que os isolados de UPEC foram altamente susceptíveis ao IMP e MEM, com uma taxa de sensibilidade de 90% para ambos. De forma semelhante, taxas de 100% de sensibilidade foram observadas para IMP e para o ERT, respectivamente em Getafe – Madri, Espanha (GRADOS et al., 2019) e no Departamento de Urologia do Hospital Universitário da Coreia (AHN et al., 2019).

No Brasil, resultados relativamente parecidos foram observados. Em um estudo conduzido na cidade do Rio de Janeiro, DIAS et al., (2009) encontraram taxa de 100% de sensibilidade ao MEM em isolados clínicos de *E. coli* ESBL positivos recuperados de uma instituição pública. Ainda no Rio de Janeiro, outro estudo conduzido em *E. coli* de um hospital de ensino superior, CORREAL et al., (2014) observaram taxas de sensibilidade acima de 91,5% para IMP e MEM. Assim, parece que ao longo dos anos a sensibilidade aos carbapenêmicos em UPECs tem se mantido no Brasil, tanto em isolados clínicos da comunidade quanto em isolados hospitalares.

Porém,apesardaaltasensibilidadeaoscarbapenêmicos observada neste estudo, isolados ESBL positivos apresentando resistência ao ERT (1/52, 1,9%), IMP (2/52, 3,8%) e MEM (3/52, 5,8%) foram detectados. Relatos de taxas maiores de resistência aos carbapenêmicos

em isolados de UPECs vêm sendo descritas, o que é motivo de preocupação. No Nepal, SHAH et al. (2019) encontraram resistência ao MEM em 20% dos isolados de *E. coli* provenientes de amostras de urina obtidas de pacientes de uma enfermaria.

No Brasil, alguns dados também são relatados. No Sudeste do Estado do Pará, foi observada uma taxa de resistência de 42% para o ERT em isolados UPECs provenientes de gestantes atendidas em um hospital (OLIVEIRA et al., 2016). Ainda, em um hospital de Goiânia foi encontrado resistência para os carbapenêmicos com taxas acima de 72,7% para os isolados UPECs (FERNANDES, 2017). Contudo, os resultados apresentados demonstram que, tem sido observada a resistência aos carbapenêmicos de uma maneira geral, em isolados clínicos hospitalares. Vale ressaltar que neste estudo foram incluídas *E. coli* recuperadas de pacientes da comunidade e hospitalizados e apesar da resistência aos carbapenêmicos parecer baixa, é preocupante por se tratar de antimicrobianos da última geração dos betalactâmicos.

Além da resistência completa aos carbapenêmicos, entre as *E. coli* ESBL-positivas dentro da coleção analisada nesse estudo, foi observada suscetibilidade reduzida aos carbapenêmicos IMP (5/52; 9,6%), ERT (6/52, 11,5%) e MEM (5/52, 9,6%), as quais são classificadas como intermediárias pelo CLSI (2019). A redução da sensibilidade aos carbapenêmicos pode ser causada, pela produção de enzimas carbapenemases e também pela alteração ou redução da expressão de porinas, e possivelmente também por proteínas ligadoras de penicilina; ou também pode ocorrer quando a enzima carbapenemase é pouco ou não expressa, mesmo na presença do gene codificador (NORDMAN, POIREL, 2014). Importante ressaltar que, aqui, a produção de ESBL pelos isolados bacterianos, que justificou a resistência aos outros

antimicrobianos betalactâmicos testados, não tem ação sobre os carbapenêmicos. Como hipótese para os achados possivelmente a resistência observada entre os isolados, pode ser devido à exposição prévia do paciente aos carbapenêmicos, o que favorece o surgimento da resistência bacteriana.

