



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *ESCHERICHIA COLI*
CAUSADORES DE BACTEREMIA EM PACIENTES DO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE
BOTUCATU

GUILHERME SOLVEIRA

RODRIGO TAVANELLI HERNANDES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção de Bacharel em Ciências
Biomédicas.

**BOTUCATU – SP
2023**

S691i Solveira, Guilherme

Investigação de isolados de Escherichia coli causadores de bacteremia em pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu / Guilherme Solveira. -- Botucatu, 2023

25 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Rodrigo Tavanelli Hernandes

Coorientadora: Daiany Ribeiro Paz de Lira

1. Microbiologia. 2. Escherichia coli Genética. 3. Infecção. 4. Fatores de virulência. 5. Bactérias Resistência a antibióticos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

SUMÁRIO

Resumo.....	3
Introdução.....	4
Metodologia.....	7
Resultados.....	11
Discussão.....	17
Conclusão.....	20
Referências Bibliográficas.....	21

RESUMO

A bacteremia é uma condição que afeta indivíduos em todo o mundo, sendo mais frequente em idosos. A consequência mais grave da bacteremia é a sepse, reação imunológica do hospedeiro que pode levar à morte ou causar comorbidades por toda a vida. A *Escherichia coli* é uma das bactérias mais associadas a esse quadro. Adesinas, invasinas, sideróforos, protectinas e toxinas são Fatores de Virulência (FVs) responsáveis pela capacidade das *E. coli* de causarem infecção sistêmica, bem como a resistência aos antimicrobianos e a produção de Beta-Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs) tornam as *E. coli* mais propensas a causar bacteremia, a depender das condições do hospedeiro. O objetivo deste estudo é caracterizar isolados de *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) obtidos de amostras de sangue provenientes de pacientes ($n=60$) atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, bem como o perfil dos pacientes acometidos. Foi utilizado o método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para identificar os genes codificadores dos FVs mais associados com a bacteremia e os filogrupos de *E. coli* aos quais os isolados pertencem. O teste de disco-difusão foi utilizado para determinar a susceptibilidade antimicrobiana. A média de idade foi de 53,9 anos (0-98), dos quais 46,7% eram idosos. Dos pacientes incluídos neste estudo, 64,4% tiveram infecção de origem comunitária e 35,6% de origem hospitalar. A taxa de mortalidade dos pacientes foi de 28,3%. Os genes mais prevalentes foram: *fimH* (95,0%), *sitA* (75,0%), *irp2* (66,7%), *ompT* (63,3%), *kpsMTII* (65,7%) e *traT* (50,0%). Os grupos filogenéticos mais prevalentes foram: B2 (38,3%), A (10,0%) e D (10,0%). Os antibióticos com maior percentual de resistência encontrados foram: ciprofloxacina (33,3%), levofloxacina (31,7%), cefuroxima (20,0%), cefotaxima (20,0%), ceftriaxona (18,3%), cefepime (15,0%), gentamicina (10,0%) e ceftazidima (3,3%). Um total de 20,0% dos isolados produziram ESBL, os quais foram identificados com distribuição equitativa entre os casos adquiridos na comunidade e por infecção hospitalar ($P=0,09$). O presente estudo apresenta uma importante caracterização acerca de isolados de ExPEC responsáveis por causar bacteremia e a distribuição na comunidade de isolados de ExPEC produtores de ESBL para o desenvolvimento de estratégias contra a disseminação desses isolados na comunidade.

Palavras-chave: *E. coli* extra intestinal; bacteremia; virulência; resistência antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

A bacteremia é caracterizada como a presença de bactérias no sangue (Madigan *et al.*, 2016) e ocorre com maior frequência conforme a idade aumenta na população adulta. Em países de alta renda, a cada 100 mil pessoas-ano acontecem 48 casos entre os adultos. Para os que têm entre 55 e 75 anos, esse valor é de 110 e, para os que têm mais de 80 anos, o valor sobe para 319 (Bonten *et al.*, 2020). Pessoas-ano é uma medida epidemiológica de incidência para uma determinada condição em saúde, calculada pela quantidade da população estudada multiplicada pelo tempo observado (Max Rady College of Medicine, 2013). A maior parte dos casos de bacteremia são causados por *Escherichia coli*, que tem como principal fonte primária a infecção urogenital. Infecções intra-abdominais são a segunda maior fonte primária de bacteremia causadas por *E. coli*. A infecção do trato urinário (ITU) é a infecção mais frequente em idosos devido à disfunção vesical progressiva e ao aumento do uso de cateter urinário em internações (Bonten *et al.*, 2020).

Em contraste com a bacteremia, a qual pode ou não ser acompanhada de sintomas clínicos (Bonten *et al.*, 2020), a sepse é definida como a disfunção orgânica causada por uma resposta desregulada do

hospedeiro à infecção, associada ao risco de morte. A mortalidade entre os pacientes internados é de cerca de 10%. No choque séptico, há alterações mais profundas, caracterizadas por hipotensão e acidose láctica na ausência de hipovolemia. Nessa situação, a mortalidade sobe para 40%. Além das mortes, a sepse é responsável por causar comorbidades, pois indivíduos que sobreviveram à sepse apresentam consequências físicas, psicológicas e cognitivas a longo prazo, com significativa implicação social e de saúde (Singer *et al.*, 2016).

As bactérias são os principais microrganismos envolvidos nas infecções sanguíneas (70%) (Vincent *et al.*, 2009). De acordo com Diekema *et al.*, 2019, a *E. coli* é a bactéria mais comumente associada aos casos de bacteremia na Europa (27,0%), Ásia (33,7%) e na América Latina (18,3%). O custo médio total de um caso de sepse para os hospitais é de US \$27.461,00 dólares (Arefian *et al.*, 2017). A sepse foi a condição clínica mais cara para os hospitais estadunidenses em 2017, gerando um custo de 38,2 bilhões de dólares (8,8% dos gastos) (Liang; Moore; Soni, 2020).

A *E. coli* é uma espécie de bactéria predominante na microbiota intestinal de

humanos e de outros animais (Bettelheim *et al.*, 1976). Geralmente a *E. coli* é inofensiva, mas pode causar infecção devido ao estado imunológico do hospedeiro (Nataro; Kaper, 1998) ou à presença de fatores de virulência (FVs) (Croxen *et al.*, 2013). A *E. coli* patogênica pode causar infecção tanto no sítio intestinal, denominada de *E. coli* diarreio gênica (DEC), ou fora do sítio intestinal, denominada de *E. coli* Patogênica Extraintestinal (ExPEC) (Kaper; Nataro; Mobley, 2004).

De acordo com seus mecanismos de virulência, consequências clínicas e predileção por determinadas regiões do hospedeiro, as DEC podem ser classificadas em *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de toxina de Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* que adere difusamente (DAEC) (Croxen *et al.*, 2013).

