



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

Sílvia Maria Caldeira

**IMPACTO DAS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS SOBRE A
ETIOLOGIA DAS BACTEREMIAS NOSOCOMIAIS NO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU –UNESP.**

**Botucatu
2013**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

Sílvia Maria Caldeira

**IMPACTO DAS CONDIÇÕES CLIMÁTICAS SOBRE A
ETIOLOGIA DAS BACTEREMIAS NOSOCOMIAIS NO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU – UNESP.**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Doenças Tropicais da
Faculdade de Medicina de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de Doutor**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Co-orientadora: Profa. Adj. Lenice do Rosário de Souza

**Botucatu
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Caldeira, Sílvia Maria.

Impacto das condições climáticas sobre a etiologia das bacteremias nosocomiais no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu–UNESP / Sílvia Maria Caldeira. - Botucatu, 2013

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Coorientador: Lenice do Rosário de Souza

Capes: 40101096

1. Infecção hospitalar. 2. Bactérias gram-negativas. 3. Acinetobacter. 4. Medicina tropical.

Palavras-chave: Acinetobacter baumannii; Bacilos Gram-negativos; Enterobacter spp; Infecções hospitalares; Sazonalidade.



The tree of life, Gustav Klimt, 1909

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“Quem desejar investigar a medicina propriamente, deve assim proceder: em primeiro lugar considerar as estações do ano, e que efeito cada uma delas produz (...) então os ventos, o quente e o frio (...) também considerar a qualidade das águas (...) e o modo como os habitantes vivem (...).”

(Hípcrates, Ares, Águas e Lugares)

“A regra primordial da enfermagem (...) a mais essencial ao paciente, sem a qual todo o resto que se pode fazer é nada (...) é esta: mantenha o ar que ele respira tão puro quanto o ar externo, sem resfriá-lo. (...) Mesmo ao permitir a ventilação do quarto do paciente, poucas pessoas pensam sobre de onde ele vem. Ele pode vir de um corredor cheio de enfermarias, de uma sala não ventilada, cheia de mofo, de uma cozinha, uma lavanderia, ou até de esgotos a céu aberto. (...) E com isso o quarto do paciente é ventilado - ou melhor dito, envenenado.

(Florence Nightingale, Notes on Nursing)



Mother and child, Gustav Klimt, 1905

DEDICATÓRIA

*À minha filha, razão da minha vida, e força
que me impulsiona, para ter a vontade de
lutar, ao nascer de um novo dia*

(...)Podeis outorgar-lhes vosso amor, mas não vossos pensamentos,
Porque eles têm seus próprios pensamentos.
Podeis abrigar seus corpos, mas não suas almas;
Pois suas almas moram na mansão do amanhã,
Que vós não podeis visitar nem mesmo em sonho.
Podeis esforçar-vos por ser como eles, mas não procureis fazê-los como vós,
Porque a vida não anda para trás e não se demora com os dias passados(...)

(Gibran Khalil Gibran, **O Profeta**)

Aos meus pais Solon (in memoriam) e Anésia, pelo sucesso na educação das filhas e manutenção da união familiar mesmo diante de todas as adversidades.

As minhas irmãs, cunhados e sobrinhos, que vibram com as minhas conquistas dando força para alcançar os meus objetivos

“Cada momento de alegria, cada instante efêmero de beleza, cada minuto de amor são razões suficientes para uma vida inteira. A beleza de um único momento redime a dor de todos os sofrimentos”.

(Rubem Alves)



Sunflower, Gustav Klimt, 1907-08

AGRADECIMENTOS

Agradecimento Especial

Ao Prof Dr Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

O meu mais sincero e profundo agradecimento pelos ensinamentos, amizade, acolhimento, dedicação, seriedade e grande incentivo em mais esta fase da minha vida profissional e acadêmica. Pode ter certeza que jamais esquecerei a amizade e a sabedoria a mim transmitidas.

"(...) Ele me ensinou quase tudo o que sei: não só o tesouro oculto nas páginas de cada livro fechado, não só a maravilha de cada pequena ou grande descoberta, não só a comunhão com autores e leitores, mas a sabedoria da vida cotidiana." (...) Esse é o verdadeiro mestre: o que não castiga mas impele, o que não doutrina mas desperta a curiosidade e a acompanha, o que não impõe mas seduz, o que não quer ser modelo nem exemplo mas companheiro de jornada (...)"

(Lia Luft, **Lembro-me dele**)

Há algumas oportunidades na vida científica para aprendermos que a execução de ideias depende do trabalho em equipe, muito obrigada a todos:

Profa. Adj. Lenice do Rosário de Souza, pelo acolhimento e apoio.

Rayana Gonçalves Moreira e Renata Tamie Akazawa, bolsistas de Iniciação Científica, pelo apoio na construção do banco de dados.

Dr. Antonio Ribeiro da Cunha, pelo fornecimento e pela grande ajuda com a interpretação dos dados meteorológicos

Prof. Dr. José Eduardo Corrente, que se engajou com afinco na construção de modelos estocásticos.

Servidores da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, pela solicitude, prontidão e suporte administrativo.

Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, pelo aprendizado.

.....Há oportunidades em que além do trabalho em equipe, existem alguns privilegiados casos, onde acontece a amizade:

Carmen Maria Casquel Montí Juliani, companheira de longa data e atual chefe do Departamento de Enfermagem, em nome de quem agradeço todos os colegas do departamento.

Aguinaldo, Amanda, Andreia, Fernando, Jesse e Regina, companheiros do Departamento de Enfermagem, sempre solícitos.

Solange Sako Cagliari, pela amizade, paciência, conselhos e esclarecimentos.

Amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.

.....Há oportunidades em que podemos escolher a nossa "família":

Luciana, Valmir e Lucas, pelo amparo nos momentos difíceis e pelo compartilhamento das alegrias.

Marina, José Luiz, Cássio, Thaís e Ricardo, pela amizade incondicional.



