



**Universidade da Beira Interior**  
**Faculdade de Ciências da Saúde**

***Escherichia coli* e a resistência antibiótica: Uma análise do padrão de evolução da resistência da *Escherichia coli* aos antibióticos no distrito de Castelo Branco, de 2006 a 2008**

**Mídana Felismino da Silva**

Dissertação para obtenção do grau  
de Mestre em Medicina

Covilhã, Junho de 2009



**Universidade da Beira Interior  
Faculdade de Ciências da Saúde**

***Escherichia coli* e a resistência antibiótica: Uma análise do padrão de evolução da resistência da *Escherichia coli* aos antibióticos no distrito de Castelo Branco, de 2006 a 2008**

**Mídana Felismino da Silva**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Trabalho efectuado sob a orientação de,

**Dr. Vitor Branco**

Covilhã, Junho de 2009

## **FRASE**

*“But I would like to sound one note of warning.... It is not difficult to make microbes resistant to penicillin in the laboratory by exposing them to concentrations not sufficient to kill them, and the same thing has occasionally happened in the body.”*

**A. Fleming**

## DEDICAÇÃO

Aos meus Pais **Felismino** e **Ilídia “Nené”** pelo amor e apoio de sempre em todas as etapas da minha vida e por me ajudarem a dar os primeiros passos à conquista deste ideal.

Aos meus irmãos **Rufner** e **Kwame** e às minhas irmãs **Geralda**, **Hina** e **Tcholona**, pelas suas amizades e companheirismo.

À minha adorada Namorada e companheira pela sua compreensão, amor e constante produção de felicidade na minha vida.

À Aquele que há mais de dois mil anos atrás deu a sua vida por nós!

## **AGRADECIMENTOS**

Os meus mais profundos agradecimentos são dirigidos ao Dr. Vítor Branco e ao Dr. José Luís Grañeda pelo rigor científico, sentido crítico e pelo inestimável apoio, estímulo e amizade que me dispensaram, bem como o empenho em criar as condições necessárias à efectivação deste trabalho.

À Dr.<sup>a</sup> Maria Tavares e à Dr.<sup>a</sup> Mariana do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Amato Lusitano pelas inúmeras horas dispendidas em me organizar e disponibilizar os arquivos, assim como por todo o incentivo e disponibilidade demonstrados.

À toda a equipa dos Serviços de Patologia Clínica do Hospital Amato Lusitano e do Centro Hospitalar da Cova da Beira, os meus agradecimentos pela oportunidade, interesse e amizade que me proporcionaram.

Agradeço a todos os Professores, colegas e restantes elementos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, de quem recebi simpatia e amizade.

Aos meus amigos e familiares agradeço todo o apoio que me permitiu abraçar uma carreira que, sendo exigente, os torna ainda mais estimados.

À Fundação Calouste Gulbenkian agradeço o suporte financeiro que me permitiu ter uma formação para a vida.

Um muito obrigado também para todos os que, durante a realização deste trabalho, me privilegiaram com a sua amizade.

## RESUMO

O aumento inabalável da resistência da *E. coli* aos antibióticos e as diferenças geográficas na sua prevalência levam com que seja imprescindíveis os estudos locais de prevalências e das tendências evolutivas das resistências.

**Objectivo:** Analisar a prevalência e as tendências evolutivas da resistência da *E. coli* no distrito de Castelo Branco de Janeiro de 2006 a Dezembro de 2008

**Método:** Trata-se de um estudo descritivo com uma abordagem quantitativa. Foram analisadas todos os resultados dos testes de sensibilidade aos antibióticos efectuados nos laboratórios de microbiologia do Centro Hospitalar da Cova da Beira e do Hospital Amato Lusitano, obtidos mediante sistemas automatizados para identificação e antibiograma (VITEK®) durante aquele período. Os isolados foram incluídos com base no perfil de sensibilidade e no tempo de isolamento.

**Resultados:** Foram estudados 1138 isolados no HAL e 1714 no CHCB. Observou-se uma elevada taxa de resistência da *E. coli* à penicilina (> 40%) em ambos os hospitais durante os três anos em causa. Entre os isolados no CHCB observou-se uma tendência decrescente nas taxas de resistências entre 2007 e 2008, à excepção da taxa de resistência à ciprofloxacina que tende a aumentar. Relativamente a resistência dos isolados no HAL, observou-se uma tendência à estabilizar porém, as taxas de resistência à ampicilina e à gentamicina tendem a aumentar. No CHCB observou-se também uma reemergência dos isolados da *E. coli* produtores de ESBL. No HAL, apesar de se verificar uma ligeira diminuição na sua taxa de prevalência, esta ainda permanece elevada.

**Conclusão:** O presente trabalho revelou as diferenças nas variações evolutivas das taxas de prevalência da resistência da *E. coli* entre duas regiões do distrito de

Castelo Branco à semelhança das encontradas em outras investigações em diferentes regiões e países. Comprovando a necessidade de desenvolvimento de um compromisso local constante, no combate as resistências bem como na adaptação dos protocolos de tratamentos às realidades locais.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*, Resistência antibiótica, taxa de prevalência, tendências evolutivas, Produtores de ESBL, CHCB, HAL, Castelo Branco, tratamento empírico.

## ABSTRACT

**Background:** The unwavering increase of resistance of *E. coli* to antibiotics and the geographical differences in its prevalence entail the necessity for local studies of its prevalence and trends of resistance.

**Objective:** To assess the prevalence and trends of resistance of *E. coli* in the district of Castelo Branco from January 2006 to December 2008.

**Method:** This is a descriptive study with a quantitative approach. All the results of tests of sensitivity to antibiotics made in the microbiology laboratories of Cova da Beira Hospital Center and the Hospital Amato Lusitano, obtained by automated systems for identification and antibiogram (Vitek<sup>®</sup>) during that period was analyzed. The isolates were included based on the profile of sensitivity and time of isolation.

**Results:** The total of 1138 Isolates in HAL and 1714 in CHCB were studied.

There was a high rate of resistance of *E. coli* to penicillin (> 40%) in both hospitals throughout the three year period. Among the isolates in CHCB there was a decreasing trend in resistance rates except for the rate of resistance to ciprofloxacin which tends to increase. Among the isolates in HAL there was a tendency to stabilize but the rates of resistance to ampicilin and gentamicin tends to increase. In CHCB there was also a reemerging of the isolates of ESBL-producing *E. coli*. In HAL, although there was a slight decrease, its prevalence rate remains high.

**Conclusion:** This study revealed differences in evolutionary changes in the prevalence of resistance of *E. coli* between two regions in the district of Castelo Branco as founded in the other investigations in different regions and countries.

This demonstrates the need for development of a constant local effort in combating the resistance and adaptation of therapeutics protocols to local realities.

**Keyword:** *Escherichia coli*, Antibiotics resistance, prevalence rate, evolution trends, ESBL-producing, CHCB, HAL, Castelo Branco, empirical therapy.