As ExPEC são classificadas de acordo com o sítio de infecção, das quais é válido ressaltar a *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* associada à meningite neonatal (NMEC), *E. coli* associada à sepse humana (SEPEC) e *E. coli* colibase aviária (AVEC) (Russo; Johnson, 2000). Johnson *et al.*, 2003, ao realizarem uma análise acurada com ExPEC, revelaram que as *E. coli* que

apresentam em seu genoma pelo menos dois dentre cinco genes que codificam FVs específicos (*pap*, *sfa/foc*, *afa/draBC*, *kpsMT II* e *iut*) possuem o potencial intrínseco de causar infecções fora do sítio intestinal.

Isolados de *E. coli* que apresentam ambos marcadores de DEC e ExPEC ou que foram isoladas de infecção extra intestinal e apresentam marcadores de DEC são consideradas híbridas. As principais estão entre ExPEC/STEC, ExPEC/EPEC, e ExPEC abrigando marcadores de virulência de EAEC (Santos *et al.*, 2020). Híbridos ExPEC/STEC são relevantes devido à possibilidade de infecção sistêmica concomitante à Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU) (Lavrek *et al.*, 2018).

Uma diversidade de FVs são codificados por genes de ExPEC, que contribuem para a patogenicidade das bactérias, como, adesinas (*fimH*, *papA*, *papC*, *afaBC*, *sfaDE*, *ecpA* e *iha*), invasinas (*ibeA*), sistemas de captação de ferro (*iroN*, *irp2*, *iucD*, *ireA* e *sitA*), protectinas (*traT*, *ompT*, *iss*, *kpsMTII* e *cva*) e toxinas (*hlyA*, *cnf1*, *cdt*, *sat*, *vat*, *usp* e *hlyF*) (Tabasi *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2013; Cyويا *et al.*, 2015). Entre as adesinas, está a fímbria P, a qual se liga a resíduos de galactobiose dos glicoesfingolipídeos. Essa estrutura está ligada à causa de pielonefrite e sua

biogênese envolve 11 genes (Svanborg *et al.*, 1987). A proteína PapA constitui a estrutura básica e a proteína PapG é o ligante do receptor celular do hospedeiro (Johnson *et al.*, 2002; Kuehn *et al.*, 1992).

Quando falamos em resistência aos antimicrobianos, é importante destacar que o número de isolados de *E. coli* produtores de Beta-Lactamases de Espectro Estendido (ESBLs) vem aumentando significativamente nos últimos 20 anos, (Diekema *et al.*, 2019), o que desencadeou sérios problemas terapêuticos na contenção dos danos causados por esse patógeno no seu hospedeiro.

O entendimento do perfil de virulência das ExPEC, o que inclui seus FVs e possíveis cepas híbridas, é importante para a predição epidemiológica da gravidade da doença e de possíveis alvos terapêuticos para estratégias futuras no desenvolvimento de antibióticos, bem como para a tomada de decisões clínicas em casos futuros de infecção por ExPEC.

O objetivo deste estudo é caracterizar isolados de ExPEC obtidos de amostras de sangue provenientes de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB), por meio da caracterização do perfil clínico e demográfico dos pacientes, da identificação dos genes de virulência

presentes na coleção de isolados, da determinação dos filogrupos encontrados nos casos e da avaliação da resistência às classes de antibióticos mais utilizadas nos cuidados hospitalares.

METODOLOGIA

Coleta de dados e amostras

Foram incluídos neste estudo 60 isolados de *E. coli* obtidos do sangue de pacientes do HCFMB, entre os anos de 2018 a 2021. Todos os isolados foram obtidos de amostras coletadas no laboratório de análises clínicas do HCFMB. Os dados clínicos e demográficos, como idade, gênero, comorbidades e outras condições de interesse, foram obtidos anonimamente nos prontuários médicos. Não houve contato ou coleta de dados pessoais dos pacientes. Esse estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu com a anuência do HCFMB em 17 de março de 2023 (Parecer nº 5.950.462 - Anexo 1).

Identificação de genes codificadores de Fatores de Virulência

A presença de genes responsáveis por codificar FVs nos isolados estudados foi identificada por reação em cadeia da polimerase (PCR). Foi utilizado na PCR 1 µL do DNA molde, 5,5 µL de H₂O DNA livre de nucleases, 7,5 µL de GoTaq® Green Master Mix (Promega, Madison, Wisconsin, USA), 5,5 µL de água destilada ultra-pura e 0,34 µM dos iniciadores.

Após a amplificação da amostra, 7,5 µL de cada reação foram submetidos à

eletroforese em gel de agarose, preparado por aquecimento, utilizando agarose (Agargem, Espanha) em tampão TBE 1X (Tris - ácido bórico 90 mM, EDTA 2 mM, pH 8,0). A eletroforese foi realizada em TBE 1X com os amplicons submetidos a uma tensão de 100 V durante 30 minutos. O marcador de massa molecular 100bp DNA Ladder (Promega, USA) foi utilizado para verificar o tamanho dos produtos amplificados. As bandas foram detectadas através da coloração por solução de SYBR Safe DNA gel (Invitrogen, USA) na diluição de [1:10.000] e visualizadas utilizando um transiluminador de luz ultravioleta. As imagens foram registradas por um sistema de captação de imagens Alphamager 2200 (Alpha Innotech, EUA).

Entre os genes pesquisados, estão inclusos os cinco genes descritos por Johnson *et al.*, 2003 que levam ao potencial intrínseco de causar infecções extra intestinais (*papA/papC*, *sfa/foc*, *afa/draBC*, *kpsMT II* e *iut*).

Crítérios de exclusão

O mesmo método foi utilizado como critério de exclusão dos casos falso-positivos de *E. coli*, de acordo com a PCR proposta por Lindsay *et al.*, 2017. O teste bioquímico proposto por Toledo e colaboradores (1982a e 1982b) foi utilizado como fator complementar, incluindo as amostras negativas para o

método de Lindsay *et al.*, 2017 mas que apresentavam comportamento típico de *E. coli*. Os isolados utilizados como controles positivos estão apresentados na Tabela 1.

Determinação de filogrupos

Para determinar a classificação filogenética dos isolados coletados nos grupos A, B1, B2, C, D, E, F e *E. clades*, foi utilizada a técnica de Multiplex-PCR, desenvolvida por Clermont *et al.*, 2013.

Teste de susceptibilidade antimicrobiana

Os isolados foram submetidos à técnica de disco-difusão dos fármacos de interesse para determinação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, em ágar Mueller Hinton (OXOID, UK) como descrito por Bauer *et al.*, 1960. A realização e interpretação dos halos de inibição foram feitas de acordo com as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023).

Os fármacos antimicrobianos testados foram: Cefuroxima (30 µg), Ceftriaxona (30 µg), Ceftazidima (30 µg), Ceftazidima + Ácido clavulânico (30 µg/10 µg), Cefotaxima (30 µg), Cefotaxima + Ácido clavulânico (30 µg/10 µg), Cefepime (30 µg), Imipenem (10 µg), Ertapenem (10 µg), Meropenem (10 µg), Piperacilina/Tazobactam (100/10 µg), Amoxicilina/Ácido Clavulânico (20/10 µg), Gentamicina (10 µg), Amicacina (30

µg), Ciprofloxacina (5 µg) e Levofloxacina (5 µg). Os isolados considerados produtores de ESBL foram os que apresentaram aumento de 5 mm ou mais no halo de inibição de ceftazidima ou cefotaxima quando feita a comparação dos antimicrobianos na ausência e na presença do ácido clavulânico.