The Park, Gustav Klimt, 1910

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Resumo.....	1
Abstract.....	3
Introdução.....	5
1. Clima, doença, infecção.....	5
2. Infecções Hospitalares ou Relacionadas à Assistência em Saúde.....	8
3. Etiologia de IH/IRAS: Os patógenos-problema.....	13
4. Sazonalidade de IH/IRAS.....	15
5. Justificativa deste estudo.....	17
Objetivos.....	21
1. Objetivo Geral.....	21
2. Objetivos Específicos.....	21
Métodos.....	22
1. Local e período do estudo.....	22
2. Delineamento do estudo.....	23
3. Definições importantes.....	24
4. Construção do banco de dados.....	25
5. Dados meteorológicos.....	26
6. Primeira fase – “Estudo Ecológico”.....	27
6.1. Incidência em períodos quentes/úmidos “versus” frios/secos	27

6.2. Correlação entre fatores climáticos e incidência para meses específicos.....	28
6.3. Análise de séries temporais para avaliação de sazonalidade.....	28
7. Segunda fase – “Caso-Controle”	29
Resultados.....	30
1. Primeira fase: “Estudo ecológico”	30
1.1. Incidência de microrganismos em períodos “quente/úmido” versus “frio/seco”.....	30
1.2. Análise de regressão de Poisson para correlação de determinantes climáticos e incidência para meses individuais.....	33
1.3. Análise de séries temporais.....	35
2. Segunda fase: “Estudo caso-controle”.....	39
Discussão.....	41
Conclusão.....	50
Referências.....	51



Church in Cassone, Gustav Klimt, 1913

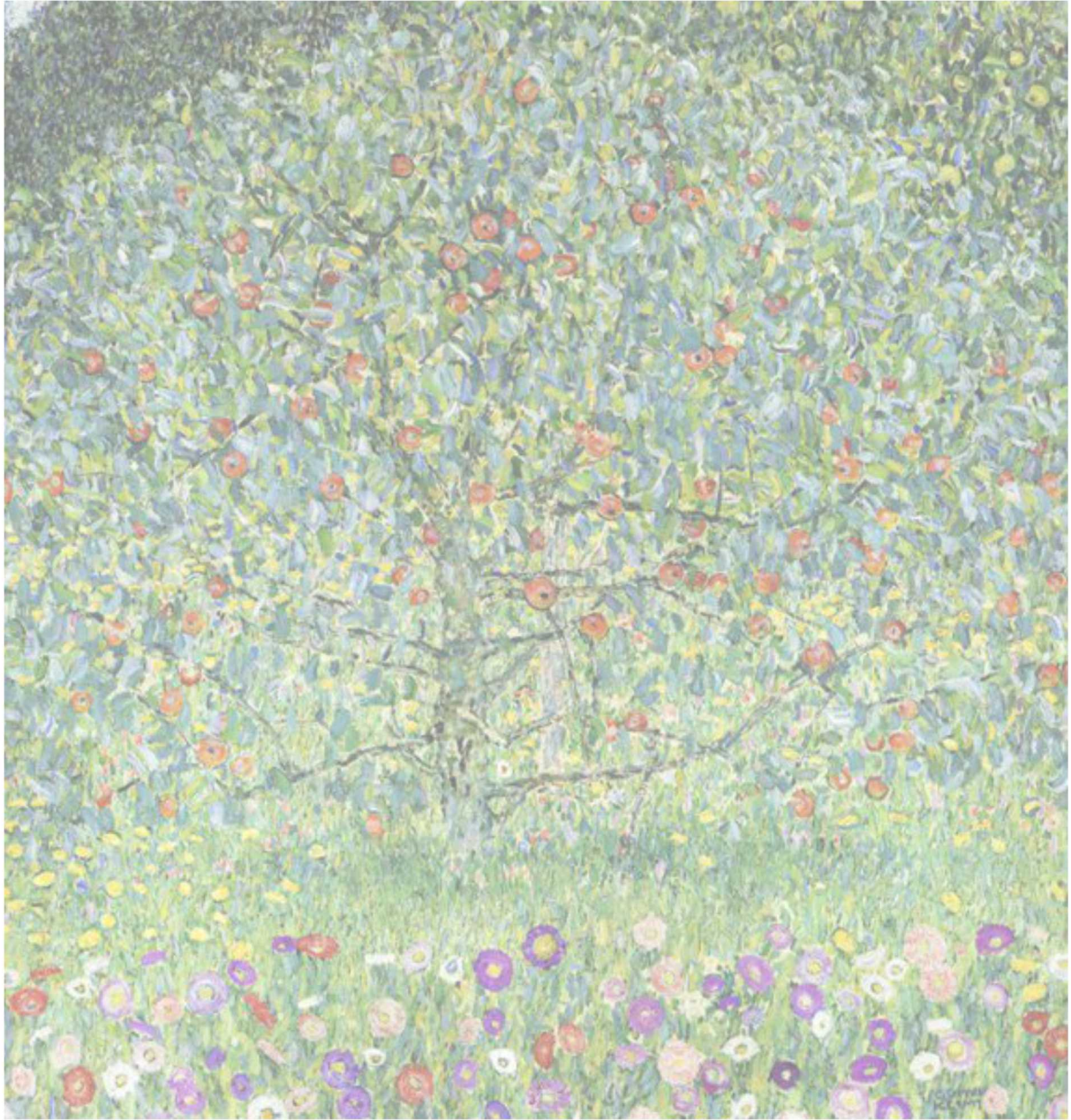
RESUMO

RESUMO

Estudos recentes identificaram comportamento sazonal de alguns microrganismos implicados na etiologia das Infecções Hospitalares ou Relacionadas à Assistência em Saúde (IH/IRAS). A maior parte desses estudos foi conduzida em países de clima temperado. Para identificar a sazonalidade de patógenos hospitalares em uma região tropical, nós conduzimos um estudo ecológico e um caso-controle, envolvendo hemoculturas positivas de presumível origem hospitalar (colhidas após o terceiro dia de internação) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu no período de 2005 a 2010. O estudo foi realizado em duas fases. No estudo ecológico, foram realizadas: (a) comparações de incidência de bacteremias por microrganismos ou grupos específicos em meses “quentes/úmidos” (outubro-março) e “frios/secos” (abril a setembro); (b) análise de regressão para identificar relação entre temperatura e umidade médias e incidência mensal de bacteremias; (c) análise de séries temporais para identificação de sazonalidade. No “caso-controle”, foram abordados fatores climáticos (temperatura e umidade médias dos sete dias que precederam a coleta de cada hemocultura) para identificar preditores do isolamento de microrganismos e grupos específicos, em modelo de regressão logística. Os resultados demonstraram consistência entre as diversas abordagens, identificando para três grupos (Gram-negativos como um todo, *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter* spp) um aumento de incidência nos meses