# Índice

FRASE .....	i
DEDICAÇÃO .....	ii
AGRADECIMENTOS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT .....	vi
Índice de Tabelas .....	ix
Índice de Gráficos.....	ix
Abreviaturas .....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJECTIVO DO ESTUDO .....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	3
3.1. Âmbito do estudo e fonte de dados .....	3
3.2. Colecção de dados.....	4
3.3. A escolha dos antibióticos a considerar.....	4
3.4. Eliminação dos isolados repetidos.....	5
3.5. Análise de dados .....	6
4. RESULTADOS .....	7
4.1. Resistências antibióticas dos isolados da <i>E. coli</i> no CHCB.....	7
4.2. Resistências antibióticas dos isolados da <i>E. coli</i> no HAL.....	12
5. DISCUSSÃO .....	15
6. CONCLUSÃO.....	18
7. REFERÊNCIAS .....	20

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Prevalência da resistência antibiótica da <i>E. coli</i> isolados no CHCB .....	<b>8</b>
<b>Tabela 2.</b> Prevalência da resistência da <i>E. coli</i> isolados no CHCB, por produto de origem.....	<b>10</b>
<b>Tabela 3.</b> Variação de prevalência da <i>E. coli</i> produtoras das ESBL no CHCB .....	<b>11</b>
<b>Tabela 4.</b> Prevalência da resistência antibiótica das <i>E. coli</i> isolados no HAL.....	<b>13</b>
<b>Tabela 5.</b> Prevalência da resistência das <i>E. coli</i> isolados no HAL, por produto de origem .....	<b>14</b>

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Variação da taxa de prevalência da resistência da <i>E. coli</i> no CHCB .....	<b>9</b>
<b>Gráfico 2.</b> Variação de prevalência da <i>E. coli</i> produtoras das ESBL no CHCB .....	<b>11</b>
<b>Gráfico 3.</b> Variação da taxa de prevalência da resistência da <i>E. coli</i> no HAL.....	<b>14</b>
<b>Gráfico 4.</b> Variação de prevalência da <i>E. coli</i> produtoras das ESBL no HAL .....	<b>15</b>

## Abreviaturas

CHCB – Centro Hospitalar Cova da Beira

ESBL –  $\beta$ -lactamases de Espectro Alargado (sigla em Inglês)

*E. coli* – *Escherichia coli*

HAL – Hospital Amato Lusitano

MAC – amoxicilina/ácido clavulânico

Pip/Tazo – Piperacilina/Tazobactam

TMP/SMX – Trimetoprim/Sulfametoxazol

## 1. INTRODUÇÃO

---

É legítimo afirmar que a descoberta e o uso dos antibióticos foi um dos avanços científicos, no século XX, que mais contribuiu para melhoria da saúde tanto humana como animal. A confiança gerada por estes, outrora designados medicamentos milagre, foram expressos com optimismo de quem previa o fim das doenças infecciosas,<sup>1,2</sup> o que ainda está para acontecer tendo em conta a capacidade evidenciada pelos microorganismos em adiá-lo.

A resistência aos antibióticos é manifestamente uma das principais causas da reemergência das doenças infecciosas e do aumentando da morbidade, mortalidade e custos em saúde decorrentes da redução das opções terapêuticas eficazes contra os microorganismos resistentes.<sup>3-6</sup> Tal aumento de resistência dos microorganismos aos antibióticos comumente usados é, actualmente, uma das maiores preocupações da saúde pública tanto nos países desenvolvidos como nos subdesenvolvidos. As diversas acções internacionais conjuntas que têm sido desenvolvidas nas últimas décadas, com vista à vigilância e controlo das resistências dos microorganismos aos antibióticos, são reflexo da importância que se atribui a este fenómeno a nível mundial.

Entretanto, o aparecimento de resistência aos antibióticos é anterior ao desenvolvimento da penicilina. Prova disso foi a identificação, na espécie *Escherichia coli*, da primeira  $\beta$ -lactamase muito antes da introdução da penicilina na prática clínica.<sup>7</sup> Este facto sugere uma resistência, possivelmente desenvolvida à custa da mutação espontânea ou da transferência horizontal dos genes da resistência entre estes e os microorganismos produtores de  $\beta$ -lactâmicos encontrados no ambiente.<sup>8,9</sup> Todavia, com o aparecimento dos antibióticos sintéticos e semi-sintéticos e o seu uso intensivo e generalizado, ocorreu o

aumento da resistência e da multi-resistência aos antibióticos, indiciando deste modo a existências numa relação directa entre o uso destas substâncias e o aumento da resistência.<sup>10,11</sup>

A *Escherichia coli*, um microrganismo ubíquo, é o mais frequente entre os microrganismos isolados no meio hospitalar,<sup>12,13</sup> sendo também o mais proeminente agente etiológico das infecções urinárias, das septicemias e das meningites bacterianas nos neonatos.<sup>14-17</sup> Alguns estudos apontam-na como uma das bactérias mais isoladas nas infecções cirúrgicas.<sup>18</sup> Actualmente, existem evidências que reforçam a apreensão sobre o aumento da capacidade da resistência da *E. coli* aos agentes tradicionalmente usados nas afecções por ela causada, bem como, a existência de diferenças geográficas e temporais da sua taxa de prevalência da resistência aos antibióticos.<sup>19-25</sup>

Na prática clínica, muitos casos de infecções requerem um tratamento empírico, o que aponta para a necessidade de conhecimento prévio da prevalência da resistência dos microrganismos. Também se revela importante o conhecimento das tendências e da evolução das resistências para se poder monitorizar as políticas de combate já existentes e adequar as estratégias de prevenção bem como a adaptação dos protocolos de tratamento.

Ainda que seja impossível evitar o desenvolvimento das resistências – tendo em conta a sua dependência da capacidade genética das bactérias, bem como das predisposições destas para a transferência dos genes da resistência entre estirpes e espécies afins ou entre estirpes e espécies diferentes<sup>26</sup> – estas podem ser minimizadas,<sup>27</sup> mediante instituição das políticas de vigilância e de controlo eficazes, o que por sua vez, exige os estudos das prevalências e das evoluções das resistências locais.

Admite-se hoje que, a menos que os problemas das resistências sejam detectados enquanto emergem e accionados mecanismos para as deter, a sociedade poderá ver-se de novo a braços com as doenças actualmente curáveis e que se tornarão intratáveis como consequências destes fenómenos da resistência.

## **2. OBJECTIVO DO ESTUDO**

---

Baseado no que aqui foi exposto este trabalho teve como objectivo, analisar a prevalência e as tendências evolutivas das resistências da *E. coli* aos antibióticos no distrito de Castelo Branco, de Janeiro de 2006 a Dezembro de 2008. Pretende-se contribuir para melhorar o conhecimento das resistências neste local, uma vez que, como revelam os estudos recentes, as prevalências das resistências dos microrganismos aos antibióticos apresentam diferenças geográficas e temporais como consequência das dissemelhanças contextuais na ocorrência dos factores determinantes do seu aumento.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

---

Trata-se de um estudo descritivo com uma abordagem quantitativa.

### **3.1. Âmbito do estudo e fonte de dados**

Foram analisados todos os registos dos testes de sensibilidade aos antibióticos dos isolados da *E. coli*, efectuados nos laboratórios de microbiologia do Hospital Amato Lusitano e no Centro Hospitalar da Cova da Beira (Hospitais Pêro da Covilhã e do Fundão) entre o princípio de Janeiro de 2006 e finais de Dezembro de 2008.

