



Enterobactérias produtoras de ESBL em Passo Fundo, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

ESBL-producing enterobacteria in Passo Fundo, State of Rio Grande do Sul, Brazil

Aldalise Lago¹, Sergio Roberto Fuentesfria^{2,3} e Daiane Bopp Fuentesfria^{2,3}

RESUMO

Introdução: O principal mecanismo de resistência emergente entre *Enterobacteriaceae* é a produção de β -lactamases de espectro estendido, enzimas capazes de hidrolisar cefalosporinas-de-amplio-espectro, que são bastante utilizadas na terapia antimicrobiana de infecções por enterobactérias. Embora a resistência a esses agentes apresente grande variabilidade geográfica, os índices de resistência são elevados em diversos países. **Métodos:** Um estudo observacional, transversal, descritivo e retrospectivo foi desenvolvido para avaliar a frequência de ESBL entre cepas de *Enterobacteriaceae* obtidas no Hospital São Vicente de Paulo, Brasil. **Resultados:** A produção de ESBL foi observada em 24,8% (n°=208/838) dos isolados avaliados. Isolados de *Escherichia coli* representaram 46,2% (n°=96/208) do percentual de produtores de ESBL, seguido de espécies de *Enterobacter* 30,3% (n°=63/208). A sensibilidade desses isolados ao meropenem foi de 91,4% e a piperacilina/tazobactam de 67,4%. **Conclusões:** Os índices de ESBL encontrados confirmam a preocupação mundial com este mecanismo de resistência.

Palavras-chaves: ESBL. Enterobactérias. Resistência bacteriana. Estudo transversal.

ABSTRACT

Introduction: The main emerging resistance mechanism relating to *Enterobacteriaceae* is represented by production of extended spectrum β -lactamases (ESBLs). These enzymes have the capacity to hydrolyze broad-spectrum cephalosporins and are greatly used for antimicrobial chemotherapy on enterobacterial infections. Although resistance to these agents presents remarkable geographical variability, the resistance rates are high in many countries. **Methods:** A retrospective observational cross-sectional descriptive study was developed to evaluate the frequency of ESBLs among *Enterobacteriaceae* strains obtained from Hospital São Vicente de Paulo, Brazil. **Results:** ESBL production was noted in 24.8% (n = 208/838) of the isolates evaluated. Isolates of *Escherichia coli* represented 46.2% (n = 96/208) of the ESBL producers, followed by *Enterobacter* species (30.3%; n = 63/208). The sensitivity of these isolates to meropenem was 91.4% and to piperacillin/tazobactam, 67.4%. **Conclusions:** The ESBL levels founded confirm the worldwide concern regarding this resistance mechanism.

Key-words: ESBL. Enterobacteria. Bacterial resistance. Cross-sectional study.

1. Curso de Ciências Biológicas, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS. 2. Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS. 3. Serviço de Análises especializadas SANI, Passo Fundo, RS.

Endereço para correspondência: Dra. Daiane Fuentesfria. Laboratório SANI. Av. Brasil Oeste 888, Centro, 99010-001 Passo Fundo, RS.

Telefax: 55 54 3312-2000

e-mail: dfuente@tpo.com.br

Recebido para publicação em 03/03/2009

Aceito em 12/07/2010

INTRODUÇÃO

A produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) é um importante mecanismo de resistência em enterobactérias. O tratamento de infecções causadas por cepas produtoras de ESBL oferece um substancial desafio à terapia antimicrobiana, pois as ESBLs são capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de todas as gerações e monobactâmicos, minimizando as opções terapêuticas. Somente alguns antibióticos β -lactâmicos conservam sua atividade frente a cepas produtoras de ESBLs¹. Aliado a isso, o uso contínuo e, muitas vezes inadequado, de agentes antimicrobianos pode induzir à seleção de cepas multirresistentes².