Interessante destacar também que um isolado ESBL-negativo (EC 20) e um positivo (EC41) apresentaram suscetibilidade diminuída (intermediário) apenas ao MEM. A sensibilidade ao IMP e resistência ao MEM em uma bactéria pode ocorrer mesmo na ausência da enzima carbapenemase. Isso se deve a outros mecanismos de resistência que incluem alteração de porinas, hiperexpressão de bombas de efluxo e/ou produção de enzimas cujo substrato preferencial poderia ser altamente específico e dirigido somente para um dos carbapenêmicos (HARINO et al., 2013). Estes mecanismos têm sido esporadicamente reportados entre amostras clínicas, mas uma investigação epidemiológica mais acurada é necessária para avaliar a importância clínica da presença destes mecanismos. De nota, este estudo, apesar de não incluir a investigação de mecanismos de resistência bacteriana contra carbapenêmicos, alerta para a necessidade de monitoramento da resistência a esses fármacos bem como de pesquisas visando ampliar o conhecimento dos mecanismos de resistência circulando entre amostras clínicas de *E. coli*.

CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou o contexto da suscetibilidade aos betalactâmicos amoxicilina/ácido clavulânico, aztreonam, ceftriaxona, ceftazidima, cefotaxima e cefoxitina em isolados de UPECs resistentes a ciprofloxacina e revelou que a resistência a esses fármacos vem ocorrendo na população estudada, o que limita as opções terapêuticas para o tratamento de ITUs. Foi possível observar resistência a esses betalactâmicos em 30,8% das

UPECs e este fenótipo está associado não apenas com a produção de enzimas ESBL, apesar deste ser o principal mecanismo de resistência (42,3% de positividade para ESBL entre os isolados testados). Além disso, o achado de que 11,5% dos isolados ESBL-positivos apresentam suscetibilidade diminuída aos carbapenêmicos (meropenem, imipenem e ertapenem) é relevante e alerta para a necessidade de monitoramento para contenção da disseminação da resistência bacteriana. Os resultados reforçam que estudos em UPECs devem ser intensificados para promover conhecimentos sempre atualizados possibilitando revisões frequentes de protocolos de tratamento de ITUs e assim, reduzir falências terapêuticas e minimizar o desenvolvimento e a disseminação da resistência bacteriana nesse contexto.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

D.V.F. realizou os testes de atividade antibacteriana dos betalactâmicos, identificação das ESBLs, manutenção/cultura dos microrganismos, e redação do manuscrito. A.P.C. auxiliou na manutenção/crescimento dos microrganismos, interpretação dos dados, e formatação e revisão crítica do manuscrito. W.G.L. realizou a revisão crítica do manuscrito. M.C.P. participou no desenho do estudo, desenvolvimento do conteúdo intelectual, e revisão crítica do manuscrito.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram que não existe qualquer conflito de interesse com instituições públicas ou privadas.

AGRADECIMENTOS

W.G.L. agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado. A.P.C. agradece a CAPES pela bolsa de mestrado.

Este trabalho está devidamente cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen, sob o número A4B543B.

REFERÊNCIAS

- ABERNETHY, J.; GUY, R.; SHERIDAN, E.A. et al. Epidemiology of *Escherichia coli* bacteraemia in England: results of an enhanced sentinel surveillance programme. **Journal of Hospital Infection**. v.95, n.4, p. 365-375, 2017. doi:10.1016/j.jhin.2016.12.008.
- AHN, S.T.; KIM, S.W.; KIM, J.W.; PARK, H.S.; MOON, D.G.; OH, M.M. Does urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* show same antibiotic resistance when it recurs? **Journal of Infection and Chemotherapy**. v.25, n.7, p. 498-502, 2019. doi.org/10.1016/j.jiac.2019.02.006.
- ALVES-COELHO, N.; SILVA, R.S.; DELMONDES, G.M.; LIMA, W.G.; JENSEN, C.E.M.; PAIVA, M.C. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and carbapenemases among ampicillin-resistant Enterobacteriales recovered from a municipal raw sewage in Minas Gerais, Brazil. Aceito para publicação na **Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas**, v.50, n.3, dezembro 2021.
- ARAUJO, K.L.; QUEIROZ, A.C. Análise do perfil dos agentes causadores de infecção do trato urinário e dos pacientes portadores, atendidos no Hospital e Maternidade Metropolitano-SP. **Journal of the Health Sciences Institute**. v.30, n.1, p. 7–12, 2012.
- ARAUJO, P.M.; WILHELM, E.A.; LUCHESE, C. Prevalence of Urinary Tract Infections and the Profile of Susceptibility To Antimicrobials of Isolated Bacterial. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde**. v.18, n.02, p. 271–287, 2017.
- AZARGUN, R.; SADEGHI, M.R.; SOROUSH BARHAGHI, M.H. et al. The prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and ESBL-production in *Enterobacteriaceae* isolated from urinary tract infections. **Infection and Drug Resistance**. v.11, p. 1007-1014, 2018. doi:10.2147/idr.s160720.
- BAJAJ, P.; SINGH, N.S.; VIRDI, J.S. *Escherichia coli* β -Lactamases: What Really Matters. **Frontiers in Microbiology**. v. 7:417, 2016. doi:10.3389/fmicb.2016.00417.