Os testes de sensibilidade supracitados foram efectuados mediante sistemas automatizados para identificação e antibiograma (VITEK® BioMerieux). Os pontos

limites da concentração inibitória mínima foram estabelecidos de acordo com as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>28</sup> dos Estados Unidos da América. Os resultados foram categorizados como sensíveis (S), resistência intermédia (I) e resistentes (R). Os antibióticos testados foram definidos com base nos portefólios terapêuticos disponíveis nos respectivos hospitais.

### **3.2. Colecção de dados**

Os dados foram extraídos e estratificados de acordo com o local de isolamento, por ano de isolamento e por produto de origem do isolado (isto é, *urocultura*, *hemocultura* que inclui líquido céfalo-raquidiano, *pus* que inclui bÍlis e exsudado das feridas e por fim a *expectoração* que também inclui os lavados bronco-alveolares). Os dados não foram diferenciados pela origem hospitalar ou comunitária das estirpes, uma vez que não foi possível precisar os locais de aquisição das infecções. Os isolados com perfis de resistência intermédia (I) foram contabilizadas como resistentes.

Nos registos em que foram encontradas, em simultâneo, os resultados obtidos de forma automática pelo sistema (VITEK<sup>®</sup>) e os obtidos mediante a correcção feita pelo Técnico e/ou Médico, foram considerados apenas estes últimos.

### **3.3. A escolha dos antibióticos a considerar**

A escolha dos antibióticos a considerar para este estudo, a partir do portefólio de todos os testados, baseou-se na necessidade de obter dados anuais comparáveis, uma vez que parte significativa dos resultados de antibiograma se encontra em arquivos de papel e com algumas diferenças nas listagens impressas dos antibióticos testados. Optou-se então por considerar apenas os

antibióticos que constaram em todos os impressos dos registos analisados e que foram os seguintes:

- a) **Derivados de penicilinas:** Ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico (MAC), piperacilina/tazobactam (Pip/tazo).
- b) **Cefalosporinas:** Cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima.
- c) **Fluoroquinolonas:** Ciprofloxacina.
- d) **Aminoglicosídeos:** Amicacina, gentamicina.
- e) **Carbapenemos:** Imipenem, meropenem.
- f) Trimetoprim/Sulfametoxazol (TMP/SMX)

### **3.4. Eliminação dos isolados repetidos**

Estudos recentes mostram que nenhum dos critérios de inclusão/exclusão de isolados para o estudo da resistência aos antibióticos é suficientemente sensível para assegurar a qualidade dos dados,<sup>29-32</sup> precisando-se portanto, de estudos mais alargados para se obter um critério mais consensual. Todavia, para minimizar o viés derivado da duplicação dos isolados, decidiu-se pela integração dos critérios de eliminação dos isolados repetidos com base nos padrões da sensibilidade e dos com base no tempo de isolamento dos microrganismos.

Para o efeito procedeu-se de seguinte modo:

- ✓ Nos casos em que existiram registos de isolados consecutivos no mesmo indivíduo com intervalo inferior a 30 dias e perfis de sensibilidade idênticos, independentemente do produto de origem, foi incluído apenas um. Consequentemente, quando dois isolados consecutivos no mesmo indivíduo tiveram um intervalo de tempo de, pelo menos, 30 dias, independentemente da semelhança do perfil da sensibilidade, foram

considerados isolados diferentes e ambos incluídos. Estabeleceu-se 30 dias como tempo mínimo com base em estudos que demonstraram a existência de probabilidade reduzida de duplicação dos isolados quando dois isolados consecutivos são contabilizados como diferentes, após este período de tempo.<sup>33</sup> Este facto deve-se, provavelmente, à grande porção dos exames de monitorização da eficácia terapêutica que são efectuadas ainda neste intervalo. Encarando o facto de que o microrganismo em causa não modifica o seu padrão de susceptibilidade no decurso do tratamento, foram considerados diferentes dois isolados consecutivos no mesmo indivíduo que apresentaram perfis de sensibilidade distintos e daí, ambos incluídos.

### **3.5. Análise de dados**

O tratamento dos dados foi efectuado através de Microsoft<sup>®</sup> Excel 2007. Pela indispensabilidade de obtenção de resultados com interesse prático tanto para prevenção das resistências como para o apoio à decisão durante os tratamentos empíricos, as taxas de prevalência foram calculadas em dois moldes. Primeiro, foram calculadas as taxas de prevalência da resistência global, isto é, foram utilizados como numeradores a soma total dos isolados com perfis de resistência a um determinado antibiótico durante o período de um ano e, o denominador, a soma total dos isolados estudados no mesmo ano. Segundo, calculou-se as taxas de prevalência da resistência à um determinado antibiótico de acordo com o produto de origem dos isolados, daí foram utilizados como numeradores a soma total dos isolados com perfil de resistência à um antibiótico em específico entre os isolados num determinado produto durante o período de um ano e, o denominador, a soma total dos isolados no mesmo produto neste período.

## 4. RESULTADOS

---

### 4.1. Resistências antibióticas dos isolados da *E. coli* no CHCB

Foram estudadas 1714 *E. coli* isolados e testados no laboratório do CHCB nos três anos, que compreenderam 508 isolados em 2006, 554 isolados em 2007 e 652 isolados em 2008.

Em termos globais, de 2007 a 2008 observou-se uma diminuição da prevalência da resistência da *E. coli*. No entanto, ocorreu um aumento de prevalência das resistências à penicilina em 5 pontos percentuais no ano 2007 relativamente ao ano anterior – em que era de 43% (Tabela 1. e Gráfico 1.). Os isolados da expectoração e de pus, foram os que revelaram as taxas de prevalência da resistência mais elevadas (Tabela 2.). Constatou-se tal perfil – de maior resistência entre os isolados da expectoração e de pus – em praticamente todos os antibióticos durante os três anos analisados. Os isolados de sangue e da urina apresentaram prevalências da resistência à ampicilina, confrontáveis. Ainda que nos dois primeiros anos as taxas de prevalência mais altas derivaram dos isolados de urina, em 2008 a taxa de resistência à penicilina entre os isolados de sangue (55%) foi superior à dos isolados de urina (44%) como consequência de um aumento, em dois anos, de 18 pontos percentuais no caso dos isolados de sangue, contra um aumento de 4 pontos percentuais no caso dos isolados da urina. Alias, um padrão de evolução que também se observou nos perfis de resistência destes microrganismos aos outros antibióticos (Tabela 2.).

A prevalência global da resistência tanto à amoxicilina/ácido clavulânico como à Piperacilina/tazobactam foram inferiores a 10% durante os três anos, com este ultimo a apresentar, uma redução de 7 pontos percentuais dos isolados

resistentes (de 8% em 2006 a 1% em 2008). Ao contrário do primeiro que aumentou 1 ponto percentual (8% em 2006 e 9% em 2008). (Tabela 1.)