Tabela 1 | Iniciadores e controles positivos utilizados para a pesquisa de genes nos isolados do presente estudo.

	Gene	Sequência dos iniciadores (5'-3')	Tamanho do fragmento (pb)	Controle positivo	Referências
Marcador de <i>Escherichia coli</i>	Gene regulador di-GMP cíclico (<i>cdgR</i> , AW869_2293 5 a MG1655, CP01422)	CCAGGCAAAGAGTTTATGTTGA	212	EC304	Lindsey et al., 2017
		GCTATTTCTCGCCGATAAGAGA			
Adesinas	<i>fimH</i>	TGCAGAACGGATAAGCCGTGG GCAGTCACCTGCCCTCCGGTA	508	J96	Johnson and Stell, 2000
	<i>iha</i>	CAGGTCGGGGTTACCAAGT CAAATGGCTCTCTTCCGTCAATGC	925	EDL933	Szalo <i>et al.</i> , 2002
	<i>papC</i>	ATGGCAGTGGTGTCTTTTGGTG CGTCCCACCATACGTGCTCTTC	720	J96	Johnson and Stell, 2000
	<i>papA</i>	GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA	238	J96	Le Bouguenec <i>et al.</i> , 1992
	<i>afaBC</i>	GCTGGGCAGCAAAGTGAAGTCTC CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG	750	A30	Le Bouguenec <i>et al.</i> , 1992
Invasina	<i>ibeA</i>	AGGCAGGTGTGCGCCGCGTAC TGGTGCTCCGGCAAACCATGC	170	RS218	Johnson and Stell, 2000
Sideróforos	<i>sitA</i>	AGGGGGCACAAGTATTCTCG TACCGGGCCGTTTTCTGTGC	608	EC40	Rodriguez Siek <i>et al.</i> , 2005
	<i>irp2</i>	AAGGATTCGCTGTTACCGGAC TCGTCGGGCAGCGTTTCTTCT	264	42	Czeczulin <i>et al.</i> , 1999
	<i>iucD</i>	AAGTGTCGATTTTATTGGTGTA CCATCCGATGTCAGTTTTCTG	760	SA101	Dezfulian <i>et al.</i> , 2003
	<i>iroN</i>	AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCCG GACGCCGACATTAAGACGCAG	665	RS218	Johnson <i>et al.</i> , 2000
	<i>ireA</i>	ATTGCCGTGATGTGTTCTGC CACGGATCACTTCAATGCGT	384	V27	Ewers <i>et al.</i> , 2007

Tabela 1 | Iniciadores e controles positivos utilizados para a pesquisa de genes nos isolados do presente estudo (continuação).

	Gene	Sequência dos iniciadores (5'-3')	Tamanho do fragmento (pb)	Controle positivo	Referências
Protactinas	<i>ompT</i>	ATCTAGCCGAAGAAGGAGGC CCC GGTCATAGTG TTCATC	559	RS218	Johnson and Stell, 2000
	<i>kpsMTH</i>	GCGCATTTGCTGATACTGTTG CATCCAGACGATAAGCATGAGCA	272	RS218	Johnson and Stell, 2000
	<i>traT</i>	GGTGTGGTGCGATGAGCACAG CACGGTTCAGCCATCCCTGAG	290	RS218	Johnson and Stell, 2000
	<i>iss</i>	ATCACATAGGATTCTGCCG CAGCGGAGTATAGATGCCA	309	UPEC14	Ewers <i>et al.</i> , 2005
	<i>cva</i>	TCCAAGCGGACCCCTTATAG CGCAGCATAGTTCCATGCT	597	EC40	Ewers <i>et al.</i> , 2007
Toxinas	<i>sat</i>	TGCTGGCTCTGGAGGAAC TTGAACATT CAGAGTACCGGG	667	C1845	Ewers <i>et al.</i> , 2007
	<i>vat</i>	AACGGTTGGTGGCAACAATCC AGCCCTGTAGAATGGCGAGTA	420	RS218	Boisen <i>et al.</i> , 2009
	<i>hlyA</i>	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA	1177	J96	Johnson and Stell, 2000
	<i>cnfI</i>	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT	498	J96	Yamamoto <i>et al.</i> , 1995
	<i>hlyF</i>	GGCGATTTAGGCATTCCGATACTC ACGGGGTCGCTAGTTAAGGAG	599	EC40	Johnson <i>et al.</i> , 2006

RESULTADOS

O perfil clínico e demográfico dos pacientes está apresentado na Tabela 2. A média de idade entre os 60 pacientes estudados foi de 53,9 anos, dos quais 34 (56,4%) eram mulheres. Três (5%) dos pacientes tinham até dois anos de idade, 29 (48,3%) tinham entre dois e 59 anos de idade e 28 (46,7%) tinham 60 anos ou mais. As comorbidades mais frequentes foram insuficiência renal e diversas neoplasias, com 14 (23,3%) pacientes cada, seguidas de hipertensão, com 11 (18,3%) casos, e transplante renal, com 9 (15,0%) casos. De acordo com os dados fornecidos pelo hospital, a origem da infecção sistêmica foi: 22 (36,7%) urinária, 12 (20,0%) respiratória, 8 (13,3%) intestinal e 18 (30,0%) de origem desconhecida. 38 (64,4%) casos tiveram infecção com origem na comunidade, 12 (35,6%) foram de infecção hospitalar e um caso não teve o tipo de infecção definida. Entre os 60 pacientes identificados no estudo, 17 (28,3%) foram a óbito durante a internação.

Entre os genes codificadores de FVs pesquisados, os mais prevalentes no estudo foram: *fimH* (95,0%), *sitA* (75,0%), *irp2* (66,7%), *ompT* (63,3%), *kpsMTII* (65,7%), *traT* (50,0%), *iucD* (43,3%), *iha* (41,7%), *papC* (40,0%), *sat* (38,3,0%), *iron* (30,0%), *papA* (28,3%) e *vat* (25,0%). Os

Tabela 2. | Caracterização dos pacientes com bacteremia por *Escherichia coli* no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMC) entre os anos 2018-2021.