BASU, S.; MUKHERJEE, M. Incidence and risk of co-transmission of plasmid-mediated quinolone resistance and extended-spectrum β -lactamase genes in fluoroquinolone-resistant uropathogenic *Escherichia coli*: a first study from Kolkata, India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v.14, p. 217–223, 2018. doi.org/10.1016/j.jgar.2018.03.009.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 14: Avaliação dos indicadores nacionais das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e Resistência microbiana do ano de 2015. ANVISA – Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde. 2016, p. 83.

BUSH, K.; BRADFORD, P.A. B-Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**. v.6, n.8: a025247, 2016. doi: 10.1101/cshperspect.a025247.

BUSH, K.; JACOBY, G.A. Updated Functional Classification of β -Lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.54, n.3, p.969–976, 2009. doi: 10.1128/aac.01009-09.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. **CLSI supplement M100 -S29**. 29th ed. Wayne, PA: CLSI; 2019.

CORREAL, J.C.D.; SANT'ANNA, L.O.; CARVALHO, A.F.C. et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole and fluoroquinolones Resistant *Escherichia coli* in Community-Acquired and Nosocomial Urinary Tract Infections in Rio De Janeiro, Brazil. **Journal of Infectious Diseases and Therapy**. v.02, n.06, p. 6–10, 2014. doi: 10.4172/2332-0877.1000192.

COSTA, L. C.; BELEM, L.F.; FREITAS E SILVA, P.M. et al. Infecções urinárias em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, n. 3, p. 175–180, 2010.

DA SILVA, A.P.S.; SOUSA, V.S.; MARTINS, N. et al. *Escherichia coli* sequence type 73 as a cause of community acquired urinary tract infection in men and women in Rio de Janeiro, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v.88, n.01, p. 69–74, 2017. doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.01.024.

DIAS, R.C.S.; MARANGONI, D.V.; SMITH, S. et al. Clonal composition of *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract infections in the state of Rio de

Janeiro, Brazil. **Microbial Drug Resistance**. v.15, n.04, p. 303–308, 2009. doi.org/10.1089/mdr.2009.0067.

DINIZ, A. M. M.; SANTOS, R. M. C. S. Ocorrência de *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. produtoras de ESBL em Hospital Universitário, na cidade de Manaus – AM. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**. v. 9, n. 2, p. 4–8, 2019.

FERNANDES, L.C. **Perfil fenotípico e genético de enterobactérias produtoras de carbapenemase do tipo KPC em um Hospital de Goiânia**. 2017 Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Goiás-Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP).

FERNANDO, M.M.P.S.C.; LUKE, W.A.N.V.; MITHTHINDA, J.K.N.D. et al. Extended spectrum beta lactamase producing organisms causing urinary tract infections in Sri Lanka and their antibiotic susceptibility pattern -A hospital based cross sectional study. **BMC Infectious Diseases**. v.17, n.138, p. 1–6, 2017.

FREITAS, B.V.; DIORIO, S.M.; FUSARO, A.E. Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of uropathogens in patients treated at the Instituto Lauro de Souza Lima-Bauru/SP. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v.48, n.04, p. 375–380, 2016.

GONÇALVES, L.F.; MARTIN-JUNIOR, P.O.; MELO, A.B.F. et al. Multidrug resistance dissemination by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract infection in the Central-Western Region, Brazil. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v.6, p. 1–4, 2016. doi.org/10.1016/j.jgar.2016.02.003.