As ESBLs estão frequentemente associadas a infecções urinárias, pneumonias, septicemias, bacteremias e meningites, entre outras inúmeras infecções³⁻⁸. Os principais gêneros produtores de ESBLs, dentre as enterobactérias, são *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* sp, *Providencia* sp e *Enterobacter* sp². Enterobactérias produtoras de ESBLs estão amplamente disseminadas, já tendo sido reportadas na França, Estados Unidos, Reino Unido, Grécia, Holanda, Hungria, Portugal, Bolívia, Peru, Brasil, entre outros⁹⁻¹³.

Atualmente, existem mais de 150 variantes conhecidas de ESBLs, as quais tem causado grande preocupação entre microbiologistas e infectologistas¹⁴. A maioria das ESBLs, atualmente conhecidas, é oriunda das mais antigas β -lactamases tipo TEM-1, TEM-2, e SHV-1¹⁵, as quais diferem dos seus progenitores por poucos aminoácidos. Nessa escala evolutiva, pode-se encontrar denominações como SHV-2, OXA-10, PER-1, PER-2, VEB-1, CTX-M, entre outras^{14,16}.

O monitoramento da ocorrência de cepas produtoras de ESBL em enterobactérias de interesse clínico contribui para delinear a amplitude do

problema e para definir opções de tratamento e medidas de contenção adequadas¹⁷. Como muito pouco é conhecido sobre a ocorrência de cepas produtoras de ESBLs em Passo Fundo, RS, o objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de ESBLs em isolados clínicos de enterobactérias no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), bem como avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos na presença dessas

MÉTODOS

Área de estudo

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), em Passo Fundo, RS, Brasil. Este hospital possui 560 leitos e 101 leitos de apoio e uma área construída de 45.000m², realizando cerca de 28.000 internações ao ano.

Delineamento do estudo e coleta de dados

Realizou-se um estudo retrospectivo observacional transversal que incluiu os pacientes internados no HSVP e cujas culturas bacterianas foram realizadas, no período de julho a dezembro de 2007. Foram coletados dados demográficos como sexo, unidade de internação hospitalar, número de registro laboratorial do paciente e dados referentes ao paciente, como tipo de amostra biológica, identificação bacteriana e antibiograma. Os dados dos pacientes com culturas positivas para enterobactérias produtoras de ESBL foram avaliados. Os dados foram coletados através do sistema interno de computadores do HSVP, no Laboratório de Análises Clínicas.

Identificação de cepas, antibiograma e triagem fenotípica da produção de ESBL

As amostras biológicas foram identificadas através da coloração de Gram e provas como fermentação de glicose, sacarose e lactose, motilidade, produção de H₂S, gás, indol e, quando necessário à identificação foi confirmada pelo painel de Gram-negativos do AUTO-SCAN-4 (Dade Microscan, Inc., Sacramento, CA, USA). O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos foi determinado pela metodologia de disco-difusão, de acordo com as normas do CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). A triagem fenotípica para produção de ESBL foi realizada pela técnica de disco aproximação também segundo as normas do CLSI (CLSI, 2007).

Análise estatística

A frequência de culturas positivas foi calculada. Sobre as culturas positivas, calculou-se a frequência de infecções causadas por enterobactérias. Dentre as culturas positivas para enterobactérias, o percentual de cepas produtoras de ESBL foi calculado. Os dados das culturas positivas e cepas produtoras de ESBL foram comparados com o tipo de amostra biológica, o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos testados e a dados demográficos, como sexo e unidade de internação. A análise comparativa entre a presença de ESBL e as diferentes características avaliadas foi realizada com o teste Exato de Fisher. Para avaliar a relação entre infecção por cepas produtoras de ESBL e as diferentes espécies bacterianas, tipos de amostra biológica e unidades de internação foi realizada uma análise univariada (*Mantel-Haenszel Common odds ratio Estimate*); a razão de chances (ODs) e 95% de intervalo de confiança (CI) são reportados. A análise estatística foi realizada através do programa SPSS (versão 11.5) e $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Ética

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Projetos, pela Comissão de Ética e pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital São Vicente de Paulo.