Características demográficas (n = 60)	
Média de idade (limites)	53,9 (0-98)
0-1 anos	3 (5%)
2-59 anos	29 (48,3%)
60-98 anos	28 (46,7%)
Mulheres	34 (56,4%)
Homens	26 (43,3%)
Características clínicas	
Comorbidades¹ (n = 60)	
Insuficiência Renal	14 (23,3%)
Neoplasias	14 (23,3%)
Hipertensão	11 (18,3%)
Transplante renal	9 (15,0%)
Diabetes	5 (8,3%)
DRC	4 (6,7%)
Cirrose hepática	4 (6,7%)
Nenhuma comorbidade	6 (10,0%)
Outros ²	18 (30,0%)
Origem da infecção (n = 60)	
Urinária	22 (36,7%)
Respiratória	12 (20,0%)
Intestinal	8 (13,3%)
Desconhecida	18 (30,0%)
Tipo de infecção (n = 59)³	
Comunitária	38 (64,4%)
Hospitalar	21 (35,6%)
Óbitos (n = 60)	17 (28,3%)

¹Alguns pacientes apresentaram mais de uma comorbidade. ²As demais comorbidades incluem: alzheimer, hipotireoidismo, nascimento prematuro e obesidade, as quais apresentam dois (2,3%) pacientes com a comorbidade; e tuberculose, rins policísticos, artrite reumatóide, asma grave, etilismo, gestação, insuficiência cardíaca, pancreatite crônica, AIDS e imunossupressão, as quais apresentam um (1,6%) paciente com a comorbidade. ³Um dos casos fornecidos pelo HCFMB não apresentou confirmação acerca da origem da infecção.

genes *aaiC* e *sfaDE* não foram encontrados em nenhum isolado. A prevalência de cada gene nos isolados pode ser identificada na Tabela 3, Figura 1.

A distribuição filogenética dos isolados está representada na Figura 1 e é constituída por: 23 (38,3%) no B2, 12 (20,0%) no A, 6 (10,0%) no D e 6 (10,0%) no F, 3 (5,0%) no B1 e 3 (5,0%) no C, e 1 (1,7%) no Clade I. Além disso, 6 (10%) amostras não puderam ser categorizadas em nenhum filogrupo conhecido. Não foram identificados isolados pertencentes ao filogrupo E. Os resultados mais relevantes na distribuição dos genes de FVs entre os filogrupos são: o gene *vat*, que foi identificado em 14 (60,9%) isolados do filogrupo B2 e em 1 (16,7%) de filogrupo desconhecido; e o gene *cnfI*, que foi identificado em 9 (39,1%) isolados do filogrupo B2 e em 2 (33,3%) de filogrupo desconhecido. A Tabela 3 apresenta em detalhes a distribuição de genes de FVs por filogrupo.

A Figura 2 apresenta os isolados com potencial intrínseco de causar infecções extra intestinais de acordo com os critérios de Johnson *et al.*, (2003). 35 (58,3%) dos isolados albergam pelo menos dois dos genes propostos por Johnson, distribuídos em: três (25,0%) no filogrupo A, 17 (73,9%) no filogrupo B2, cinco (83,3%) no filogrupo D, quatro (66,7%) no filogrupo

F, um (100,0%) no Clade I, cinco (83,3%) de filogrupo desconhecido e nenhum entre os isolados dos filogrupos B1 e C.

O perfil de resistência dos isolados caracterizados está apresentado na Tabela 4. Os antibióticos com maior percentual de resistência encontrados foram: ciprofloxacina (33,3%), levofloxacina (31,7%), cefuroxima (20,0%), cefotaxima (20,0%), ceftriaxona (18,3%), cefepime (15,0%), gentamicina (10,0%) e ceftazidima (3,3%). Não foram encontrados isolados resistentes à imipenem, ertapenem, meropenem, piperacilina/ tazobactam, amoxicilina/ ácido clavulânico e amicacina.

12 (20,0%) dos 60 isolados produziram ESBL, os quais foram identificados com distribuição equitativa entre os casos adquiridos na comunidade e por infecção hospitalar ($P=0,09$). Entre os casos de ESBL encontrados no estudo, 7 (58,3%) foram identificados como parte do filogrupo B2. O perfil de resistência das produtoras de ESBL pode ser visualizado na Figura 3.

Figura 1. | Porcentagem dos genes codificadores de Fatores de Virulência encontrados nos isolados de *Escherichia coli* encontrados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu entre 2018 e 2021.

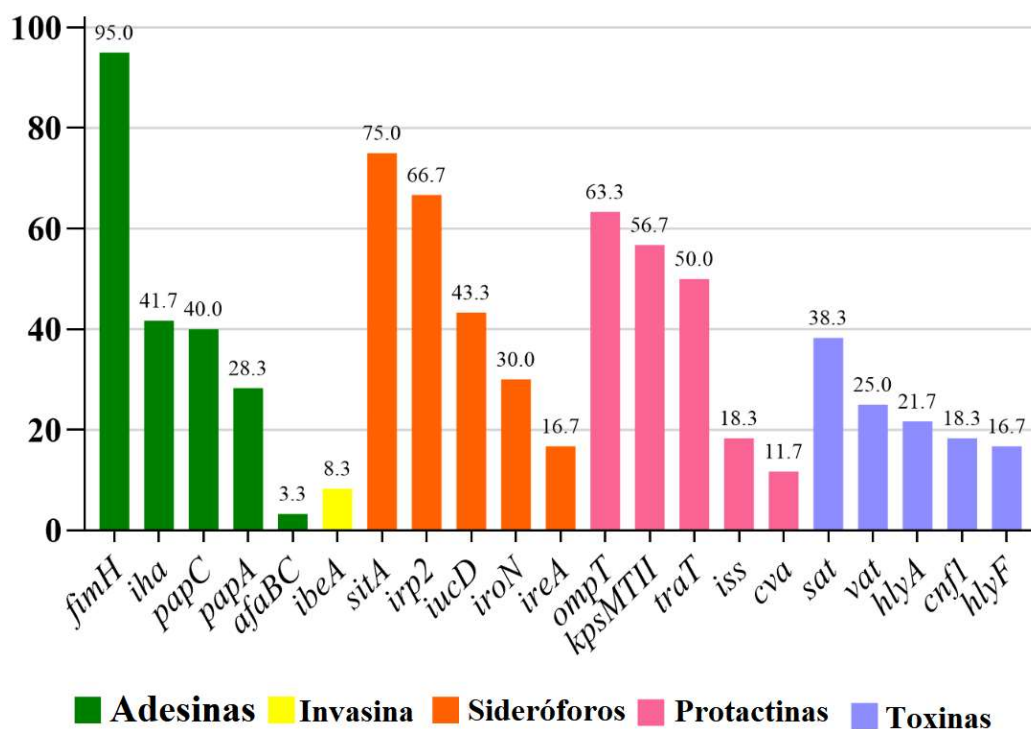


Figura 2. | Distribuição dos isolados de *Escherichia coli* com potencial intrínseco de causar bacteremia de acordo com os critérios de Johnson et al., (2003) coletados de pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu entre os anos de 2018 e 2021. Os valores absolutos estão apresentados acima das barras de porcentagem.