**Tabela 1.** Prevalência da resistência antibiótica da *E. coli* isolados no CHCB (valores em %)

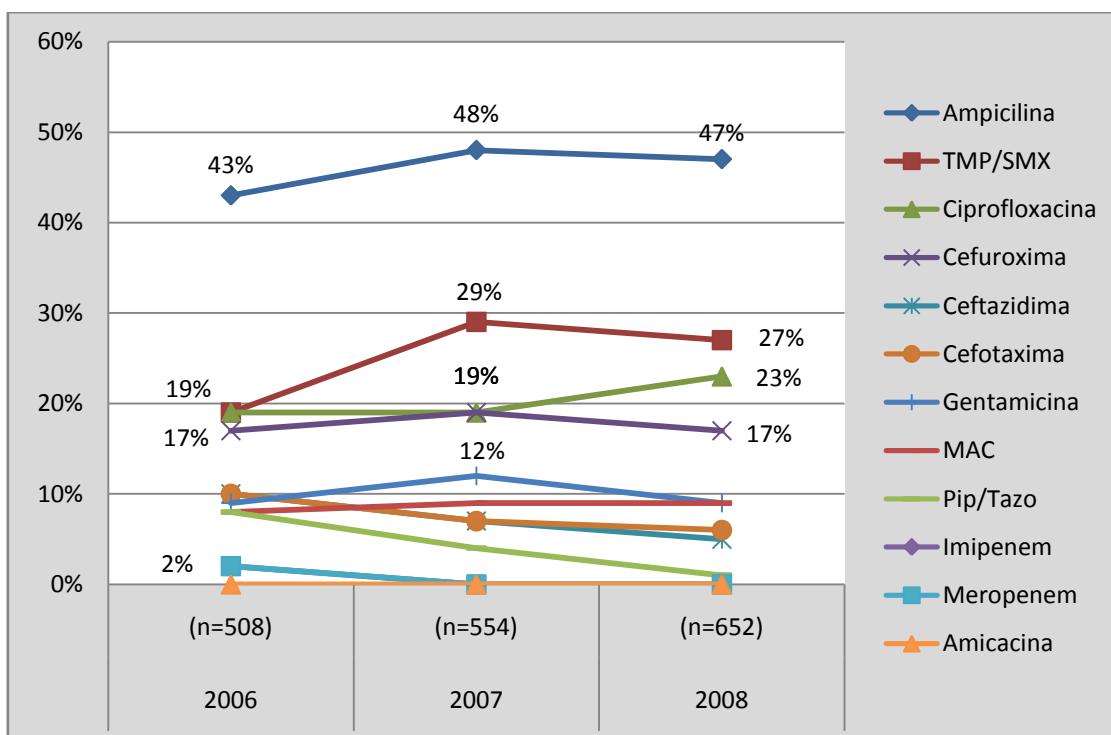
<b>Antibióticos</b>	<b>2006 (n=508)</b>	<b>2007 (n=554)</b>	<b>2008 (n=652)</b>
Ampicilina	43	48	47
Trimetoprim/Sulfametoxazol	19	29	27
Ciprofloxacina	19	19	23
Cefuroxima	17	19	17
Gentamicina	9	12	9
Amoxicilina/ác. Clavulânico	8	9	9
Ceftazidima	10	7	5
Cefotaxima	10	7	6
Piperacilina/Tazobactam	8	4	1
Imipenem	2	0	0
Meropenem	2	0	0
Amicacina	0	0	0

Em 2008, ocorreu uma diminuição de 5 pontos percentuais na taxa de prevalência da resistência às cefalosporinas de 3ª geração (ceftazidima e cefotaxima) relativamente ao valor observado em 2006 (10%). Todavia, houve um aumento em 2008 da taxa de prevalência da resistência a estes agentes entre os isolados de sangue e da expectoração, comparativamente ao valor de 2007 (Tabela 2.). A prevalência da resistência à cefuroxima atingiu 19% em 2007 para no ano seguinte decrescer para 17%. Apresentando uma taxa de prevalência da resistência por produto, em 2008, de 17%, 17%, 16% e 32% relativas aos isolados de pus, da urina, de sangue e da expectoração, respectivamente.

A prevalência da resistência à ciprofloxacina foi a que mais aumentou no último ano analisado. Manteve-se estável em 19%, nos dois primeiros anos,

aumentando depois para 23% em 2008. As taxas de prevalência da resistência nos quatro produtos foram superiores a 20%, dos quais os isolados da expectoração e de sangue apresentaram as taxas mais elevadas, 54% e 32%, respectivamente.

**Gráfico 1.** Variação da taxa de prevalência da resistência da *E. coli* – CHCB



**Legenda:** n, número total dos isolados de *E. coli*; **TMP/SMX**, trimetoprim/sulfametoxazol; **MAC**, amoxicilina/ácido clavulânico; **Pip/Tazo**, piperacilina/tazobactam.

Os isolados em 2007 e 2008 apresentaram sensibilidade total aos carbapenemos (imipenem e meropenem), porém, em 2006 houve 2% dos isolados com perfil da resistência a estes dois agentes. Tendo as taxas de prevalência da resistência por produto de, 10% dos isolados da expectoração, 2% dos isolados de pus e 2% dos da urina. (Tabela 2.)

Nenhum dos isolados estudados revelou resistência a amicacina durante os três anos, ao contrário do que aconteceu à gentamicina cuja resistência atingiu 12% em 2007 decrescendo depois para 9% em 2008. Ainda, apresentando uma taxa

de prevalência da resistência dos isolados de sangue, de 13% em 2008, o que corresponde a um aumento de 9 pontos percentuais relativamente ao seu valor em 2006.

**Tabela 2.** Prevalência da resistência da *E. coli* isolados no CHCB, por produto de origem (valores %)

Antibiótico	2006				2007				2008			
	Pus n=45	Urina n=394	Hem n=48	Expc n=21	Pus n=44	Urina n=437	Hem n=57	Expc n=16	Pus n=64	Urina n=499	Hem n=67	Expc n=22
AMP	60	40	37	76	43	48	44	94	48	44	55	86
MAC	13	7	8	29	11	10	0	31	8	9	12	18
Pip/Tazo	9	2	0	5	2	0	0	0	2	0	1	0
CFR	24	14	19	48	27	19	7	6	17	17	16	32
CFT	16	8	9	30	8	8	0	0	9	6	14	32
CTZ	17	9	9	30	6	9	0	0	5	4	9	14
IMI	2	2	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
MER	2	2	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
GNT	18	7	4	24	11	12	7	19	12	7	13	18
AMI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CIP	40	16	15	43	25	19	9	38	27	20	32	54
TMP/SMX	31	18	10	19	27	28	35	31	25	24	34	54

**Legenda:** n, número total dos isolados por produto; **Hem**, hemocultura; **Expc**, expectoração; **CHCB**, centro hospitalar cova da beira; **AMP**, ampicilina; **MAC**, amoxicilina/ácido clavulânico; **Pip/Tazo**, piperacilina/tazobactam; **CFR**, cefuroxima; **CFT**, cefotaxima; **CTZ**, ceftazidima; **IMI**, imipenem; **MER**, meropenem; **GNT**, gentamicina; **AMI**, amicacina; **CIP**, ciprofloxacina; **TMP/SMX**, trimetoprim/sulfametoxazol.

A resistência ao Trimetoprim/Sulfametoxazol teve uma subida acentuada de 10 pontos percentuais entre 2006 e 2007 (i.e. de 19% para 29%) declinando depois ligeiramente para 27% em 2008. As taxas de prevalência da resistência dos isolados dos quatro produtos, em 2007 e 2008, foram superiores a 20%.