RESULTADOS

Foram analisadas durante o período de estudo 4.888 culturas. O percentual de culturas positivas foi de 31,6% ($n^{\circ}=1.546/4.888$). Dentre essas, 54,2% ($n^{\circ}=838/1.546$) foram identificadas como enterobactérias. A Tabela 1 mostra que, dentre as culturas positivas identificadas como enterobactérias 24,8% ($n^{\circ}=208/838$) dos isolados apresentaram teste de triagem positivo para produção de ESBL. Dentre os isolados produtores de ESBL, *Escherichia coli* foi à espécie prevalente, com 46,2% ($n^{\circ}=96$), seguida de *Enterobacter* sp, com 30,3% ($n^{\circ}=63$).

TABELA 1 - Principais gêneros de enterobactérias encontrados entre os isolados produtores de ESBL do Hospital São Vicente de Paulo ($n^{\circ} = 208$).

Enterobactérias	Produção de ESBL (n°)	Produção de ESBL (%)
<i>Escherichia coli</i>	96	46,2
<i>Enterobacter</i> sp	63	30,3
<i>E. coli</i> <i>saccharose</i> <i>negativa</i>	14	6,7
<i>Proteus mirabilis</i>	12	5,8
<i>Serratia</i> sp	7	3,4
<i>Klebsiella</i> sp	5	2,4
<i>Proteus</i> sp	4	1,9
<i>Citrobacter</i> sp	3	1,4
<i>Edwardsiella</i> sp	1	0,5
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,5
<i>Providencia</i> sp	1	0,5

Os isolados produtores de ESBL foram recuperados principalmente de amostras de urina ($n^{\circ}=79$), secreção traqueal ($n^{\circ}=23$), aspirado traqueal ($n^{\circ}=17$), escarro ($n^{\circ}=16$). Outros tipos de amostras biológicas, como cateteres, fezes, lavados e aspirados brônquicos, ocorreram em menor frequência. Ao todo, ocorreram 129 casos de cultura positiva com produção de ESBL em pacientes do sexo masculino e 79 em pacientes do sexo feminino.

Foi observada uma variação nos índices de culturas positivas produtoras de ESBLs nos diferentes setores hospitalares, sendo que o maior índice identificado ocorreu no Centro de Terapia Intensiva Central (CTI-C) com 36 isolados, seguido do Posto 7 (P.07) com 33 pacientes infectados e Centro de Cuidados Intensivos de Enfermagem (CCIE) com 16 casos constatados. Outros setores também apresentaram culturas positivas com produção de ESBLs, porém em menor número.

Na análise univariada, os seguintes gêneros bacterianos apresentaram relação com produção de ESBL: *E. coli*, *Enterobacter* sp, *E. coli* *saccharose* *negativa* e *Serratia* sp ($p < 0,05$). Isolados do gênero *Enterobacter* sp apresentaram 8,43 vezes maior chance de serem produtores de ESBL, sendo que 49,6% de *Enterobacter* sp foram produtores de ESBL. Dentre as diferentes amostras biológicas avaliadas, escarro, urina, fezes, secreção traqueal e líquido abdominal apresentaram significância estatística ($p < 0,05$); sendo que infecções de líquido abdominal, secreção traqueal e urina apresentaram, respectivamente 2,72, 2,35 e 1,9 maior chance de serem causadas por

um isolado produtor de ESBL. Dentre todas as culturas positivas de líquido abdominal, 29,6% foram causadas por cepas produtoras de ESBL. Dentre as diferentes unidades de internação que apresentaram relação significativa com presença de ESBLs, os postos de enfermagem P.07 e P.06 apresentaram chances 2,39 e 2,13 vezes maiores de infecções por isolados produtores de ESBL (Tabela 2). Os dados apresentados na Tabela 2 apresentaram $p < 0,05$ e foram considerados estatisticamente significativos.