GRADOS, M.C.; THUISSARD, I. J.; ALÓS, J.I. Stratification by demographic and clinical data of the antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* from urinary tract infections of the community. **Atención Primaria**. v.51, n.8, p. 494–498, 2019. doi:10.1016/j.aprim.2018.06.004.

HAGHIGHATPANAH, M.; MOJTAHEDI, A. Characterization of antibiotic resistance and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from Iranian inpatients with urinary tract infections. **Infection and Drug Resistance**. v.12, p. 2747–2754, 2019. doi:10.2147/idr.s219696.

HARINO, T.; KAYAMA, S.; KUWAHARA, R. et al. Meropenem resistance in imipenem-susceptible meropenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates not detected by rapid automated testing systems. **Journal of Clinical Microbiology**. v.51, n.8, p. 2735–2738, 2013. doi:10.1128/jcm.02649

HASHEMIZADEH, Z.; SADEGHI, M.R.; SADEGHI, M.H.S. *et al.* Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and ESBLs genes in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections and fecal samples in Southeast Iran. **Gene Reports**. v.17:100487, 2019. doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100487.

HOOPER, D.C.; JACOBY, G.A. Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**. v.6, n.6(9) : a025320, 2016. doi: 10.1101/cshperspect.a025320.

JACOBY, G.A. AmpC β -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**. v.22, n.1, p.161-182, 2009. doi: 10.1128/CMR.00036-08.

KAKIAN, F.; SHAHINI SHAMS ABADI, M.; GHOLIPOUR, A. *et al.* Evaluating the prevalence of virulence genes of *Escherichia coli* in patients affected by urinary tract infection. **Gene Reports**. v.16:100433, 2019, doi: 10.1016/j.genrep.2019.100433.

KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**. v.2, n.2, p. 123-140, 2004.

LEE, J.H.; SUBHADRA, B.; SON, Y.J. *et al.* Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. **Letters in Applied Microbiology**. v.62, n.01, p. 84–90, 2015. doi.org/10.1111/lam.12517.

LOGAN, L.K.; WEINSTEIN, R.A. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. **The Journal of Infectious Diseases**. v.215 (suppl_1) : S28-S36, 2017. doi: 10.1093/infdis/jiw282.

LOPES, H.V.; TAVARES, W. Diagnóstico das infecções do trato urinário. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.51, n.16, p.306-308, 2005. doi: 10.1590/s0104-42302005000600008.

MALEKZADEGAN, Y.; KHASHEI, R.; EBRAHIM-SARAI, H.S.; JAHANABADI, Z. Distribution of virulence genes and their association with antimicrobial resistance among uropathogenic *Escherichia coli* isolates from Iranian patients. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, p. 572-584, 2018.

MARTINS, A. C.; PICOLI, S. U. Métodos alternativos para detecção de betalactamase de espectro estendido

em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 47, n. 4, p. 421-426, 2011.

NORDMANN, P.; POIREL, L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. **Clinical Microbiology and Infection**. v.20, n.9, p.821-830, 2014. doi:10.1111/1469-0691.12719.

OLIVEIRA, R.A.; RIBEIRO, E.A.; GOMES, M.C.; COELHO, D.D.; TOMICH, G.M. Perfil de suscetibilidade de uropatógenos em gestantes atendidas em um hospital no sudeste do Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. v.7, n.3, p.43-50, 2016. doi:10.5123/s2176-62232016000300005.

PACHECO, A.J.; PACHECO, A.J.; POLO, M.A.A., OSCAÑA, M.N. Resistencias a quinolonas en aislados clínicos de *Escherichia coli* productores de betalactamases de espectro estendido. **Higiene y Sanidad Ambiental**, v. 09, p. 449-466, 2009.

PRICE, T.K.; DUNE, T.; HILT, E.E.; THOMAS-WHITE, K.J.; KLIETHERMES, S.; BRINCAT, C.; BRUBAKER, L.; WOLFE, A.J.; MUELLER, E.R.; SCHRECKENBERGER, P.C. The Clinical Urine Culture: Enhanced Techniques Improve Detection of Clinically Relevant Microorganisms. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 54, n. 5, p. 1216-1222, 2016.