“quentes/úmidos”, relação significativa entre temperatura média mensal e incidência e sazonalidade em modelos estocásticos. Neste último teste, também se detectou sazonalidade para estafilococos coagulase-negativa, aparentemente não relacionada a fatores climáticos. No estudo de base individual (“caso-controle”) identificamos correlação entre temperaturas elevadas na semana anterior e isolamento de Gram-negativos em geral, e, entre estes, *A. baumannii*. Os achados são coerentes com a literatura, mostrando sazonalidade de Gram-negativos em um hospital em que a maioria das enfermarias não é climatizada. Os resultados apontam para necessidade de direcionamento de ações de controle de infecção e antibioticoterapia para Gram-negativos nos meses quentes do ano.

PALAVRAS-CHAVE: Infecções Hospitalares; Sazonalidade; Bacilos Gram-negativos; *Acinetobacter baumannii*; *Enterobacter* spp.



Apple Tree, Gustav Klimt, 1912

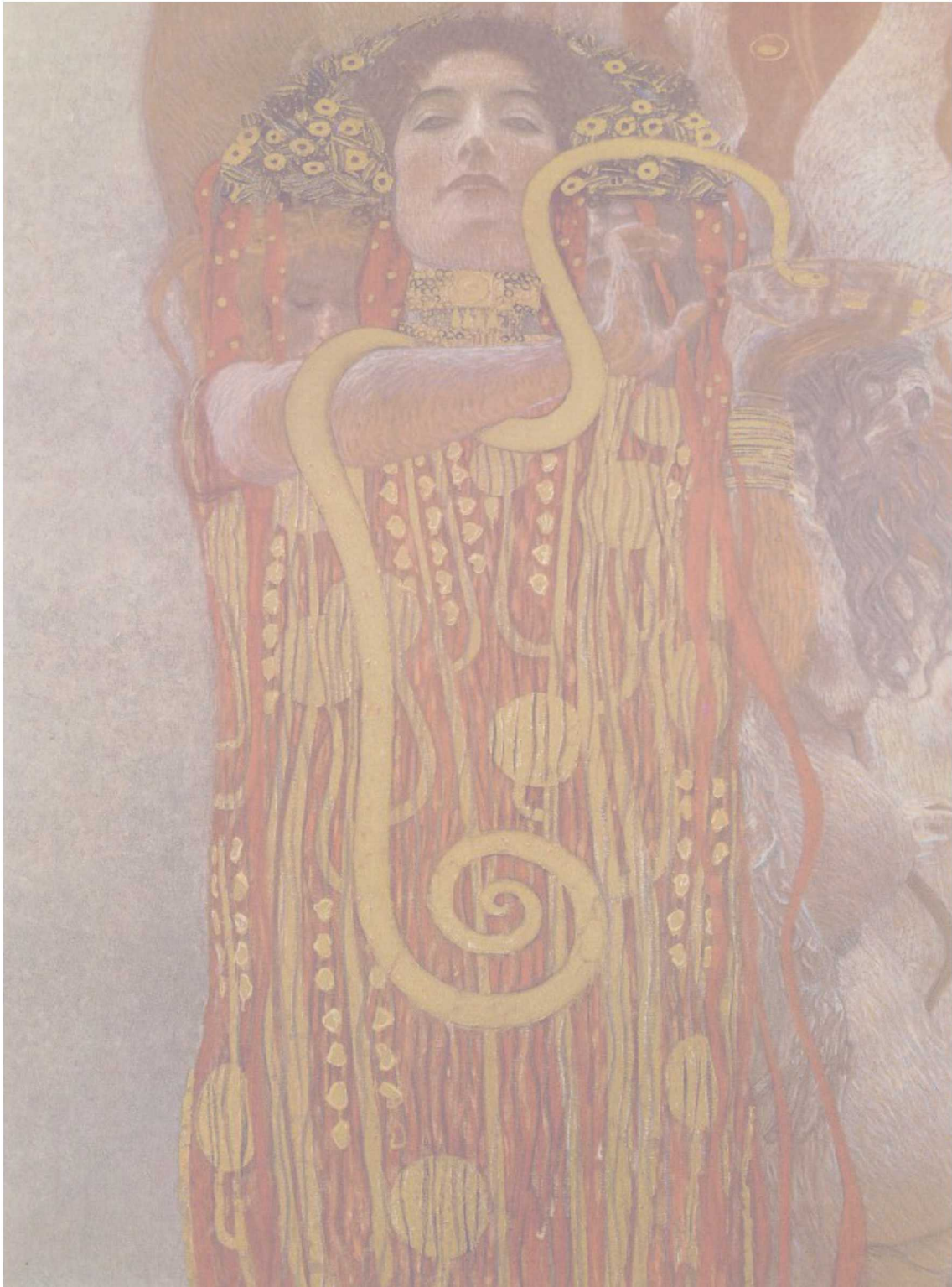
ABSTRACT

ABSTRACT

Recent studies identified seasonal behavior of some microorganisms implicated in the etiology of Healthcare-associated Infections (HAIs). Most of these studies were conducted in developed countries with temperate climate. In order to identify the seasonality of nosocomial pathogens in a tropical region, we conducted an ecological study involving positive blood cultures of suspected nosocomial origin (collected after the third day of hospitalization) in the Hospital das Clinicas from Faculdade de Medicina de Botucatu in the period 2005-2010. The study was conducted in two phases. In the first ("ecologic study") we performed: (a) comparisons of the incidence of bacteremia caused by specific organisms or groups during "warm" (October to March) and "cold" (April to September) months; (b) regression analysis, aimed at identifying the association between temperature and humidity and the average monthly incidence of bacteremia, (c) time series analysis. In the second phase, ("case-control"), weather factors (temperature and humidity averages of the seven days preceding the collection of each blood cultures) were addressed in order to identify predictors of isolation of specific microorganisms and groups in the logistic regression model. The results showed consistency between the various approaches. Three groups (Gram-negative as a whole, *Acinetobacter baumannii* and *Enterobacter* spp) presented increased incidence in "warm" months, significant relation between mean temperature and monthly incidence and seasonality in stochastic models.