Conforme esperado, 100% das cepas isoladas como produtoras de ESBL foram resistentes a todas as cefalosporinas e aztreonam. Foi observada 71,6% de resistência a sulfametoxazol/trimetoprim e 32,6% de resistência a piperacilina/tazobactam, indicando a possibilidade da presença de outro mecanismo de resistência, além de ESBLs. Não foi observada resistência à tigeciclina (Figura 1).

TABELA 2 - Análise univariada para variáveis associadas com infecção por isolados produtores de ESBL.

Variáveis analisadas	Odds Ratio (95% CI)	Porcentagem
Enterobacterias		
<i>Escherichia coli</i>	2,23 (1,66-3,00)	20,7
<i>Enterobacter sp</i>	8,43 (6,73-12,4)	49,6
<i>Escherichia coli</i> sacarose negativa	1,99 (1,07-3,68)	23,3
<i>Serratia sp</i>	2,73 (1,18-6,31)	29,6
Amostras Biológicas		
escarro	0,45 (0,06-0,76)	7,2
urina	1,90 (1,40-2,58)	19,8
fezes	0,26 (0,12-0,56)	4,3
secreção traqueal	2,35 (1,43-2,87)	25,8
lavado brônquico	0,17 (0,02-1,22)	2,6
líquido abdominal	2,72 (1,18-6,31)	29,6
Unidades de Internação		
emergência	0,38 (0,21-0,70)	6,2
Posto 07	2,39 (1,56-3,65)	25,6
CTI-Central	1,78 (1,20-2,65)	20,6
CTI-Pediátrico e Neo-natal	0,15 (0,02-1,07)	2,3
Posto 01	0,22 (0,54-0,92)	3,5
Posto 06	2,13 (1,22-3,69)	24,3

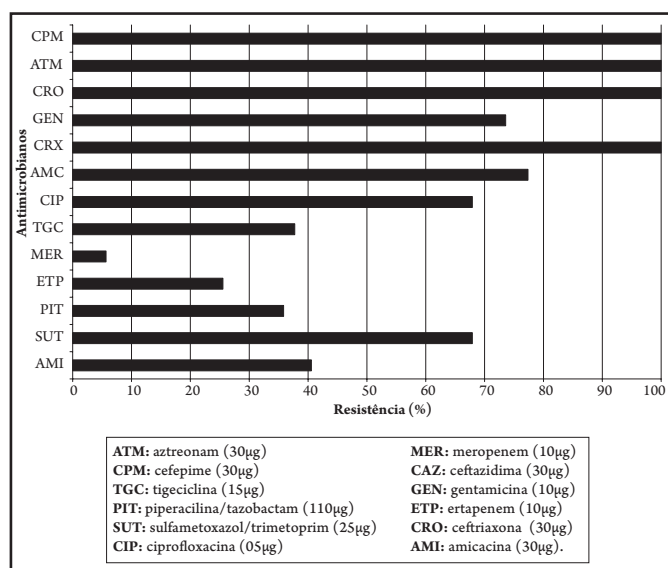


FIGURA 1 - Perfil de resistência dos isolados produtores de ESBL.

DISCUSSÃO

Métodos fenotípicos confirmatórios são rotineiramente utilizados para detecção de ESBLs em *E. coli* e *Klebsiella sp*. Com o aumento da ocorrência de ESBLs em outras enterobactérias, é necessário também avaliar a ocorrência em espécies que não-*E. coli* e não-*Klebsiella sp*. No presente estudo, a produção de ESBLs foi detectada em cinco gêneros diferentes de enterobactérias, além de *E. coli* e *Klebsiella sp*, mostrando a disseminação desse mecanismo de resistência na família *Enterobacteriaceae* (Tabela 1). A frequência de isolados produtores de ESBL entre as enterobactérias estudadas foi de 24,8%. Índices semelhantes foram reportados no Brasil, por Mendes e cols¹⁸ que detectaram a presença de ESBLs em 29% das enterobactérias estudadas. A alta frequência de ESBLs encontrada demonstra a importância de pesquisar fenotipicamente a presença de ESBLs na rotina laboratorial, inclusive em espécies não-*E. coli* e não-*Klebsiella sp*.

