

ANDYARA LENA PAIVA DE BARROS CAMARGO

**CARACTERIZAÇÃO DE BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO
ESTENDIDO E DETERMINAÇÃO DE GRUPOS FILOGENÉTICOS
EM ISOLADOS DE *Escherichia coli* RECUPERADOS DE
PACIENTES EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SÃO PAULO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

**São Paulo
2011**

ANDYARA LENA PAIVA DE BARROS CAMARGO

**CARACTERIZAÇÃO DE BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO E
DETERMINAÇÃO DE GRUPOS FILOGENÉTICOS EM ISOLADOS DE
Escherichia coli RECUPERADOS DE PACIENTES EM UM HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DE SÃO PAULO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira.

Co-orientador: Prof. Dr. Nilton Lincopan

**São Paulo
2011**

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução parcial

Paiva, Andyara Lena de Barros Camargo.

Caracterização de beta-lactamases de espectro estendido e determinação de grupos filogenéticos em isolados de *Escherichia coli* recuperados de pacientes em um Hospital Universitário de São Paulo / Andyara Lena Paiva de Barros Camargo . -- São Paulo, 2011.

Orientador: Antonio José Piantino Ferreira.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Microbiologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de pesquisa: Estudo de fatores de virulência de enterobactérias aviárias.

Versão do título para o inglês: Characterization of extended-spectrum β -lactamases and phylogenetic groups in *Escherichia coli* strains recovered from patients at a university hospital in São Paulo.

Descritores: 1. *Escherichia coli* 2. Infecção extra-intestinal
3. Infecção do trato urinário 4. ESBL 5. CTX-M 6. Grupo filogenéticos I. Ferreira, Antonio José Piantino II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia III. Título.

ICB/SBIB08/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Andyara Lena Paiva de Barros Camargo.

Título da Tese: Caracterização de beta-lactamases de espectro estendido e determinação de grupos filogenéticos em isolados de *Escherichia coli* recuperados de pacientes em um Hospital Universitário de São Paulo.

Orientador(a): Antonio José Piantino Ferreira.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

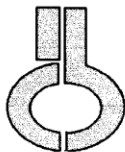
Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone : (55) (11) 3091-7733 - telefax : (55) (11) 3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

Comissão de Ética em Pesquisa

CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB N° 275, referente ao projeto intitulado: “*Caracterização de B-Lactamases de espectro estendido (ESBL) em isolados clínicos de Escherichia coli do Hospital Universitário da USP*” sob a responsabilidade de **Andyara Lena dos Santos Costa**, foi analisado na presente data pela CEEA - COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL e pela CEPSh - COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS, tendo sido deliberado que o referido projeto não envolve manipulação animal ou humana que justifique uma aprovação quanto aos princípios éticos exigidos por ambas as Comissões.

São Paulo, 19 de novembro de 2008.

PROF. DR. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador da CEEA - ICB/USP

PROF. DR. LUIZ VICENTE RIZZO
Coordenador da CEPsh - ICB/USP

Aos meus avós-pais, Martinho Paiva e Cleonice Paiva (in memoriam) por todo amor e ensinamentos recebidos.

À minha mãe Sheila Regina pelo amor incondicional e por sempre apoiar-me em todas as decisões.

Ao meu tio-pai José Henrique (in memoriam) pelo amor paterno e exemplo de dignidade.

À minha filha Thaynara Lena, razão das minhas conquistas, pela compreensão durante minhas longas ausências.

Ao meu marido Luís Eduardo por todo amor, auxílio e cumplicidade nos momentos finais e ao Pedro pelo carinho e admiração.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre esteve comigo, e graças a ele tive força para alcançar esta conquista.

Aos meus orientadores, Professor Dr. Antonio Piantino e Professor Dr. Nilton Lincopan por terem me recebido em seus laboratórios, pelos valiosos ensinamentos e, sobretudo pela paciência durante todos esses anos.

À Professora Dra. Claudete Astolfi Ferreira, pelo auxílio científico, e colaboração nas correções finais da tese.

Ao Professor Dr. José Guerra pela atenção e por ter me direcionado ao Laboratório de Ornitopatologia.