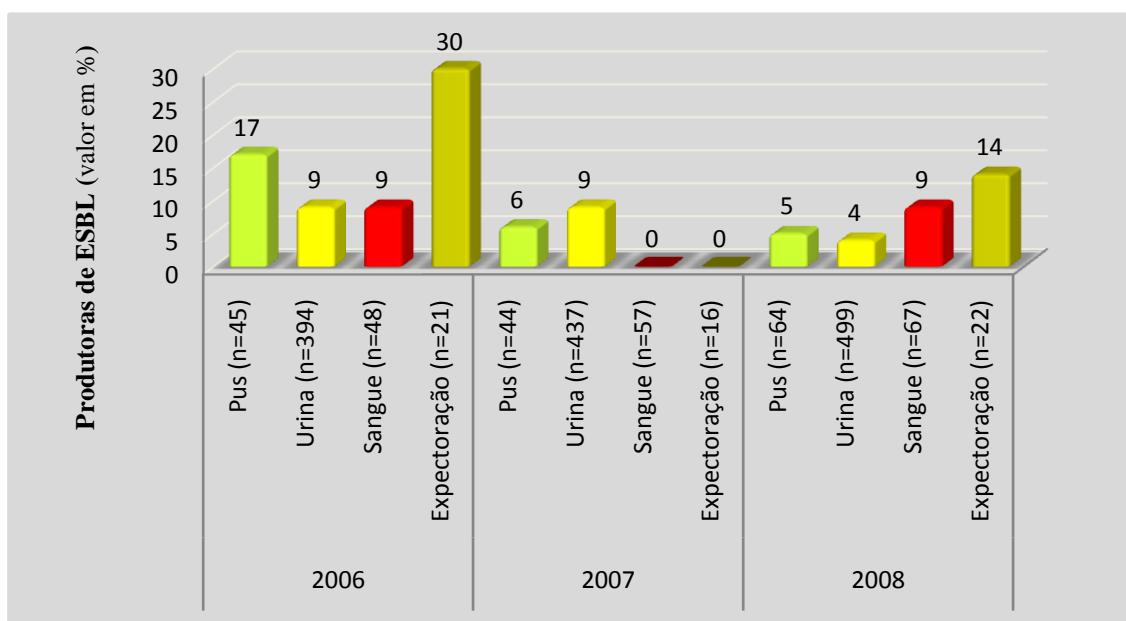
Relativamente a prevalência dos isolados da *E. coli* produtoras de  $\beta$ -lactamase de espectro alargado (ESBL, sigla em inglês) verificou-se uma diminuição acentuada entre 2006 e 2007, principalmente nas amostras de sangue e da expectoração que atingiu os 0% (Tabela 3.) e (Gráfico 2.), porém, após esta diminuição para os

níveis mais baixos em 2007, reemergiu em 2008 atingindo 9% no sangue e 14% na expectoração. Por outro lado, prosseguem as tendências decrescentes das suas taxas de prevalência entre os isolados da urina e de pus.

**Tabela 3.** Variação de prevalência da *E. coli* produtoras das ESBL no CHCB

Anos	Produtos	Total dos isolados	% das produtoras de ESBL%
2006	Pus	45	17
	Urina	394	9
	Sangue	48	9
	Expectoração	21	30
2007	Pus	44	6
	Urina	437	9
	Sangue	57	0
	Expectoração	16	0
2008	Pus	64	5
	Urina	499	4
	Sangue	67	9
	Expectoração	22	14

**Gráfico 2.** Variação de prevalência da *E. coli* produtoras das ESBL no CHCB



#### **4.2. Resistências antibióticas dos isolados da *E. coli* no HAL**

No HAL foram estudados um total 1138 isolados de *E. coli* sendo 381 isolados em 2006, a mesma quantidade de isolados que em 2007 e 376 em 2008.

A tendência global de prevalência da resistência, entre 2007 e 2008, é de estabilizar em praticamente todos os antibióticos estudados. A resistência à ampicilina apresentou uma taxa de prevalência de 49% em 2006, 53% em 2007 e 56% em 2008 (Tabela 4.). Tendo as taxas de prevalência de resistência superiores a 45% em todos os produtos (Tabela 5.)

As prevalências da resistência à amoxicilina/ácido clavulânico, trimetoprim/sulfametoxazol e ciprofloxacina apresentaram evoluções idênticas no decurso dos três anos, sendo ambas as taxas de prevalências superiores a 20% e inferiores a 30% (Gráfico 3.), com aumento de 4 pontos percentuais em dois anos, nos casos da amoxicilina/ácido clavulânico e trimetoprim/sulfametoxazol, e de 3 pontos percentuais no caso da ciprofloxacina, reflectindo as elevadas taxas de prevalência da resistência nos quatro produtos durante os três anos (Tabela 5.). Porém, vale a pena destacar a tendência decrescente da taxa de prevalência de resistência à amoxicilina/ácido clavulânico que diminuiu 1 ponto percentual relativamente ao ano precedente (2007). Este facto contrasta com as tendências crescentes verificadas para trimetoprim/sulfametoxazol e a ciprofloxacina.

A prevalência da resistência às cefalosporinas de 3ª geração (cefotaxima e ceftazidima), apesar de ter revelado um aumento em 2007, de 7 pontos percentuais, apresenta agora uma tendência a decrescer analogamente ao que se observa entre os isolados da expectoração (Tabela 5.). Relativamente a cefuroxima, mantêm-se a tendência ao aumento da resistência embora pouco pronunciado. Entretanto, em 2008, verificou-se uma taxa de prevalência da

resistência aos três agentes, entre os isolados de sangue e da expectoração superiores a 20%.

**Tabela 4.** Prevalência da resistência antibiótica da *E. coli* isolados no HAL (valores %)

<b>Antibióticos</b>	<b>2006 (n=381)</b>	<b>2007 (n=381)</b>	<b>2008 (n=376)</b>
Ampicilina	49	53	56
Amoxicilina/ác. Clavulânico	24	29	28
Trimetoprim/Sulfametoxazol	23	25	27
Ciprofloxacina	22	23	25
Cefuroxima	14	18	19
Ceftazidima	10	17	16
Cefotaxima	10	17	16
Gentamicina	10	12	16
Piperacilina/Tazobactam	9	11	9
Amicacina	0	1	0
Imipenem	0	0	0
Meropenem	0	0	0

A prevalência da resistência à gentamicina, embora inferior a 20%, tem vindo a aumentar, tendo inclusivamente apresentado um aumento de 4 pontos percentuais em 2008, sendo as taxas de resistências por produtos superiores a 10% no mesmo ano. Em contraposição, não se observou a resistência à amicacina em 2008, apesar de em 2006 e em 2007 terem sido isolados estirpes resistentes a este agente (Tabela 5.).