Como esperado, a espécie *E. coli* e *E. coli* sacarose negativa foram as principais produtoras de ESBL entre as enterobactérias avaliadas, representando 52,8% dos isolados produtores de ESBL. Dentre as enterobactérias produtoras de ESBL, *Enterobacter sp* foi responsável por 30,3%. É sabido que a diminuição na permeabilidade da bactéria aos antimicrobianos e a produção de outras β -lactamases induzíveis podem mascarar a presença de ESBL^{19,20}. Airpin e cols²¹ relataram que 49% dos isolados produtores de ESBL eram *E. aerogenes*, seguidos de 21% de *K. pneumoniae* e 15% de *E. coli*. O presente estudo mostrou diferença significativa quanto ao tipo de microrganismo isolado e a produção de ESBL ($p < 0,05$). O maior número de isolados produtores de ESBL ocorreu entre isolados de *E. coli* e *Enterobacter sp*, sendo que para este último, a razão de chances foi de 8,43. Isso significa que, uma vez que o patógeno é identificado como *Enterobacter sp*, ele apresenta 8,43 vezes maior chance de ser produtor de ESBL.

Existem controvérsias a respeito da importância clínica de se reportar ESBL em espécies produtoras de β -lactamases cromossômicas induzíveis. As cefalosporinas de terceira geração são consideradas resistentes para esse grupo. Contudo cabe a consideração de que o cefepime representa uma opção terapêutica para os microrganismos produtores de *AmpC*, ao passo que cepas produtoras de ESBL são resistentes²². A detecção é epidemiologicamente importante porque o gene de resistência está localizado em plasmídios facilmente dissemináveis²³.

Sabe-se que os laboratórios que pesquisam cepas produtoras de ESBLs na rotina, ao confirmarem a produção desse mecanismo de resistência, independente do resultado obtido *in vitro*, automaticamente liberam os resultados de seus testes de sensibilidade indicando que a cepa é resistente a todas as penicilinas, todas as cefalosporinas e aztreonam²⁴.

A terapia de infecções causadas por enterobactérias produtoras de ESBLs é geralmente difícil, uma vez que esses microrganismos não são somente resistentes a penicilinas, cefalosporinas e aztreonam, mas são frequentemente associados à resistência a outras classes de antimicrobianos²⁵. As enterobactérias produtoras de ESBL avaliadas no presente estudo mostraram-se bastante susceptíveis aos carbapenêmicos, principalmente meropenem. Uma forte associação entre produção de ESBL e resistência a ciprofloxacina foi observada. Luzzaro e cols¹⁷ relataram isolados com o gene *bla_{TEM}* caracterizadas por resistência a ciprofloxacina e gentamicina

em mais de 70% dos casos. De maneira geral, os dados do presente estudo suportam o uso de carbapenêmicos como terapia empírica em casos de infecções crônicas ou surtos nosocomiais. O uso de fluoroquinolonas poderia ser justificado somente em casos específicos de infecções associadas à ESBLs.