Those models also detected seasonality for coagulase-negative staphylococci, apparently not related to climatic factors. In individual-based analysis ("case-control") we identified correlation between high temperatures in the past week and recovery of Gram-negatives in general, and among these, *A. baumannii*. The findings are consistent with the literature, showing seasonality of Gram-negative in a hospital where most of the wards are not climatized. The results emphasize the need to direct infection control measures and empiric antimicrobial therapy towards Gram-negative bacteria during the warm months of the year.

KEYWORDS: Healthcare-associated Infections; Seasonality; Gram-negative bacilli; *Acinetobacter baumannii*; *Enterobacter* spp.



Hygieia, Gustav Klimt, 1900

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

1. Clima, doença, infecção.

O impacto das estações do ano sobre a ocorrência de doenças foi reconhecido por Hipócrates em seu livro “Ares, Águas e Lugares”.¹ Por vários séculos, esse fenômeno foi considerado uma comprovação de previsões astrológicas, ou da influência dos “miasmas” (“ar doentio”) sobre a saúde humana.²

Quando, no século XIX, os trabalhos de Pasteur e seus sucessores estabeleceram de vez a “teoria infecciosa”, o clima passou a ser visto como um aspecto facilitador da transmissão de patógenos, ou “contágio”.³ Em nossos dias, esse tema é não só relevante, mas suscita questões urgentes.⁴

O agravamento dos processos de mudança climática global induzida pela ação humana deu origem a uma série de estudos que buscam quantificar seu impacto sobre a saúde.⁵ O aquecimento global tem consequências diretas sobre mortalidade e morbidade, e a vulnerabilidade individual e coletiva parece ser condicionada tanto pela variação de resposta fisiológica às alterações climáticas quanto aos modos de vida por elas alterados.⁶

Tomemos o exemplo da América Latina, um continente com diversos cenários de clima tropical e subtropical. Seus habitantes estão expostos de antemão às doenças típicas desses ambientes – em especial aqueles que

vivem em condição de pobreza e vulnerabilidade.⁷ Para estes, as doenças de transmissão hídrica ou por vetores representam um risco constante, e este pode ser fortemente amplificado por mudanças ambientais. Há uma necessidade premente de mobilização do setor saúde para o desenvolvimento de ações que construam um ambiente mais saudável, e que, segundo estimativas, poderiam levar à redução de um quarto da carga global de doenças.⁶

O perfil dos agravos à saúde numa população pode ser constante ao longo do ano ou apresentar variações periódicas, geralmente condicionadas pelas estações. A esse fenômeno se dá o nome de “sazonalidade”.

O Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa define “sazonal” como “relativo a estação do ano; próprio de uma estação; estacional”. Já o célebre Dictionary of Epidemiology, de Miquel Porta, traz uma definição operacional para “variação sazonal”:

*Alteração no estado fisiológico ou na ocorrência de doenças em conformidade a um padrão regular sazonal.*⁸

A sazonalidade de doenças infecciosas é particularmente pronunciada. De fato, é a “marca registrada” de algumas delas. A influenza acomete vastas populações nas estações frias (outono e inverno).⁹ Nesse período, estatísticas de saúde registram aumento nas internações e mortes por doença respiratória, em grande parte atribuíveis direta ou indiretamente à influenza.¹⁰ Ressalte-se no entanto que essa sazonalidade é menos

pronunciada nos países de clima tropical.¹¹

Por outro lado, as diarreias infecciosas eram classicamente relacionadas aos meses quentes de verão.¹² Com a melhoria de condições sanitárias da população e a redução de mortalidade (consequência da terapia de reidratação oral), óbitos por diarreia passaram a se concentrar no outono.¹³ Esse fenômeno se deve, possivelmente, a alteração na etiologia dos quadros graves, com predomínio do Rotavirus, um agente com predileção por outono/inverno.¹⁴

Há outras relações bem estabelecidas entre clima e infecção. No Brasil, a meningite meningocócica apresenta picos de incidência nos meses frios.¹⁵ A Dengue, ao contrário, tem se tornado um flagelo de verão para a população urbana de grande parte do país.¹⁶

Os fatores determinantes da sazonalidade de infecções são múltiplos. Aglomeração nos meses frios, proliferação de vetores e deterioração de alimentos em estações quentes e chuvosas, são exemplos de fatores que conferem facilidade de transmissão de alguns microrganismos.¹⁷ Estes fatores estão relativamente bem definidos para as comunidades. Restam no entanto algumas perguntas. Como as estações do ano podem ter impacto sobre as chamadas “infecções hospitalares”? Esse impacto – se existe – pode ser quantificado? É possível, de alguma forma, basear ações de controle no conhecimento das variações sazonais na incidência de patógenos hospitalares? Discutiremos esses itens a seguir.

2. Infecções Hospitalares ou Relacionadas à Assistência em Saúde.

Os eventos adversos decorrentes da assistência à saúde representam um grave risco à segurança de pacientes em todo o mundo.¹⁸ São responsáveis por grande ocorrência de mortes e sequelas permanentes.¹⁹ Têm também grande impacto sobre tempo de permanência e custos hospitalares.²⁰

O termo clássico, “infecção hospitalar” (IH), indica todo processo infeccioso adquirido no hospital ou em decorrência de procedimentos lá realizados.²¹ Em anos recentes, tem sido discutida a correção desse termo frente aos novos modos de assistência. De fato, procedimentos de alta complexidade têm sido realizados em cenários não hospitalares: instituições de longa permanência (ex.: casas de repouso), ambulatorios, hospitais-dia, e mesmo serviços de atendimento domiciliar (ex.: *home care*). Por essa razão, sociedades de especialistas e órgãos governamentais têm preferido utilizar o termo “infecção relacionada à assistência em saúde” (IRAS), que amplia a abrangência para todas as síndromes infecciosas decorrentes de procedimentos de assistência.²² Visto que ambos os termos são de uso corrente na literatura, nós nos referiremos a esses fenômenos como IH/IRAS, em tentativa de agregá-los.