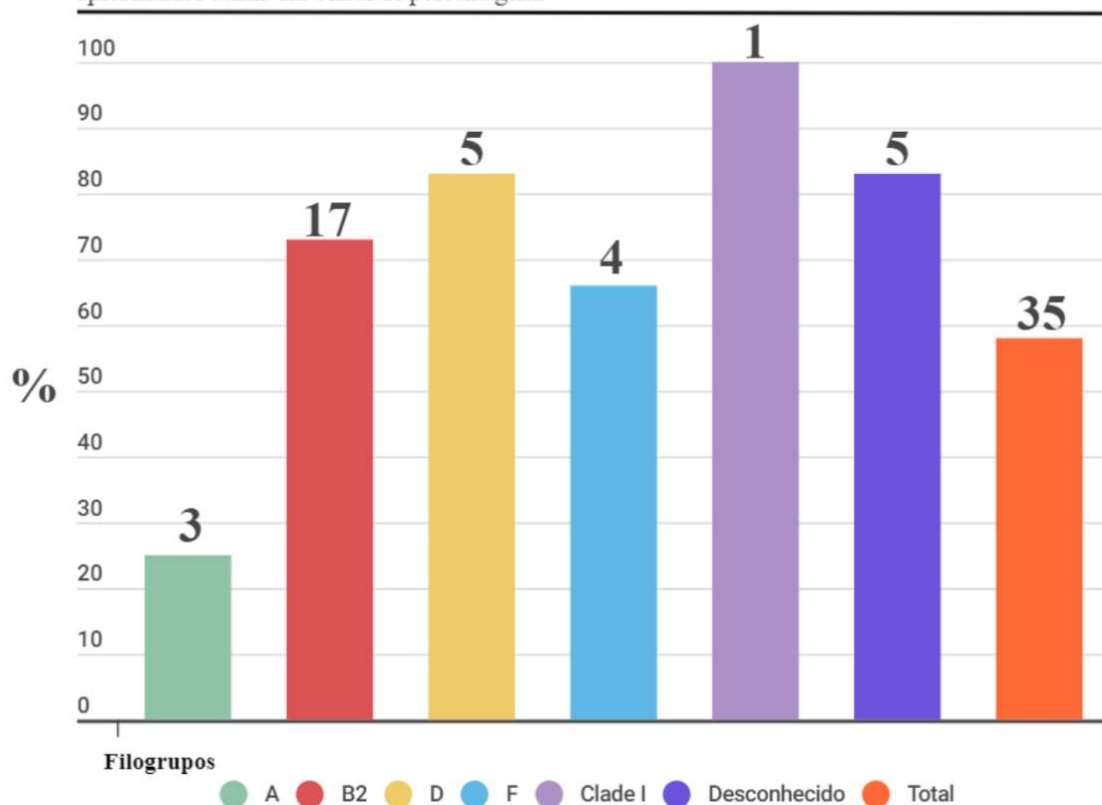


Tabela 3. | Genes codificadores de fatores de virulência dos isolados de *Escherichia coli* estudados distribuídos por filogrupo.

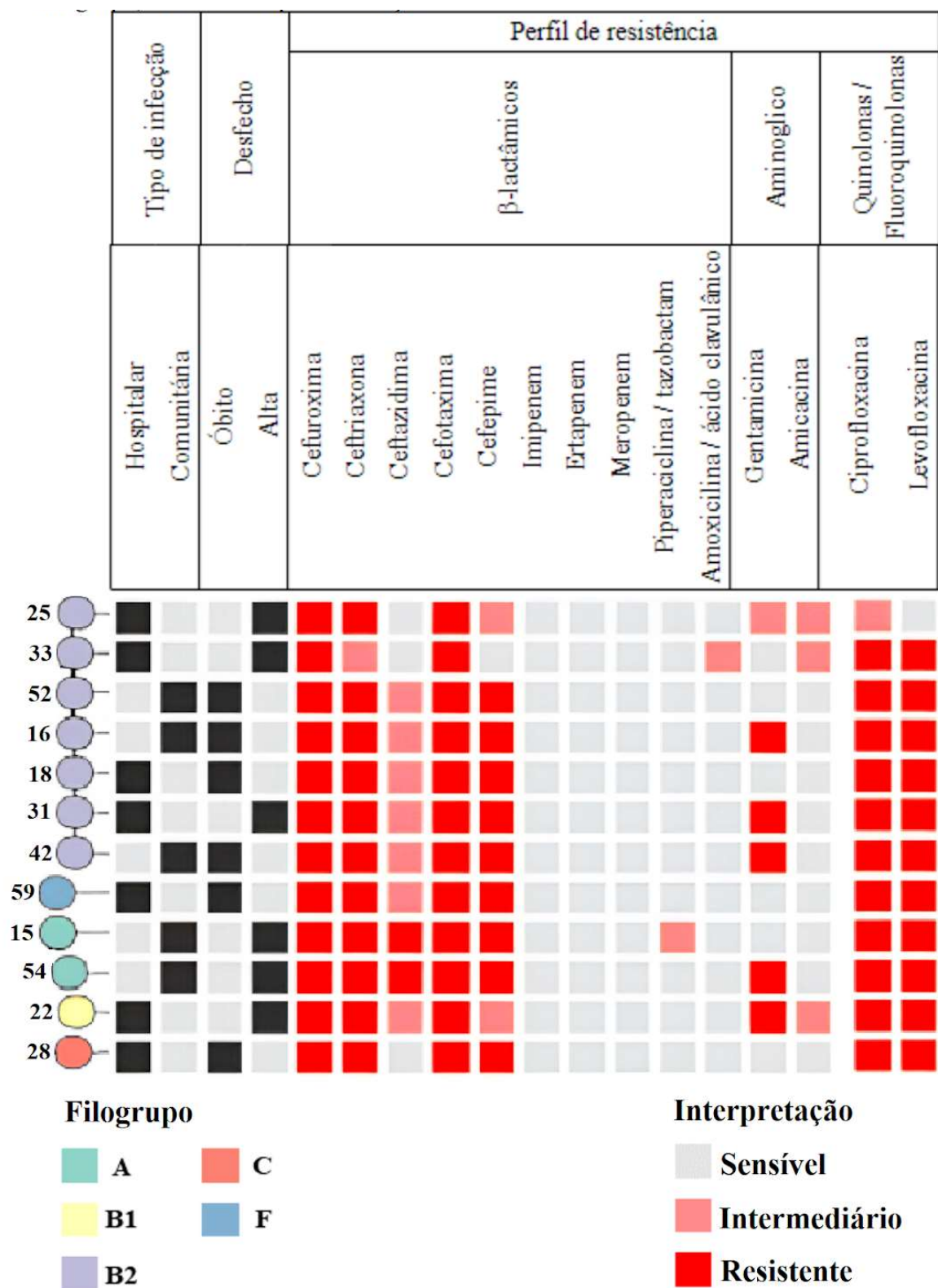
Gene	Filogrupo (%)								Total	
	A	B1	B2	C	D	F	Clade I	Desconhecido		
	t=12 (20,0)	t=3 (5,0)	t=23 (38,3)	t=3 (5,0)	t=6 (10,0)	t=6 (10,0)	t=1 (1,7)	t=6 (10,0)	60	
Adesinas	<i>fimH</i>	11 (91,7)	3 (100,0)	23 (100,0)	3 (100,0)	6 (100,0)	4 (66,7)	1 (100,0)	6 (100,0)	57 (95,0)
	<i>iha</i>	1 (8,3)	0	15 (65,2)	0	3 (50,0)	4 (66,7)	0	2 (33,3)	25 (42,7)
	<i>papC</i>	2 (16,7)	0	14 (60,9)	0	2 (33,3)	3 (50,0)	0	2 (33,3)	23 (38,3)
	<i>papA</i>	2 (16,7)	0	10 (43,5)	0	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (100,0)	2 (33,3)	18 (30,0)
	<i>afaBC</i>	0	0	0	0	1 (16,7)	0	0	1 (16,7)	2 (3,3)
Invasina	<i>ibeA</i>	0	0	4 (17,4)	0	0	1 (16,7)	0	0	5 (8,3)
Sideróforos	<i>sitA</i>	6 (50,0)	1 (33,3)	22 (95,7)	1 (33,3)	6 (100,0)	6 (100,0)	1 (100,0)	4 (66,7)	47 (78,3)
	<i>irp2</i>	1 (8,3)	1 (33,3)	23 (100,0)	1 (33,3)	5 (83,3)	5 (83,3)	1 (100,0)	4 (66,7)	41 (68,3)
	<i>iucD</i>	3 (25,0)	0	15 (65,2)	0	4 (66,7)	3 (50,0)	0	1 (16,7)	26 (43,3)
	<i>iroN</i>	2 (16,7)	0	10 (43,5)	1 (33,3)	3 (50,0)	1 (16,7)	1 (100,0)	6 (100,0)	24 (40,0)
	<i>ireA</i>	2 (16,7)	0	6 (26,1)	1 (33,3)	1 (16,7)	0	0	2 (33,3)	12 (20,0)
Protactinas	<i>ompT</i>	4 (33,3)	0	21 (91,3)	0	5 (83,3)	6 (100,0)	0	2 (33,3)	38 (63,3)
	<i>kpsMTII</i>	3 (25,0)	0	18 (78,3)	3 (100,0)	4 (66,7)	5 (83,3)	1 (100,0)	6 (100,0)	40 (66,7)
	<i>traT</i>	4 (33,3)	1 (33,3)	12 (52,2)	0	5 (83,3)	4 (66,7)	1 (100,0)	3 (50,0)	30 (50,0)
	<i>iss</i>	2 (16,7)	0	3 (13,0)	2 (66,7)	2 (33,3)	1 (16,7)	1 (100,0)	0	11 (18,3)
	<i>cva</i>	1 (8,3)	0	3 (13,0)	0	2 (33,3)	0	1 (100,0)	0	7 (11,7)
Toxinas	<i>sat</i>	1 (8,3)	0	13 (56,2)	0	2 (33,3)	4 (66,7)	0	3 (50,0)	23 (38,3)
	<i>vat</i>	0	0	14 (60,9)	0	0	0	0	1 (16,7)	15 (25,0)
	<i>hlyA</i>	1 (8,3)	0	9 (39,1)	0	1 (16,7)	0	0	2 (33,3)	13 (21,7)
	<i>cnfI</i>	0	0	9 (39,1)	0	0	0	0	2 (33,3)	11 (18,3)
	<i>hlyF</i>	2 (16,7)	0	3 (13,0)	1 (33,3)	2 (33,3)	1 (16,7)	1 (100,0)	0	10 (16,7)