Excluindo os carbapenêmicos, piperacilina/tazobactam e amicacina foram os antimicrobianos mais efetivos *in vitro*, com susceptibilidades de 67,4% e 60,1%, respectivamente. Luzzaro e cols¹⁷ encontraram perfis de susceptibilidade semelhantes e, nestes isolados, detectaram o gene tipo-*bla*_{SHV}. Baseado nesses dados, a piperacilina/tazobactam em monoterapia ou associada à amicacina pode ser uma opção útil para tratamento de infecções urinárias causadas por microrganismos susceptíveis. Como sugerido anteriormente, em infecções não crônicas e situações não de surto não é necessária à administração de carbapenêmicos. Essa medida pode auxiliar a preservar o valor dessas drogas. Como os isolados multirresistentes e produtores de ESBL deste estudo apresentaram altos índices de susceptibilidade à tigeciclina, esta poderia ser utilizada como opção para o tratamento de infecções específicas²⁶. Entretanto, existe um argumento contra a expansiva disponibilidade desta droga por apresentar potencial para o desenvolvimento de cepas resistentes. Além disso, existe uma preocupação de que a disponibilidade não restrita deste agente possa resultar que alguns antibióticos comumente utilizados, como fluoroquinolonas, cefalosporinas e carbapenêmicos, tornem-se mais propensos a induzir resistência cruzada e causar danos colaterais em pacientes hospitalizados. Embora o fenômeno de co-resistência não tenha sido observado até o momento, o potencial para o desenvolvimento de resistência a tigeciclina é desconhecido^{27,28}.

As taxas de ESBL encontradas entre as enterobactérias isoladas do HSVP foram semelhantes às de outras instituições brasileiras. *E. coli*, *E. coli* sacarose negativa e *Enterobacter* sp são as de maior preocupação. A detecção de produção de ESBLs na rotina laboratorial fornece embasamento que auxilia na seleção da terapia antimicrobiana apropriada. Com a disseminação de cepas produtoras de ESBL em hospitais ao redor do mundo, é necessário conhecer a prevalência de produção de ESBL para desenvolver uma política de terapia empírica em unidades de alto risco, onde os índices de infecção por esses microrganismos são elevados. Além disso, o conhecimento do padrão de resistência de cepas em uma área geográfica guia o uso correto e perspicaz de antimicrobianos. Há a possibilidade de que o uso restrito de um antimicrobiano leve a um retrocesso da pressão seletiva e, bactérias resistentes não terão mais vantagem adaptativa nesses ambientes²⁹. Assim, os índices de ESBL encontrados confirmam a preocupação mundial da emergência deste mecanismo de resistência.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Análises Clínicas e à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital São Vicente de Paulo por permitirem o desenvolvimento deste estudo.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