Estima-se que cerca de 5% dos pacientes internados em hospitais dos Estados Unidos e Europa adquiram IH/IRAS. Nos países em desenvolvimento, essa incidência é cinco a vinte vezes maior.^{23,24} Esse aspecto foi confirmado em uma revisão sistemática que comparou dados de incidência de IH/IRAS em países de baixa/média renda e aqueles cuja renda

era considerada “alta”, conforme critérios do Banco Mundial. Comparados aos hospitais dos Estados Unidos e Europa, aqueles localizados em países de baixa/média renda apresentaram três vezes mais infecções em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), nove vezes mais infecções em neonatologia e o dobro da incidência de complicações infecciosas de procedimentos cirúrgicos.²⁵

As principais síndromes de IH/IRAS são: (a) infecção do sítio cirúrgico (ISC); (b) pneumonia; (c) infecção da corrente sanguínea (ICS); e (d) infecção do trato urinário (ITU).

As ISC são mais frequentes após cirurgias de grande porte, e aquelas classificadas como contaminadas ou infectadas. Nestas últimas, sua incidência pode superar 20%. No outro extremo do espectro, com menor incidência, estão as pequenas cirurgias e aquelas classificadas como potencialmente contaminadas ou limpas (estas com incidência de infecção abaixo de 1%).²⁶ Outros aspectos, como diabetes, presença de infecções à distância no momento da cirurgia, assepsia inadequada, tricotomia e uso incorreto de antimicrobianos profiláticos, têm sido associados a maior risco de ISC.²⁷ As ações de controle têm se voltado à correção dos processos de cuidado no pré-operatório imediato e intra-operatório.²⁸

Pneumonias são classificadas em duas categorias, conforme sua associação ou não à ventilação mecânica.²⁹ As pneumonias associadas à ventilação (PAV) são mais comuns.³⁰ As PAV são associadas à colonização de orofaringe e trato digestivo por microrganismos, que a seguir atingem o trato respiratório.³¹ A letalidade desses quadros pode superar 50%.³² Cuidados de prevenção são voltados à higiene oral, mobilização dos pacientes (ex.:

cabeceira elevada) e manejo do aparato ventilatório.³³ As pneumonias não associadas a VM são menos estudadas. Cirurgias torácicas ou abdominais e estados de nível de consciência rebaixados (ex.: após acidente vascular cerebral) têm sido associados a maior risco.^{34,35} No período do estudo, as Unidades de Terapia Intensiva de adultos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB) registraram taxas médias de pneumonia 31 por 1000 dias de uso de ventilação mecânica.

Outro importante sítio de infecção são os cateteres venosos centrais (CVC). Estes têm a capacidade de inocular microrganismos diretamente na corrente sanguínea, determinando a ocorrência das ICS.³⁶ Estas têm letalidade variável, sendo mais brandas quando causadas pelos estafilococos coagulase-negativa e mais severa quando de etiologia fúngica.³⁷ Sua prevenção está diretamente relacionada aos cuidados na inserção e uso diário dos CVC. Os guias preventivos recomendam a retirada desses cateteres tão logo eles deixem de ser estritamente necessários.³⁸ A taxa média nas UTIs de adultos do HCFMB foi de 11 por 1000 CVC-dia.

O trato urinário é também um importante sítio de IH/IRAS. As ITU são relacionadas principalmente a três fatores: o uso de sondas vesicais de demora (SVD), os procedimentos urodinâmicos e as cirurgias urológicas. Destes, as SVD são de longe o fator de risco mais comum.³⁹ Comparadas às IH/IRAS descritas nos parágrafos anteriores, as ITU acrescentam menor mortalidade e morbidade.⁴⁰ Sua prevenção está relacionada a cuidados na inserção e manejo das sondas.⁴¹ Entre adultos de unidades críticas do

HCFMB, a taxa média no período do nosso estudo foi de 15 por 1000 SVD-dia.

Outros sítios de IH/IRAS relevantes são: infecções de pele/partes moles⁴², do trato digestivo (ex.: diarreias)⁴³ e das vias aéreas superiores.⁴⁴ Algumas doenças de comunidade, como influenza⁴⁵, varicela⁴⁶ e tuberculose⁴⁷ podem ser transmitidas no ambiente hospitalar, apresentando comportamento de IH/IRAS.

Ignaz Philipp Semmelweis e Florence Nightingale são considerados os patronos do controle de IH/IRAS. Um olhar cuidadoso para sua contribuição permite delinear um dilema ainda presente nos nossos dias.

Semmelweis identificou a não lavagem de mãos – *um processo de trabalho* – como fator determinante da ocorrência de febre puerperal.⁴⁸ Nightingale, embora valorizando intensamente os processos de trabalho, insiste ao longo de seus mais famosos livros (“Notes on Nursing” e “Notes on Nursing for the Labouring Classes”)⁴⁹ na importância de *ambientes limpos e ventilados* para a recuperação dos doentes. A discussão da predominância dos processos de trabalho ou do ambiente de atenção à saúde pautou a história do controle de infecção.

O controle de IH/IRAS em hospitais tomou corpo na década de 1950. Após 1980, observou-se que o foco de atenção da literatura especializada deslocou-se do ambiente para os processos de trabalho.⁵⁰ Foi vital para essa mudança o trabalho de Maki⁵¹, que demonstrou que, em geral, pacientes contaminavam o ambiente em sua volta, e não o contrário. Assim, os

procedimentos cirúrgicos, a ventilação mecânica, os cateteres venosos centrais e sondas vesicais tornaram-se os alvos do controle de infecção.

Na virada do milênio, nova atenção foi dada ao ambiente. Esse fenômeno deveu-se a um melhor conhecimento sobre os reservatórios ambientais dos patógenos⁵², e ao reconhecimento da importância do *Clostridium difficile* (um agente esporulado, de difícil erradicação de superfícies) como agente de quadros graves de IH/IRAS⁵³. Dessa forma, medidas de desinfecção e limpeza de superfícies foram novamente incluídas entre os pilares da prevenção de infecções nos hospitais e outros serviços de saúde.⁵⁴ Voltaremos a discutir o ambiente inanimado, pois ele pode estar relacionado à sazonalidade dos “patógenos-problema” – agentes infecciosos relevantes na etiologia de IH/IRAS.