Tabela 4. | Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *Escherichia coli* estudados.

Fármacos antimicrobianos testados ¹	(n = 60)		
	Sensível	Intermediário ²	Resistente
β-lactâmicos			
Cefuroxima	47 (78,3%)	1 (1,7%)	12 (20,0%)
Ceftriaxona	48 (80,0%)	1 (1,7%)	11 (18,3%)
Ceftazidima	51 (85,0%)	7 (11,7%)	2 (3,3%)
Cefotaxima	47 (78,3%)	1 (1,7%)	12 (20%)
Cefepime	49 (81,7%)	2 (3,3%)	9 (15,0%)
Imipenem	60 (100,0%)	0	0
Ertapenem	60 (100,0%)	0	0
Meropenem	60 (100,0%)	0	0
Piperacilina / tazobactam	57 (95,0%)	3 (5,0%)	0
Amoxicilina / ácido clavulânico	59 (98,3%)	1 (1,7%)	0
Aminoglicosídeos			
Gentamicina	53 (88,3%)	1 (1,7%)	6 (10,0%)
Amicacina	57 (95,0%)	3 (5,0%)	0
Quinolonas / Fluoroquinolonas			
Ciprofloxacina	33 (55,0%)	7 (11,7%)	20 (33,3%)
Levofloxacina	41 (68,3%)	0	19 (31,7%)

¹Classificação utilizada de acordo com os parâmetros do Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2023. ²Ou sensível dose dependente (SSD).

Figura 3. | Perfil de resistência aos antimicrobianos dos isolados de *Escherichia coli* produtores de Beta-Lactamase de Espectro Estendido encontrados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu entre 2018 e 2021, de acordo com o filogruppo, desfecho e tipo de infecção.



DISCUSSÃO

A *E. coli* é um dos agentes causadores de bacteremia mais comuns no mundo, sendo a mais frequente na América Latina (Diekema *et al.*, 2019). Os fatores intrínsecos dos isolados envolvidos nessas infecções, como FVs e perfil de resistência, bem como características próprias do hospedeiro são determinantes para o desenvolvimento da doença (Lefort *et al.*, 2011). Assim, entender os fatores que tornam a bacteremia mais virulenta é necessário para prever os movimentos necessários para a saúde pública na prevenção da bacteremia e da sepse.

A prevalência da população idosa (46,7%) foi semelhante à encontrada por Daga *et al.*, 2019 (47,9%). Os dados de ambos os estudos apontam uma tendência à bacteremia por *E. coli* em idade menos avançada que em países mais desenvolvidos, como encontrado em Espanha, de 68,9% (Mora-Rillo *et al.*, 2015).

As comorbidades mais frequentes no estudo são fortemente sustentadas pela literatura: a insuficiência renal (23,3%) e a diabetes (8,3%) são fatores de risco para a infecção urinária (Alves *et al.*, 2012); a cirrose hepática (6,7%) é fator de risco para translocação abdominal da bactéria para a corrente (Vaishnavi, 2013); e

neoplasias (23,3%) e transplante renal (15,0%) são conhecidos fatores para vulnerabilidade imunológica (Woodruff, 1969).

A mortalidade promovida pelas *E. coli* não produtoras de ESBL (22,9%) esteve dentro do proposto por Russo e Johnson (2003), assim como a mortalidade total do estudo (28,3%) concorda com os resultados obtidos por Mora-Rillo *et al.* (2015) (27,7%). A mortalidade causada por bactérias produtoras de ESBL foi expressivamente maior (50,0%). Tsai *et al.* (2018) obtiveram taxas menores de mortalidade, mas com o mesmo padrão de diferença entre produtoras e não produtoras de ESBL. Uma possível explicação para essa discrepância de dados pode ser as melhores condições de cuidados em saúde nos países desenvolvidos, como é o caso da Coreia do Sul.