À minha família, em especial a minha tia Wandete Paiva por todo o amor recebido, e aos meus primos-irmãos Shantuzza, Alberth e Júnior pelo amor fraternal que existe entre nós.

Ao meu afilhado André Henrique, pelo amor que tem a sua didinha, e ao meu cunhado Neife, pelo carinho e consideração.

Aos meus sogros Conceição Pastore e Nelson Eduardo de Barros Camargo pelo carinho e amável atenção para comigo e com a Thaynara.

A família do Luís Eduardo, em especial a Cé, Anginha e Renata pelo carinho.

Aos meus amigos de infância Eliana Cantanhêde, Welter Cantanhêde, Fábio Cantanhêde, Flávio Cantanhêde e Hamilton Cantanhêde, e aos tios Francisco Ximenes e Gracinha Cantanhêde por estarem sempre presentes em todos os momentos da minha vida.

À Concetta Pappalardo e ao Rafael Barros por todo o apoio.

À Adriana Pereira, por ter sido uma verdadeira colaboradora deste trabalho e pela amizade durante esses anos.

Ao John McCulloch, por todo o auxílio científico e por sempre ter sido um amigo presente nas horas mais difíceis.

À Juliana Amhaz, pela amizade e companheirismo em todos os momentos.

À Patrícia Neves, pelo auxílio valioso na realização dos experimentos, pela

atenção constante e, principalmente, pela amizade.

À Professora Dra. Marina Baquerizo Martinez, Diretora do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário por gentilmente ter cedido as cepas para este estudo e às profissionais do laboratório Lilian e Silvia.

Aos amigos Marlilde Abreu, Alexandre Abreu, Ana Reyjane, Paulinho Fernandes e Nathalie Brigatto, por toda a torcida.

Ao Malta e a Dora pelos incentivos e pelo imenso apoio nos momentos finais.

À Jacinta, por ter direcionado meus primeiros passos no ICB.

À Professora Dra. Elsa Mamizuka, por permitir a utilização de seu laboratório e pela imensa atenção dispensada.

À Professora Dra. Andréa Moreno e Dra Renata Paixão (FMVZ/USP), por terem colaborado com este trabalho na realização do PFGE.

A todos os colegas dos Laboratórios de Ornitopatologia, Farmácia e Microbiologia, pelos auxílios na execução dos experimentos, em especial a Luciana Allegretti, Luciana Scanavini, Dennis Zannatto e Ketrin C. da Silva.

Aos amigos Rodrigo Assunção e Jean Zukorosvki, pelos conhecimentos compartilhados e convívio agradável.

Às amigas Patrícia Cristina, Katiuska Azevedo, Rosana Freire e Heloísa Almeida por todo o apoio nas Universidades FMU e ANHEMBI e pela amizade.

À Alice, da secretaria da pós-graduação do ICB-II, por sempre ter sido paciente e pela atenção dada aos alunos.

Aos membros da banca por enobrecerem este trabalho.

À FAPESP, pelo financiamento do projeto junto ao Laboratório de Ornitopatologia da FMVZ/USP.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigada por tudo!