REFERÊNCIAS

1. Chaudhary U, Aggarwal R. Extended Spectrum β -lactamases (ESBL) - An Emerging Threat to Clinical Therapeutics. *Indian J Med Microbiol* 2004; 2:75-80.
2. Amarante JMB. Prevalência de ESBL pode chegar até a 100% das Bactérias Isoladas em Hospitais. *Fato Hospitalar* 2002; 3:4-6.
3. Boccia D, Stolfi I, Lana S, Moro ML. Nosocomial necrotizing enterocolitis outbreaks: epidemiology and control measures. *Eur J Pediatr* 2001; 160:385-391.
4. Carson C, Narber KG. Role of fluorquinolones in treatment of serious bacterial urinary tract infections. *Drugs* 2004; 64:1359-1373.
5. Chastre J, Fagon JY. Ventilator associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:867-903.
6. Gupta A. Hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit- *Klebsiella pneumoniae*. *Semin Perinatol* 2002; 26:340-345.
7. O'hara CM, Brenner FW, Miller JM. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia* and *Moragnella*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13:534-546.
8. Zar HJ, Cotton MF. Nosocomial pneumonia in pediatric patients: practical problems and rational solutions. *Paediatr Drugs* 2002; 4:73-83.
9. Freitas ALP, Machado DP, Soares FSC, Barth AL. Extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella* spp and *Escherichia coli* obtained in a Brazilian teaching hospital: detection, prevalence and molecular typing. *Braz J Microbiol* 2003; 34:344-348.
10. Lartigue MF, Zinsius C, Wenger A, Bille J, Poirel L, Nordmann P. Extended-Spectrum β -Lactamases of the CTX-M Type Now in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 8:2855-2860.
11. Pallecchi L, Bartoloni A, Fiorelli C, Mantella A, Di Maggio T, Gamboa H, et al. Rapid Dissemination and Diversity of CTX-M Extended-Spectrum-Lactamase Genes in Commensal *Escherichia coli* Isolates from Healthy Children from Low-Resource Settings in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:2720-2725.
12. Robin F, Delmas J, Schweitzer C, Tournilhac O, Lesens O, Chanal C, et al. Evolution of TEM-Type Enzymes: Biochemical and Genetic Characterization of Two New Complex Mutant TEM Enzymes, TEM-151 and TEM-152, from a Single Patient. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:1304-1309.
13. Valverde A, Coque TM, Sa'nchez-Moreno MP, Rolla'n A, Baquero F, Canto'n R. Dramatic Increase in Prevalence of Fecal Carriage of Extended-Spectrum -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* during Nonoutbreak Situations in Spain. *J Clin Microbiol* 2003; 10:4769-4775.
14. Sturenburg E, Mack D. Extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003; 47:273-295.
15. Schwaber MJ, Graham CS, Sands BE, Gold HS, Carmeli Y. Treatment with a broad-spectrum cephalosporin versus piperacillin-tazobactam and the risk for isolation of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Enterobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1882-1886.
16. Rossi F, Andreazzi DB. Resistência Bacteriana: Interpretando o antibiograma. São Paulo, Editora Atheneu; 2005.
17. Luzzaro F, Mezzatesta M, Mugnaioli C, Perilli M, Stefani S, Amicosante G, et al. Trends in Production of Extended-Spectrum-Lactamases among Enterobacteria of Medical Interest: Report of the Second Italian Nationwide Survey. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1659-1664.
18. Mendes C, Hsiung A, Kiffer C, Oplustil C, Sinto S, Mimica I, et al. Evaluation of the *in vitro* activity of 9 antimicrobials against bacterial strains isolated from patients in intensive care units in Brazil: MYSTIC Antimicrobial Surveillance Program. *Braz J Infect Dis* 2000; 4:236-44.
19. Schwaber MJ, Raney PM, Rasheed JK, Biddle JW, Williams P, McGowan JE, et al. Utility of NCCLS Guidelines for Identifying Extended-Spectrum β -Lactamases in Non-*Escherichia coli* and Non-*Klebsiella* spp. of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2004; 42:294-298.
20. Pereira AS, Filho JRC, Tognim MCB, Sader HS. Avaliação da acurácia de testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtora

- de betalactamase de espectro estendido. J Bras Patol Med Labor 2003; 39:301-308.
21. Arpin C, Dubois V, Coulange L, Andre C, Fischer I, Noury P, et al. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Community and Private Health Care Centers. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3506-3514.
 22. Livermore DM. β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 4:557-584.
 23. Thomson KS. Controversies about extended-spectrum and ampC betalactamases. *Em Infect Dis* 2001; 7:333-336.
 24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fiftenth Informational Supplement. CLSI document M 100-S 15 (ISBN 1-56238-556-9). *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
 25. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Carmeli Y. High levels of antimicrobial coresistance among extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:2137-2139.
 26. Ku YH, Chuang YC, Yu WL. In vitro activity of tigeciclyne against clinical isolates of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* and *Enterobacter cloacae*. *J Microbiol Immunol Infect* 2008; 41:332-336.
 27. Morosini MI, García-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E, et al. ANtibiotic coresistance in extended-espectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and *in vitro* activity of tigecyclin. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2695-2699.
 28. Stein GE, Craig WA. Tigecyclin: a critical analysis. *Clin Infect Dis* 2006; 43:518-524.
 29. Mathur P, Kapil A, Das B, Dhawan B. Prevalence of extended spectrum beta lactamase producing gram negative bacteria in a tertiary care hospital. *Indian J Med Res* 2002; 115:153-157.
 30. Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S16 (ISBN 1-56238-556-9). *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.