3. Etiologia de IH/IRAS: Os patógenos-problema.

Alguns agentes infecciosos têm sido mais frequentemente associados à etiologia das infecções adquiridas em serviços de saúde. Uma outra característica importante desses microrganismos causadores de IH/IRAS é sua frequente resistência a boa parte dos antimicrobianos utilizados na prática clínica.⁵⁴ O grupo de “patógenos-problema” inclui bactérias e fungos (como *Candida* spp e *Aspergillus* spp). Sendo as bactérias os agentes mais comuns, e o foco do presente estudo, listaremos a seguir as mais significativas.

A Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (IDSA, *American Society for Infectious Diseases*) lançou em anos recentes um “acrônimo” para listar as principais bactérias associadas a IH/IRAS e a altos índices de resistência a antimicrobianos.⁵⁵ Na sigla, ESKAPE, estão referidos os seguintes agentes: ***Enterococcus*** spp, ***Staphylococcus aureus***, ***Klebsiella pneumoniae***, ***Acinetobacter baumannii***, ***Pseudomonas aeruginosa*** e ***Enterobacter*** spp. Outros agentes também associados à etiologia de IH/IRAS e à resistência antimicrobiana são os estafilococos coagulase-negativa e *Escherichia coli*.

Entre os cocos Gram-positivos, tem proeminência o *S. aureus*. Este é frequentemente associado à etiologia de ISC, ICS e pneumonias. Os isolados resistentes à meticilina (MRSA, *methicillin-resistant S. aureus*), que apresentam resistência cruzada a todos os antibióticos beta-lactâmicos, predominam nos serviços de saúde desde a década de 1970.⁵⁶ A partir da

década de 1990, passaram também a ser identificados causando doença na comunidade.⁵⁷ Nesse mesmo período, foram descritos os primeiros isolados com suscetibilidade reduzida à vancomicina (VISA, *vancomycin intermediary susceptible S. aureus*). Recentemente, alguns casos de resistência à vancomicina (VRSA, *vancomycin resistant S. aureus*) foram documentados.⁵⁸

Os estafilococos coagulase-negativa (particularmente *Staphylococcus epidermidis*) são os principais agentes etiológicos de infecções associadas a corpos estranhos, como próteses e cateteres vasculares.⁵⁹ São na maioria das vezes resistentes à metilina.

As espécies de enterococos mais importantes são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*.⁶⁰ Fazem parte da flora do trato gastrointestinal e são importantes agentes de infecções hospitalares, incluindo ISC, ICS e ITU. Cepas resistentes à vancomicina (VRE, *vancomycin-resistant Enterococci*) espalharam-se rapidamente em todo o mundo, e são um problema recente em hospitais brasileiros.⁶¹

No Brasil, os bacilos Gram-negativos têm maior relevância entre os agentes de IH/IRAS.⁶² *Pseudomonas aeruginosa* é um importante agente de PAV, ISC e ITU.⁶³ É naturalmente resistente à maior parte dos antimicrobianos. Mesmo drogas frequentemente utilizadas para seu tratamento (como ceftazidima, cefepima e carbapenêmicos) vêm ao longo do tempo, perdendo sua atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Acinetobacter baumannii é outra espécie frequentemente associada à etiologia de IH/IRAS.⁶⁵ É particularmente freqüente em hospitais brasileiros.

Como a *P. aeruginosa*, é geralmente resistente à maior parte dos antimicrobianos, e a suscetibilidade aos carbapenêmicos é cada vez menor.

As enterobactérias são um grupo de bacilos Gram-negativos que fazem parte da flora intestinal. *E. coli*, *Klebsiella* spp e *Enterobacter* spp estão incluídas nesse grupo. Diversas cepas hospitalares são produtoras de enzimas capazes de inativar antimicrobianos. Entre elas estão as beta-lactamases de espectro estendido (ESBL, *extended-spectrum beta-lactamases*)⁶⁶, as carbapenemases originárias da *K. Pneumoniae* (KPC, *K. pneumonia carbapenemase*)⁶⁷ e atualmente disseminadas entre várias espécies. Outros fenótipos emergentes incluem a produção de NDM (New-Delhi-metallo-beta-lactamase), que determina ampla resistência a penicilinas, cefalosporinas e carbapenems.⁶⁸

4. Sazonalidade de IH/IRAS.

Um achado recente lançou uma nova luz sobre a epidemiologia dos chamados “patógenos-problema”, agentes frequentemente implicados na etiologia de IH/IRAS. Identificou-se sazonalidade em sua incidência.

O primeiro relato de variação sazonal na incidência de infecções *Acinetobacter* spp data de 1979.⁶⁹ No entanto, pouca atenção foi dada a esse agente até que – na década de 1990 – ele fosse reconhecido como patógeno emergente em hospitais.^{70,71,72} Em 1999, uma análise de dados reportados ao *National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) System* por hospitais

norte-americanos mostrou importante aumento na incidência de IH/IRAS por *A. baumannii* no verão.⁷³ Embora de forma menos pronunciada, essa sazonalidade foi observada em estudo de vigilância multicêntrica internacional de patógenos multirresistentes (SENTRY).⁷⁴

A sazonalidade de outros bacilos Gram-negativos foi logo documentada. Um estudo conduzido na Universidade de Maryland (EUA) identificou “picos de verão” na incidência de infecções por *P.aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* e *E.coli*, além de *A. baumannii*.⁷⁵ Outros autores, analisando dados de hospitais localizados em países de quatro diferentes continentes (Estados Unidos, França, Austrália e Taiwan) encontraram elevação na incidência de infecções de corrente sanguínea causadas por *K. pneumoniae* nos meses mais quentes do ano.⁷⁶ Por fim, Eber *et al*, analisando dados de 132 hospitais norte-americanos, encontraram elevação de incidência no verão para *A. baumannii*, *P. aeruginosae* *K. pneumoniae*.⁷⁷ Parte desses estudos pesquisou sazonalidade de microrganismos Gram-positivos, comportamento que não foi observado.^{75,77} Esse é um achado interessante, pois em alguns relatos abordando infecções de pele por *S. aureus* (incluindo IH/IRAS e aquelas originadas na comunidade) mostraram certo aumento de incidência em estações quentes.⁷⁸

É importante notar que outros estudos enfocaram a sazonalidade de sítios específicos de infecção (ao invés de patógenos). Nesse caso, observaram-se picos de surtos hospitalares de gastroenterites por Norovirus no inverno e Rotavirus na primavera.⁷⁹ Além disso, os meses de verão foram associados a elevada incidência de infecção da corrente sanguínea em

pacientes oncológicos⁸⁰, infecções do sítio cirúrgico⁸¹ e peritonites relacionadas a diálise.^{82,83}

Todos os achados relatados acima abrem um novo campo para a pesquisa em IH/IRAS. Não se questionando o papel predominante dos processos de trabalho (higiene das mãos, assepsia em procedimentos, manejo de dispositivos invasivos, precauções de isolamento), e mesmo a importância do controle ambiental (limpeza de superfícies), acrescenta-se um novo parâmetro nos determinantes da ocorrência de infecção. Resta saber o quanto este é universal (ou seja, aplicável aos hospitais em geral) e como ele pode ser levado em consideração pelos programas de controle de IH/IRAS.