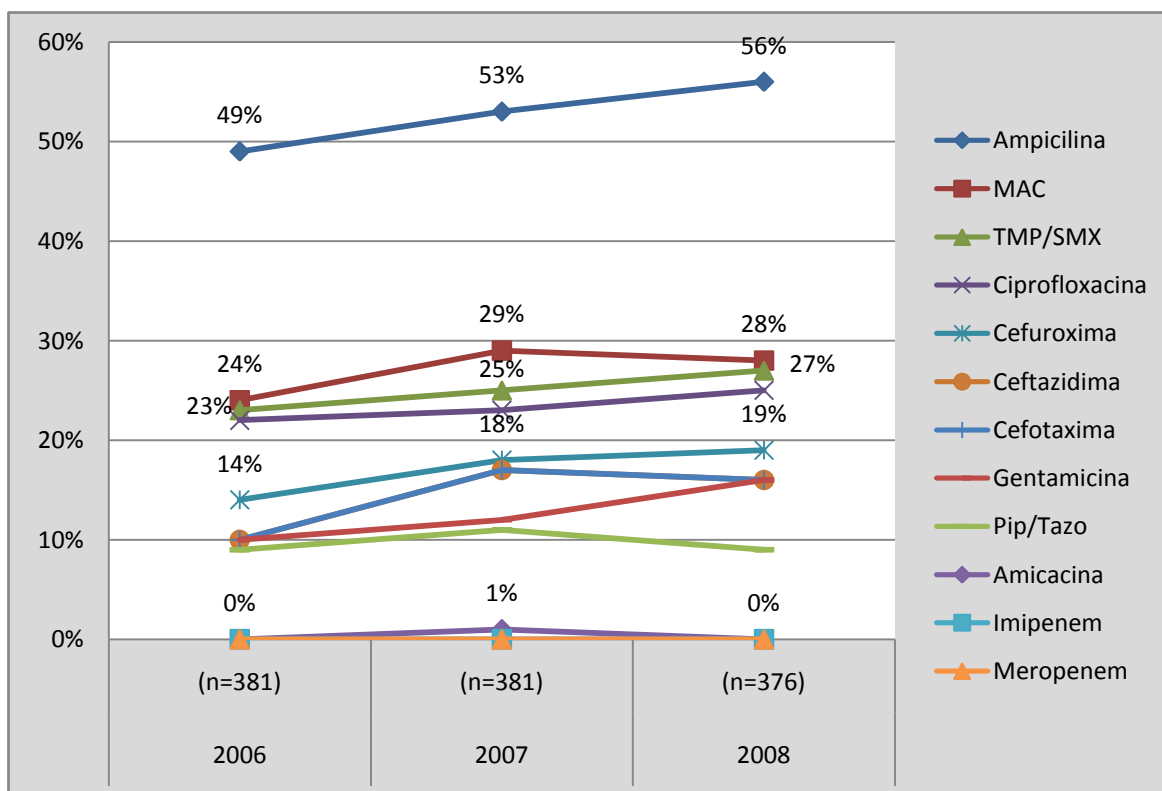
Em 2008, foram isolados da expectoração 2% das estirpes da *E. coli* resistentes a imipenem e a meropenem. Por outro lado, a taxa de resistência à piperacilina/tazobactam baixou 2 pontos percentuais, relativamente ao ano 2007, sendo de 9% em 2008.

**Tabela 5.** Prevalência da resistência da *E. coli* isolados no HAL, por produto de origem (valores %)

Antibiótico	2006				2007				2008			
	Pus n=51	Urina n=250	Hem n=34	Expc n=46	Pus n=58	Urina n=231	Hem n=34	Expc n=58	Pus n=30	Urina n=262	Hem n=19	Expc n=65
AMP	39	49	35	70	45	50	50	72	53	53	47	69
MAC	18	21	21	50	21	25	21	57	17	25	37	43
Pip/Tazo	12	8	9	11	3	9	18	24	17	8	0	14
CFR	16	10	18	30	14	12	18	45	13	16	21	34
CFT	12	7	15	24	10	11	21	45	10	12	21	31
CTZ	14	7	15	24	12	11	21	45	10	13	21	31
IMI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
MER	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
GNT	12	8	15	20	7	8	9	38	13	13	16	28
AMI	0	0	3	0	2	0	0	2	0	0	0	0
CIP	24	19	26	28	14	19	21	47	23	22	26	35
TMP/SMX	25	23	9	30	21	25	29	28	33	29	16	22

**Legenda:** n, número total dos isolados por produto; **Hem**, hemocultura; **Expc**, expectoração; **HAL**, hospital Amato Lusitano; **AMP**, ampicilina; **MAC**, amoxicilina/ácido clavulânico; **Pip/Tazo**, piperacilina/tazobactam; **CFR**, cefuroxima; **CFT**, cefotaxima; **CTZ**, ceftazidima; **IMI**, imipenem; **MER**, meropenem; **GNT**, gentamicina; **AMI**, amicacina; **CIP**, ciprofloxacina; **TMP/SMX**, trimetoprim/sulfametoxazol.

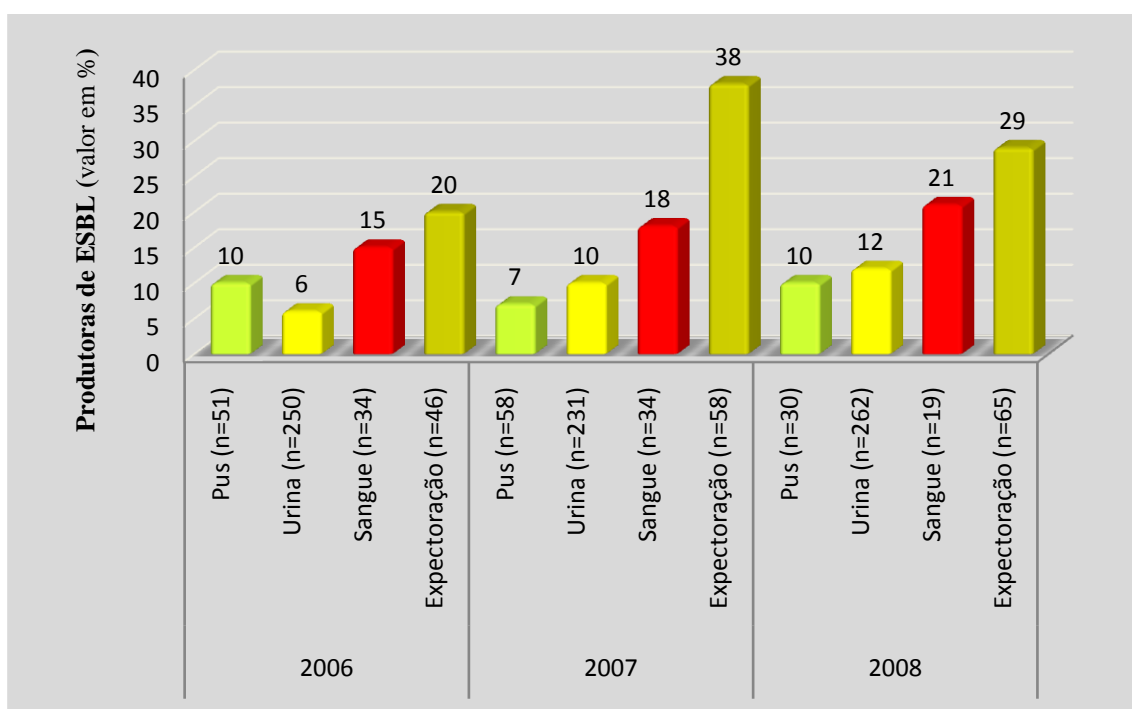
**Gráfico 3.** Variação da taxa de prevalência da resistência da *E. coli* – HAL



**Legenda:** n, número total dos isolados de *E. coli*; **TMP/SMX**, trimetoprim/sulfametoxazol; **MAC**, amoxicilina/ácido clavulânico; **Pip/Tazo**, piperacilina/tazobactam.