Os FVs encontrados no presente estudo em maior quantidade foram *fimH* (95,0%), *sitA* (75,0%), *irp2* (66,7%) e *ompT* (63,3%). Uma pesquisa realizada no Brasil durante o período de 2015-2017 com isolados de *E. coli* obtidos de bacteremia identificou os seguintes FVs como os mais prevalentes: *fimH* (95,8%), *traT* (77,1%), *fyuA* (70,8%), *iutA* (64,3%) e *kpsMT II* (45,8%) (Daga *et al.*, 2019). No Peru, os FVs mais frequentes encontrados em

crianças com infecção da corrente sanguínea foram Fímbria do tipo I (*fimA*, 89,2%), receptor de aerobactina (*iutA*, 83,1%), e o antígeno 43 (*agn43*, 72,3%) (Palma *et al.*, 2016). Ambas pesquisas citadas estão concordantes com os nossos achados, onde o gene responsável por codificar a Fímbria do tipo I foi o FV mais prevalente identificado em 95,0% dos isolados pesquisados.

Spurbeck *et al.*, (2012) identificou o gene *vat* como um dos principais genes associados à colonização do trato urinário. Essa conclusão foi demonstrada nesse estudo ao compararmos a proporção de isolados que albergam o gene de acordo com a origem da infecção: 36,4% de origem urinária, 16,7% de origem respiratória e 12,5% de origem intestinal.

O presente estudo identificou que o filogrupo de *E. coli* mais frequentemente associado à bacteremia na cidade de Botucatu - SP é o filogrupo B2 (38,3%). Esses resultados estão concordantes com os vistos na literatura, onde B2 aparece como mais frequente entre as ExPEC que causam bacteremia (Daga *et al.*, 2019; Koga *et al.*, 2014; Micenková *et al.*, 2017). O segundo filogrupo mais frequente foi A (20%), que é tradicionalmente caracterizado como pertencente à microbiota (Nataro; Kaper, 1998), no entanto, já foi relatado como o filogrupo

mais prevalente na Romênia (Usein *et al.*, 2015) que podem estar associados a origem comensal do isolado (Bert *et al.*, 2011).

A quantidade de isolados produtores de ESBLs (20%) se mostrou igualmente distribuída entre os casos adquiridos na comunidade e no hospital ($P=0.09$). Esse achado dialoga com o estudo de Diekema *et al.*, 2019, que encontrou o crescimento da participação de *E. coli* nos casos de bacteremia e aumento na quantidade de ESBLs entre a espécie.

Alguns estudos (Diekema *et al.*, 2019; Poolman *et al.*, 2016) sugerem o desenvolvimento de vacinas específicas contra sorotipos associados a *E. coli* patogênicas. Como esses e demais estudos apontam para o aumento na resistência aos antimicrobianos pelos isolados, é uma alternativa válida para o controle dos casos de infecções por *E. coli*, as quais são importantes causas de mortalidade nos casos de NMEC e SEPEC. Entretanto, a utilização das vacinas deve ser avaliada criticamente, visto que ambos os pesquisadores declaram ser financiados por grandes farmacêuticas com interesses econômicos na produção destas. Além disso, é importante ressaltar que as *E. coli* são bactérias pertencentes à microbiota e têm papel importante na proteção do trato gastrointestinal (Nataro; Kaper, 1998).

Alguns dos genes associados à virulência das bactérias também pertencem e são necessários para a manutenção de bactérias inofensivas e comensais da microbiota intestinal (Abe *et al.*, 2008; Toval *et al.*, 2013; Lindstedt *et al.*, 2018).

É importante considerar que esse estudo coletou dados na iminência de uma crise global causada pela Covid-19. Nesse contexto, deve-se atentar ao possível agravamento da situação de resistência à

antimicrobianos pelos diversos tipos de bactérias, tanto pelo abuso e automedicação da população na tentativa de se proteger do vírus, como pelo aumento significativo da quantidade de internações e de infecções oportunistas decorrentes da pandemia de 2019. Dessa forma, é válido o acompanhamento mais atencioso da evolução da resistência antimicrobiana da *E. coli* e demais bactérias nos próximos anos.

CONCLUSÃO

Nosso estudo reforça algumas características típicas de *E. coli* associadas à bacteremia humana, como o perfil demográfico dos pacientes acometidos e a prevalência do filogruppo B2 e do gene *fimH*, além de apresentar a importância dos isolados produtores de ESBL espalhados na comunidade.

Assim, o presente trabalho contribui para o melhor entendimento das características genéticas e fenotípicas das *E. coli* que causam bacteremia, permitindo o melhor planejamento da saúde pública brasileira na prevenção e tratamento de futuros casos. Esses dados também são relevantes

para busca futura de possíveis alvos farmacológicos e vacinas, bem como na microbiologia clínica, a qual pode atuar com mais eficiência com o entendimento do provável perfil de resistência dos agentes infecciosos. Os resultados obtidos reforçam a importância da vigilância epidemiológica dessas infecções e da adoção de medidas para prevenir a disseminação dessas bactérias resistentes aos antimicrobianos. A conscientização sobre a importância do uso racional dos antibióticos também se faz necessária para preservar a eficácia desses medicamentos no tratamento das infecções bacterianas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, C. M. et al. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 397–406, abr. 2008.
- AREFIAN, H. et al. Hospital-related cost of sepsis: A systematic review. **Journal of Infection**, v. 74, n. 2, p. 107–117, fev. 2017.
- BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol**, v. 45, n. 4, p. 493–496, abr. 1966.
- BERT, F. et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* bacteremia in liver transplant recipients. **Transplant Infectious Disease**, v. 13, n. 4, p. 359–365, 28 fev. 2011.
- BETTELHEIM, K. A. et al. The distribution of serotypes of *Escherichia coli* in cow-pats and other animal material compared with serotypes of *E. coli* isolated from human sources. **Journal of Hygiene**, v. 76, n. 3, p. 403–406, jun. 1976.
- BOISEN, N. et al. High prevalence of serine protease autotransporter cytotoxins among strains of enteroaggregative *Escherichia coli*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 80, n. 2, p. 294–301. 2009.
- BONTEN, M. et al. Epidemiology of *Escherichia coli* Bacteremia: A Systematic Literature Review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 7, 14 mai. 2020.
- CLERMONT, O. et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 1, p. 58–65, 24 dez. 2012.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. M. 100, 33 ed. 2023.
- CROXEN, M. A. et al. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 822–880, 1 out. 2013.
- CYOIA, P. S. et al. Presence of virulence genes and pathogenicity islands in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates from Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 10, p. 1068–1075, 29 out. 2015.
- CZECZULIN, J. R. et al. Phylogenetic Analysis of Enteroaggregative and Diffusely Adherent *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 6, p. 2692–2699, jun. 1999.
- DAGA, A. P. et al. *Escherichia coli* Bloodstream Infections in Patients at a University Hospital: Virulence Factors and Clinical Characteristics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, n. 191, 6 jun. 2019.
- DIEKEMA, D. J. et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 7, 22 abr. 2019.