5. Justificativa deste estudo.

As questões fundamentais que justificam o presente estudo já foram explicitadas ao final dos tópicos 1 e 2 desta introdução. Mas, ao concebê-lo, tínhamos em mente aspectos específicos. Em primeiro lugar, como se comportariam os patógenos em um hospital localizado em região de clima tropical? De que forma a meteorologia influenciaria a incidência de IH/IRAS em um hospital em que a maior parte das enfermarias não é climatizada (ao contrário do que ocorre nos Estados Unidos e Europa)? Qual seria o comportamento do *A. baumannii* – um patógeno reconhecidamente mais relevante no Brasil que nos Estados Unidos?⁸⁴

O HCFMB (**Figura 1**) está localizado em área periurbana do Distrito de Rubião Junior e possui 450 leitos ativos, sendo referência de atendimento terciário para os municípios do entorno, uma população de cerca de um milhão de pessoas. Foi construído ao final década de 1950 com o objetivo inicial de ser um sanatório para pacientes com tuberculose. Por essa razão, possui amplos corredores, grandes janelas para ventilação natural, além de “alpendres” – sacadas ao ar livre interligadas diretamente às enfermarias (**Figura 2**). Além disso, possui a arquitetura típica da época de sua construção, e seus três andares (piso e dois superiores) se espalham horizontalmente por grande extensão. Seu entorno é periurbano, com vegetação abundante e próximo a um pequeno lago. Não muito distante há plantações, inclusive de cana, sendo a queimada da palha um fenômeno comum ao final do inverno.

Como se pode ver, trata-se de um hospital intensamente vulnerável às condições climáticas de seu entorno. Como tais condições provavelmente se repetem em diversos hospitais brasileiros e talvez em outros países em desenvolvimento, a avaliação do impacto do clima sobre a epidemiologia dos agentes etiológicos de IH/IRAS neste hospital pode ser valiosa como modelo para serviços semelhantes.

Havia também uma questão metodológica. A maior parte dos estudos relacionados a comparação de incidência em meses quentes *versus* frios baseou-se em testes como o Qui-quadrado e Exato de Fisher, que pressupõem independência entre as variáveis (condição que não existe em meses subsequentes). Buscamos então sofisticar a abordagem, de modo a

identificar não só a sazonalidade, mas a influência dos dados meteorológicos dos dias imediatamente anteriores à coleta dos exames microbiológicos sobre a etiologia das IH/IRAS.