No HAL, a prevalência da resistência dos isolados da *E. coli* produtoras de ESBL, apresentou um padrão de aumento estável entre os isolados de sangue e da urina, durante os três anos. Em oposição à sua prevalência entre os isolados da expectoração, que aumentou 23 pontos percentuais entre 2006 e 2007, seguida de uma queda de 9 pontos percentuais, (29% em 2008) (Gráfico 4.).

**Gráfico 4.** Variação de prevalência da *E. coli* produtoras das ESBL no HAL



## 5. DISCUSSÃO

A existência de diferenças geográficas nas taxas de prevalência das resistências aos antibióticos bem como na sua evolução ao longo do tempo, apontam para a existência de interação complexa entre determinantes locais na sua gênese e evolução.

Neste estudo, em ambas as regiões do distrito de Castelo Branco que foram analisadas se destacou o aumento nas taxas de resistência à ampicilina entre 2006 e 2007, atingindo em 2008 uma prevalência de 47% no CHCB, com tendência decrescente e, de 56% no HAL com tendência crescente, apresentando igualmente taxas de prevalência de resistência, nos quatro produtos analisados, elevadas (superiores a 44% em 2008) em ambos os Hospitais. As taxas de prevalência da resistência à TMP/SMX e à ciprofloxacina foram superiores a 20% em 2008 nos dois locais, porém, nos isolados no CHCB, as taxas de prevalência revelaram tendência decrescente na resistência à TMP/SMX, em oposição à tendência crescente verificada em relação à ciprofloxacina, reflexo das taxas superiores a 20% observados nos quatro produtos em ambos os hospitais. Estes padrões, de maior resistência à penicilina seguida de TMP/SMX e de ciprofloxacina, são similares aos observados em estudos recentes noutros países<sup>34-36</sup> e análogos aos dados disponíveis sobre a resistência a estes agentes em Portugal,<sup>37</sup> embora com valores absolutos diferente, a ordenação das resistências é semelhante. No entanto estes resultados não são passíveis de comparação devido a diferenças metodológicas.

Os achados no presente estudo reforçam a necessidade de implementação de programas de combate e de monitorização das resistências, assentes em estudos periódicos de prevalência das resistências locais. Porquanto, sendo o padrão das resistências locais um dos principais factores a ter em conta durante a escolha dos antibióticos para tratamento empírico e, considerando as recomendações recentes da Health Protection Agency (HPA)<sup>38</sup> que estabeleceu uma taxa de resistência de 15% a 20%, acima das quais aconselha a mudar as classes dos antibiótico a serem considerados para o tratamento empírico, pode-se dizer que

urge formular protocolos de tratamento empírico das afecções causadas por *E. coli*, de forma dar prioridade aos agentes antimicrobianos com taxas de resistência inferiores a 20%, nestas duas localidades.

Por outro lado, observou-se um contraste nas taxas de prevalências das resistências à Amoxicilina/ácido clavulânico entre estes dois locais do distrito de Castelo Branco. No CHCB, existiu uma evolução de 8%, 9% e 9%, correspondentes às prevalências de resistência em 2006, 2007 e 2008, respectivamente. No HAL, a evolução, para os anos referidos, foi de 24%, 29% e 28%. Estas taxas de prevalência da resistência à amoxicilina/ácido clavulânico são as maiores diferenças encontradas entre os isolados nos dois Hospitais, por isso acredita-se que estas diferenças, possam ser atribuídas, pelo menos em parte, ao facto de existirem número significativo de isolados com perfil de resistência intermédia, ao antibiótico em causa apurados no HAL e que foram contabilizadas como resistentes neste estudo, todavia, considerando o limiar acima referido, a sua utilização para tratamento empírico no HAL deve ser questionada, uma vez que apresentou uma taxa de prevalência de resistência elevada (28% em 2008).

As prevalências de resistência às cefalosporinas, à gentamicina e à Piperacilina/tazobactam, embora com padrões evolutivos diferentes, apresentaram taxas abaixo dos 20% em ambos os hospitais, durante os três anos em causa. Em relação aos carbapenemos (imipenem e meropenem) e à amicacina, em 2008 não foram detectadas resistências (0%) a excepção de 2% dos solados da expectoração neste ano no HAL (Tabela 5.).

Por fim, as evoluções das proporções dos isolados da *E. coli* produtores de ESBL revelaram-se diferentes entre as duas localidades. Os isolados no CHCB

apresentaram a taxa mais elevada em 2006, como consequência da sua elevada prevalência entre os isolados de pus e expectoração, e em 2007 observaram-se as taxas mais baixas. Todavia, em 2008 reemergiram para 5%, 8%, 9% e 14%, relativas às taxas de prevalência nos isolados de pus, da urina, de sangue e da expectoração, respectivamente (Gráfico 2.). Em contraposição, no HAL verificou-se as taxas mais baixas em 2006 e as mais elevadas em 2007 com uma queda em 2008 para 10%, 12%, 21%, 29% relativamente às taxas de prevalência dos isolados de pus, da urina, de sangue e da expectoração, respectivamente (Gráfico 4.). As *E. coli* produtoras de ESBL são uma das principais causas das falhas terapêuticas das cefalosporinas,<sup>39</sup> pelo que se reconhece haver necessidade de vigilância da sua evolução, até porque recentemente foi classificada pela *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) como um dos seis micróbios, para os quais, novas terapêuticas são urgentemente necessárias.<sup>40</sup>

Apesar da existência de evidências a apontarem para o aumento do consumo de penicilina<sup>41</sup> e de quinolonas<sup>42</sup> em Portugal, estas taxas de prevalência podem estar associadas a inúmeras causas. Por isso, são necessários estudos rigorosos a nível local para se determinar a relação entre o consumo destes agentes e aumento da resistência aos mesmos, bem como o envolvimento e relevância de outros factores.

## **6. CONCLUSÃO**

---

O presente trabalho revelou as diferenças nas variações evolutivas das taxas de prevalência da resistência da *E. coli* entre duas regiões do distrito de Castelo Branco à semelhança das encontradas em outras investigações em diferentes regiões e países.<sup>20</sup> Sugerido a relevância dos factores locais no aumento e na

flutuação das resistências destes microorganismos aos antibióticos ao longo do tempo. Neste sentido, se comprova a necessidade de desenvolvimento de um compromisso local no combate as resistências, bem como, na adaptação dos protocolos as realidades locais. Uma vez que estas tendências flutuantes no padrão de resistência exigem um empenho constante.

Por outro lado, tendo em conta que neste estudo foram analisadas todos os registos dos testes de sensibilidades aos antibióticos dos isolados da *E. coli* nas duas localidades durante os três anos e, utilizado um critério para minimizar tanto a duplicação dos isolados com perfis sensíveis como os com perfis resistentes, é razoável assumir que as evidências das elevadas resistências da *E. coli* à ampicilina, anula a sua utilidade para os tratamentos empíricos, tal como da TMP/SMX e da ciprofloxacina que, a luz das recomendações da Health Protection Agency (HPA)<sup>38</sup> não devem constituir hipóteses válidas para terapêuticas empíricas nas afecções suspeitas de serem causadas por *E. coli* nestas duas localidades, porque superaram o limiar estabelecido (15% - 20%). O mesmo acontecendo com a Amoxicilina/ácido clavulânico no HAL.