RESUMO

PAIVA, A. L. B. C. **Caracterização de beta-lactamases de espectro estendido e determinação de grupos filogenéticos em isolados de *Escherichia coli* recuperados de pacientes em um Hospital Universitário de São Paulo.** 2011. 116 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Escherichia coli pode causar infecção intestinal e extra-intestinal, de origem comunitária ou hospitalar, prevalecendo como agente de infecção do trato urinário (ITU). O objetivo do presente estudo foi caracterizar a produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL), grupos filogenéticos, e a relação clonal em isolados clínicos de *E. coli* recuperados de pacientes ambulatoriais e internados atendidos em um Hospital Universitário de São Paulo, no período de 2005 a 2007. Seis por cento (34/562) dos isolados de *E. coli* estudados foram caracterizados como produtores de ESBL, sendo associados exclusivamente a infecções extra-intestinais, tanto nos pacientes ambulatoriais (10/28, 36%) como nos internados (18/28, 64%), dos quais 56% (19/34) foram recuperados de uroculturas. Os isolados produtores de ESBL exibiram um fenótipo multirresistente apresentando um perfil de resistência a ampicilina (100%), cefalotina (100%), cefotaxima (100%), ceftazidima (79%), sulfametoxazol-trimetoprim (62%), gentamicina (56%), ciprofloxacina (50%) e amicacina (6%) e permanecendo suscetíveis ao imipinem. A produção de ESBL esteve associada com a presença de genes do tipo *bla*_{CTX-M-2} (94%, 32/34), *bla*_{CTX-M-15} (3%, 01/34) e *bla*_{CTX-M-1} (3%, 01/34). Entre os isolados produtores de ESBL, os grupos filogenéticos B1 (53%, 18/34) e A (18%, 6/34), de baixa virulência, foram predominantes sobre os grupos filogenéticos, de alta virulência, B2 (12%, 4/34) e D (18%, 6/34). De fato, os genes de virulência *pap*, *cnf1*, *sfa*, *hly*, e *iuc*, associados com adesão, invasão e disseminação, não foram identificados. Finalmente, a tipagem genotípica por PFGE (utilizando a enzima *Xba*I) com posterior análise em dendrograma, identificou a presença de 31 *clusters* entre os 34 isolados produtores de ESBL. Em resumo, a alta incidência de isolados clonalmente não relacionados, pertencentes aos grupos filogenéticos A e B1, de baixa virulência, sugere que cepas comensais de *E. coli* podem adquirir genes de resistência do tipo *bla*_{CTX-M} por transferência horizontal, contribuindo no estabelecimento e no prognóstico de infecções extra-intestinais, principalmente do trato urinário.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Infecções extra-intestinais. Infecções do trato urinário (ITU). ESBL. CTX-M. Fatores de virulência. Grupos filogenéticos.

ABSTRACT

PAIVA, A. L. B. C. **Characterization of extended-spectrum β -lactamases and phylogenetic groups in *Escherichia coli* strains recovered from patients at a university hospital in São Paulo.** 2011. 116 p. Ph. D. Thesis (Microbiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Escherichia coli can produce both intestinal and extraintestinal community- or nosocomial-acquired infection, being the main agent of urinary tract infection (UTI). The aim of this study was to characterize the extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production, phylogenetic groups, and clonal relationship among *E. coli* clinical isolates recovered from inpatients and outpatients admitted at a university hospital in São Paulo, during 2005 to 2007. Six percents (34/562) *E. coli* isolates were characterized as ESBL producers, being associated exclusively to extraintestinal infections in both inpatients (10/28, 36%) and outpatients (18/28, 64%), of which 56% (19/34) were recovered from urine cultures. ESBL-producing *E. coli* exhibited a multidrug-resistant phenotype with a resistance profile to ampicillin (100%), cephalotin (100%), cefotaxime (100%), ceftazidime (79%), sulphamethoxazole-trimethoprim (62%), gentamicin (56%), ciprofloxacin (50%), and amikacin (6%), and remaining susceptible to imipenem. In this regard, ESBL production was associated with the presence of *bla*_{CTX-M-2} (94%, 32/34), *bla*_{CTX-M-15} (3%, 1/34) and *bla*_{CTX-M-1} (94%, 32/34) genes. On the other hand, low-virulence phylogenetic groups B1 (53%, 18/34) and A (18%, 6/34) were predominant over high-virulence phylogenetic groups B2 (12%, 4/34) and D (18%, 6/34), among ESBL-producing *E. coli* isolates studied. In fact, *pap*, *cnf1*, *sfa*, *hly*, and *iuc* virulence genes associated with adhesion, invasion and dissemination were not identified. Finally, genotyping by PFGE (using *Xba*I restriction) with subsequent cluster analysis (dendrogram) revealed the presence of 31 cluster among 34 ESBL-producing *E. coli*. In summary, the high prevalence of clonally unrelated ESBL-producing *E. coli* belonging to low-virulence phylogenetic groups A and B1 suggest that commensal *E. coli* can acquire *bla*_{CTX-M}-like resistance genes through horizontal gene transfer, contributing to the establishment and outcome of extraintestinal infections, mainly in the urinary tract.

Key-words: *Escherichia coli*. Extraintestinal infections. Urinary tract infections (UTIs). ESBL. CTX-M. Virulence factors. Phylogenetic groups.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