QUAN, J.; ZHAO, D.; LIU, L.; CHEN, Y.; ZHOU, J.; JIANG, Y.; DU, X.; ZHOU, Z.; AKOVA, M.; YU, Y. High prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in community-onset bloodstream infections in China. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.72, p. 273–280, 2017. doi: 10.1093/jac/dkw372.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, J.M.; MACHUCA, J.; CANO, M.E.; CALVO, J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; PASCUAL, A. Plasmid-mediated quinolone resistance: two decades on. **Drug Resistance Updates**. v.29, p.13-29, 2016. doi:10.1016/j.drug.2016.09.001.

RUIZ J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.51, n.5, p.1109-1117, 2003. doi: 10.1093/jac/dkg222.

SEDIGHI, I.; ARABESTANI, M.R.; RAHIMBAKHSH, A. *et al.* Dissemination of extended-spectrum β -lactamases and quinolone resistance genes among clinical isolates of uropathogenic *Escherichia coli* in children. **Jundishapur Journal of Microbiology**. v.08, n.07, 2015.

SHAH, C.; BARAL, R.; BARTAULA, B.; SHRESTHA, L.B. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. **BMC Microbiology**. v.19, n.204, 2019. doi: org/10.1186/s12866-019-1587-3.

SHAHBAZI, S.; ASADI KARAM, M.R.; HABIBI, M.; TALEBI, A.; BOUZARI, S. Distribution of extended-spectrum β -lactam, quinolone and carbapenem resistance genes, and genetic diversity among uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Tehran, Iran. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v.14, p.118-125, 2018. doi: 10.1016/j.jgar.2018.03.006.

SILVA, K.C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.48, n.2, p.91-99, 2012.

SILVA, R.C.R.M.; JÚNIOR, P.O.M.; GONÇALVES, L.F.; MARTINS, V.P.; MELO, A.B.F.; PITONDO-SILVA, A.; CAMPOS, T.A. Ciprofloxacin resistance in uropathogenic *Escherichia coli* isolates causing community-acquired urinary infections in Brasília, Brazil. **Journal Global of Antimicrobial Resistance**. v. 9, p. 61-67, 2017.

SUÁREZ-TRUEBA, B.; SAMPER, Y.M.; RIVERA, F.E. *et al.* Susceptibilidad antimicrobiana y mecanismos de resistencia de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos en un hospital de tercer nivel. **Revista Cubana de Medicina**. v.53, n.1, p. 3-13. 2014.

TARLTON, N.J.; MORITZ, C.; ADAMS-SAPPER, S.; RILEY, L.W. Genotypic analysis of uropathogenic *Escherichia coli* to understand factors that impact the prevalence of β -lactam-resistant urinary tract infections in a community. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**. v.19, p.173-180, 2019. doi: 10.1016/j.jgar.2019.03.002.

TSE, A.; CHELUVAPPA, R.; SELVENDRAN, S. Post-appendectomy pelvic abscess with extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*: a case report and review of literature. **World Journal of Clinical Cases**. v.6, n.16, p.1175-1181, 2018. doi: 10.12998/wjcc.v6.i16.1175.

VENTURIERI, V.R.; MASUKAWA, I.I.; NEVES, F. DE S. Antimicrobial susceptibility of urine culture bacterial isolates from a teaching hospital in Brazil. **Arquivos Catarinenses de Medicina**. v.48, n.1, p. 155-172, 2019.

VERÔNICA, J.W.; DRESER, A.; GONZALES, R. Trends in antibiotic utilization in eight Latin American countries, 1997-2007. **Revista Panamericana de Salud Pública**. v.48, n.1, p. 155-172, 2019. v. 27, n. 3, p. 219-25, 2010.

YADAV, K.; PRAKASH, S. Screening of ESBL Producing Multidrug Resistant *E. coli* from Urinary Tract Infection Suspected Cases in Southern Terai of Nepal. **Journal of Infectious Diseases and Diagnosis**. v.02, n02:116, n.02, 2017.