## 7. REFERÊNCIAS

---

1. Cockburn A. The Evolution and Eradication of Infectious Diseases. Baltimore: Johns Hopkins University Press, **1963**. Disponível em <http://www.ajtmh.org/cgi/reprint/13/4/651-a> visitado em 12 fev 2009
2. Afirmação de U.S. Surgeon General William H. Stewart citado em: Nesse, R. M. and Williams, G. C. Evolution and origin of disease. *Sci. Am.* **1998**; 86-93.
3. David M. Morens, Gregory K. Folkers & Anthony S. Fauci. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* **2004**; 430: 245-6
4. Cosgrove SE. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay and health care costs. *Clin Infect Dis.* **2006**;42(2):S82-S89
5. Virk A, Steckelberg JM. Clinical aspects of antimicrobial resistance. *Mayo Clin Proc* **2000**;75:200-14.
6. Holmberg SD, Solomon SL, Blake PA. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Rev Infect Dis* **1987**; 9: 1065-1078
7. Abraham, E. P., and E. Chain. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* **1940**; 146:837. Disponível em <http://www.nature.com/nature/journal/v146/n3713/pdf/146837a0.pdf> visitado no dia 14 Maio 2009.
8. Khardori N. Antibiotics – past, present, and future. *Med Clin North Am.* **2006**; 90(6):1049-1076.
9. Ghuysen, J. M. Serine  $\beta$ -lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu. Rev. Microbiol.* **1991**; 45:37–67.
10. Levy SB. The Antibiotic Paradox: How Misuse of Antibiotics Destroys Their Curative Powers. Cambridge, MA: Perseus Publishing; **2002**.
11. **Davies, J.** Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, **1994**; 264 (5157), 375-382
12. Crowley, J. R., B. H. Edwards, and J. C. Mellinger. Microorganisms in hospital acquired infections. *J. Med. Technol.* **1986**; 3:214-217.
13. Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Winokur PL, Gales AC, et al. Survey of bloodstream infections due to gram-negative bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, and Latin America for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997. *Clin Infect Dis.* **1999**; 29:595–607.
14. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* **2002**; 113 (1A):5S–13S.
15. Kahlmeter G, ECO.SENS. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. *J Antimicrob Chemother* **2003**; 51:69–76
16. Reacher MH, Shah A, Livermore DM, Wale MC, Graham C, Johnson AP, et al. Bacteraemia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis. *BMJ.* **2000**;320:213–6
17. Vazquez F, Mendoza MC, Viejo G, Mendez FJ. Survey of Escherichia coli septicemia over a six-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **1992**;11:110–7
18. Brook, I., Frazier, E. H. Aerobic and Anaerobic Microbiology of Surgical-Site Infection Following Spinal Fusion *J Clin Microbiol.* **1999**; 37(3): 841–843
19. Pitout J D D, Laupland K B, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* **2008**; 8: 159–66
20. A. Erb & T. Stürmer & R. Marre & H. Brenner. Prevalence of antibiotic resistance in Escherichia coli: overview of geographical, temporal, and methodological variation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2007**; 26:83–90

21. Wang H, Chen M; China Nosocomial Pathogens Resistance Surveillance Study Group. Surveillance for antimicrobial resistance among clinical isolates of gram-negative bacteria from intensive care unit patients in China, 1996 to 2002. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2005**; 51: 201–8.
22. Kennedy KJ, Roberts JL, Collignon PJ. *Escherichia coli* bacteraemia in Canberra: incidence and clinical features. *Med J Aust* **2008**; 188:209–13.
23. Garau J, Xercavins M, Rodriguez-Carballeira M, et al. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43:2736–41.
24. Oteo J, Lazaro E, Abajo FJ, et al. Antimicrobial-resistant invasive *Escherichia coli*, Spain. *Emerg Infect Dis* **2005**; 11:546–53.
25. Zaidi M, McDermott P, Tollefson L. Integrated surveillance of antimicrobial-resistant foodborne pathogens in Mexico (abstract S12:2). In: Program and abstracts of the American Society for Microbiology Conference on Antimicrobial Resistance in Zoonotic Bacteria and Foodborne Pathogens (Copenhagen, Denmark). **2008**:30.
26. Nikolich M.P. et al. Evidence for natural horizontal transfer of tetQ between bacteria that normally colonize humans and bacteria that normally colonize livestock. *Appl Environ Microbiol.* **1994**; 60(9): 3255–3260
27. Livermore M, Pillay D, Cane P. HPA Report - Antimicrobial Resistance: Inevitable but not unmanageable. Disponível em [http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb\\_C/1202115622795?p=1158945066450](http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1202115622795?p=1158945066450) visitado em 20 Março 2009
28. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Approved standard M100-S14, 15th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. **2005**.
29. L. Cebrián, et al. Influence of various criteria for elimination of duplicates when calculating the prevalence and antibiotic susceptibility of microorganisms associated with urinary infections *Int J of Antimicrob Agents* **2005**; 25: 173–176
30. Shannon K. P. French G. L, Antibiotic resistance: effect of different criteria for classifying isolates as duplicates on apparent resistance frequencies. *J Antimicrob Chemother* **2002**; 49 (1), 201-204
31. Shannon K. P. French G. L, Validation of the NCCLS proposal to use results only from the first isolate of a species per patient in the calculation of susceptibility frequencies. *J Antimicrob Chemother* **2002**; 50: 965–969
32. J. T. Magee et al. Effects of duplicate and screening isolates on surveillance of community and hospital antibiotic resistance *J of Antimicrob Chemother* **2004**; 54: 155–162
33. Sundqvist M., Kahlmeter G. Effect of excluding duplicate isolates of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in a 14 year consecutive database *J Antimicrob Chemother* **2007**; 59: 913–918
34. Zhanel GG, Hisanaga TL, Laing NM, Decorby MR, Nichol KA, Weshnoweski B, Johnson J, Noreddin A, Low DE, Karlowsky JA, for the NAUTICA Group, Hoban DJ. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* outpatient urinary isolates: final results from the North American Urinary Tract Infection Collaborative Alliance (NAUTICA). *Int J Antimicrob Agents* **2006**; 27:468–475
35. Gupta K, Sahm DF, Mayfield D, Stamm WE Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in women: a nationwide analysis. *Clin Infect Dis* **2001**; 33:89–94
36. Zhanel GG, Karlowsky JA, Harding GK, Carrie A, Mazzulli T, Low DE, Hoban DJ. A Canadian national surveillance study of urinary tract isolates from outpatients: comparison of the activities of trimethoprim-sulfamethoxazole, ampicillin, mecillinam, nitrofurantoin, and ciprofloxacin. The Canadian Urinary Isolate Study Group. *Antimicrob Agents Chemother* **2000**;44:1089–1092
37. The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report **2007**. Disponível em <http://www.rivm.nl/earss> visitado em 20 Fevereiro 2009

38. Barclay L. New guidelines for management of urinary tract infection in nonpregnant women. Medscape Medical News. Disponível em <http://www.medscape.com/viewarticle/571545?src=rss> visitado em 2 Junho 2009.
39. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* **2005**; 18: 657–86.
40. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, et al. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2006**; 42: 657–68.
41. Ferech M. et al. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient penicillin use in Europe. *J of Antimicrob Chemother* **2006**; 58: 408–412
42. Ferech M Coenen S et al. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient quinolone use in Europe. *J Antimicrob Chemother.* **2006**;58(2):423-7.