- EWERS, C. et al. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. **Veterinary Microbiology**, v. 104, n. 1-2, p. 91–101, nov. 2004.
- EWERS, C. et al. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they? **International Journal of Medical Microbiology**, v. 297, n. 3, p. 163–176, 11 jun. 2007.
- JOHNSON, J. R. et al. Isolation and Molecular Characterization of Nalidixic Acid-Resistant Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* from Retail Chicken Products. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 7, p. 2161–2168, jul. 2003.
- JOHNSON, J. R.; RUSSO, T. A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: “The other bad *E. coli*”. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 139, n. 3, p. 155–162, mar. 2002.
- JOHNSON, J.; STELL, A. Extended Virulence Genotypes of *Escherichia coli* Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 1, p. 261–272, jan. 2000.
- JOHNSON, T. J. et al. DNA Sequence of a ColV Plasmid and Prevalence of Selected Plasmid-Encoded Virulence Genes among Avian *Escherichia coli* Strains. **Journal of Bacteriology**, v. 188, n. 2, p. 745–758, 15 jan. 2006.
- KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123–140, fev. 2004.
- KOGA, V. L. et al. Molecular screening of virulence genes in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from human blood culture in Brazil. **Biomed. Res. Int**, v. 2014, art. 465054, 2014.
- KUEHN, M. J. et al. P pili in uropathogenic *E. coli* are composite fibres with distinct fibrillar adhesive tips. **Nature**, v. 356, n. 6366, p. 252–255, mar. 1992.
- LAVREK, D. et al. Hemolytic-uremic syndrome after *Escherichia coli* urinary tract infection in humans: systematic review of the literature. **Journal of Nephrology**, v. 31, n. 6, p. 919–924, 17 out. 2018.
- LE BOUGUENEC, C.; ARCHAMBAUD, M.; LABIGNE, A. Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 5, p. 1189–1193, maio 1992.
- LEFORT, A. et al. Host Factors and Portal of Entry Outweigh Bacterial Determinants To Predict the Severity of *Escherichia coli* Bacteremia ▽. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 777–783, 1 mar. 2011.
- LIANG, L. (AHRQ), MOORE, B. (IBM Watson Health), SONI, A. (AHRQ). **National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2017**. HCUP Statistical Brief #261. [2020]. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, MD (EUA). Disponível em: <https://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/statbriefs/sb261-Most-Expensive-Hospital-Conditions-2017.pdf>. Acesso em 13 dez. 2023.

- LINDSEY, R. L. et al. Multiplex polymerase chain reaction for identification of *Escherichia coli*, *Escherichia albertii* and *Escherichia fergusonii*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 140, n. 140, p. 1–4, set. 2017.
- LINDSTEDT, B.-A. et al. High frequency of hybrid *Escherichia coli* strains with combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, 1 nov. 2018.
- MADIGAN, M. T. et al. Diversidade das bactérias. In: MADIGAN, M. T. et al., **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap. 15, p. 505.
- MORA-RILLO, M. et al. Impact of virulence genes on sepsis severity and survival in *Escherichia coli* bacteremia. **Virulence**, v. 6, n. 1, p. 93–100, 2 jan. 2015.
- NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142–201, 1 jan. 1998.
- PALMA, N. et al. Virulence factors profiles and ESBL production in *Escherichia coli* causing bacteremia in Peruvian children. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 86, n. 1, p. 70–75, set. 2016.
- POOLMAN, J. T.; WACKER, M. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field. **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, n. 1, p. 6–13, 2 set. 2015.
- RODRIGUEZ-SIEK, K. E. et al. Characterizing the APEC pathotype. **Veterinary Research**, v. 36, n. 2, p. 241–256, mar. 2005.
- RUSSO, T.; JOHNSON, J. Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 5, p. 1753–1754, maio 2000.
- RUSSO, T.; JOHNSON, J. R. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 5, p. 449–456, abr. 2003.
- SANTOS, A. C. M. et al. Assessing the diversity of the virulence potential of *Escherichia coli* isolated from bacteremia in São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, n. 11, p. 968–973, 1 out. 2013.
- SANTOS, A. C. M. et al. Diversity of Hybrid- and Hetero-Pathogenic *Escherichia coli* and Their Potential Implication in More Severe Diseases. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, n. 339, 15 jul. 2020.
- SINGER, M.; DEUTSCHMAN, C. S.; SEYMOUR, C. W. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA**, v. 315, n. 8, p. 801–810, 23 fev. 2016.
- SPURBECK, R. R. et al. *Escherichia coli* Isolates That Carry *vat*, *fyuA*, *chuA* and *yfcV* Efficiently Colonize the Urinary Tract. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 12, p. 4115–4122, dez. 2012.

- SVANBORG, E. C. *et al.* Glycoconjugate receptors for bacteria attaching to mucosal sites: examples for *Escherichia coli* and *Streptococcus pneumoniae*. **Adv Exp Med Biol**, v. 216, n. B, p. 931-939. 1987.
- SZALO, I. M. *et al.* Presence in bovine enteropathogenic (EPEC) and enterohaemorrhagic (EHEC) *Escherichia coli* of genes encoding for putative adhesins of human EHEC strains. **Research in Microbiology**, v. 153, n. 10, p. 653–658, dez. 2002.
- TABASI, M. Genotypic Characterization of Virulence Factors in *Escherichia coli* Isolated from Patients with Acute Cystitis, Pyelonephritis and Asymptomatic Bacteriuria. **JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH**, v. 10, n. 12, 2016.
- TERM: PERSON-YEARS / PERSON YEARS. Max Rady College of Medicine, 2013.
Disponível em:
<http://mchp-appserv.cpe.umanitoba.ca/viewDefinition.php?definitionID=104359>. Acesso em 14/12/2023.
- TOLEDO, M. R. F.; FONTES, C. F.; TRABULSI, L. R. MILi - um meio para a realização dos testes de motilidade, indol e lisina descarboxilase. **Rev. Microbiol**, v. 13, n. 3, p. 230-235, 1982.
- TOLEDO, M. R. F.; FONTES, C. F.; TRABULSI, L. R. EPM-modificação do meio de Rugai e Araújo para a realização simultânea dos testes de produção de gás a partir da glicose, H₂S, urease e triptofano desaminase. **Rev. Microbiol**, v. 13, n. 4, p. 309-315, 1982.
- TOVAL, F. *et al.* Characterization of *Escherichia coli* Isolates from Hospital Inpatients or Outpatients with Urinary Tract Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 407–418, 13 nov. 2013.
- TSAI, W.-L. *et al.* Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia: Comparison of pediatric and adult populations. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 51, n. 6, p. 723–731, 1 dez. 2018.
- USEIN, C.-R. *et al.* Molecular characterization of bacteremic *Escherichia coli* isolates in Romania. **Folia Microbiologica**, v. 61, n. 3, p. 221–226, 9 out. 2015.
- VAISHNAVI, C. Translocation of gut flora and its role in sepsis. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 334, 2013.
- VINCENT, J.-L. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. **JAMA**, v. 302, n. 21, p. 2323, 2 dez. 2009.
- WOODRUFF, M. Immunosuppression and its Complications. **Proc R Soc Med**. v. 62, n. 4. p. 411-416. abr. 1969.
- YAMAMOTO, S. *et al.* Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 85–90, out. 1995.