Figura 1. Vista aérea do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

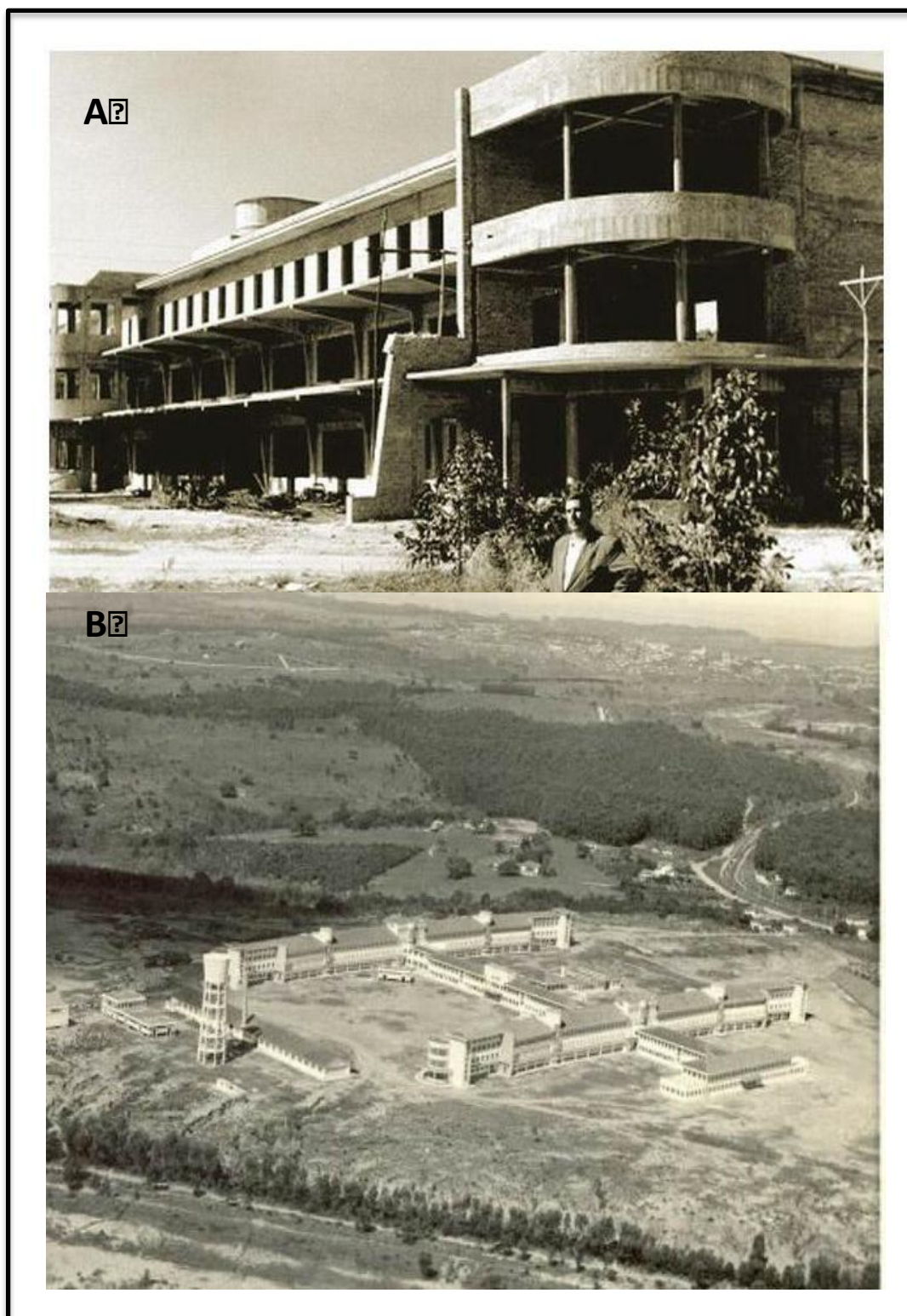
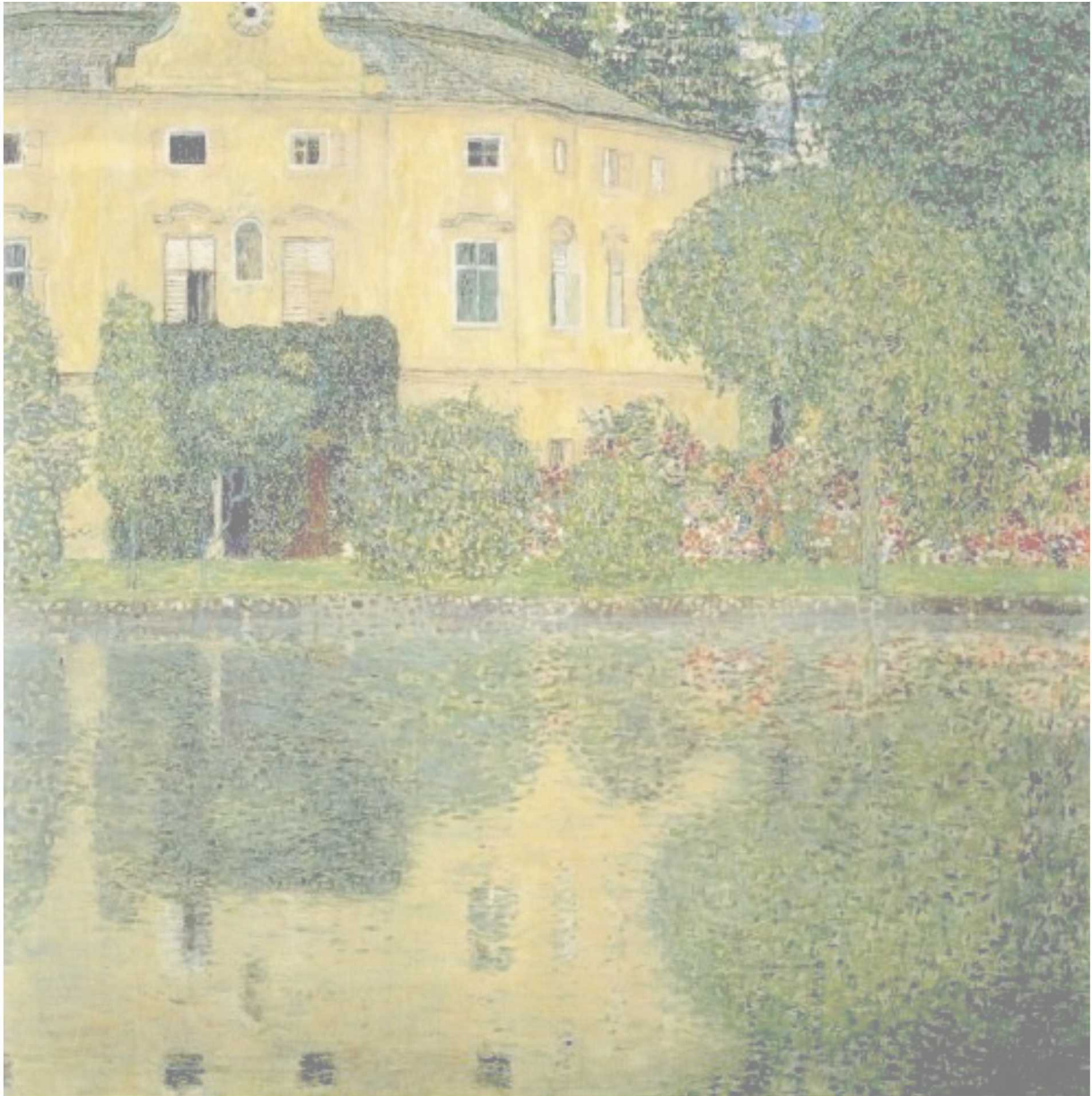


Figura 2. O Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu em fase de construção (A) e logo após sua finalização (B).



House in Attersee, Gustav Klimt, 1910

OBJETIVOS

OBJETIVOS

1. *Objetivo geral:*

- Avaliar a influencia dos determinantes climáticos na incidência e na etiologia das bacteremias nosocomiais (ou seja, relacionadas à assistência em saúde) em pacientes internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

2. *Objetivos específicos:*

- Estimar e comparar a incidência de bacteremias nosocomiais por patógenos-problema específicos entre meses quentes/úmidos (outubro a março) e frios/secos (abril a setembro).
- Identificar, a presença de sazonalidade na incidência das bacteremias nosocomiais por agentes específicos.
- Determinar a influência das condições meteorológicas dos dias que precederam imediatamente a coleta de hemoculturas sobre o agente etiológico isolado.



Bauerngarten, Gustav Klimt, 1905

MÉTODOS

MÉTODOS

1. Local e período do estudo.

O estudo foi conduzido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB). As principais características do hospital foram discutidas na seção 3 da introdução. Outras informações são também pertinentes. O hospital possui quatro Unidades de Terapia Intensiva, que são climatizadas e totalizam 52 leitos. É um hospital de ensino para alunos dos cursos de Medicina e Enfermagem. Além disso, alberga diversos programas de Residência Médica e Aprimoramento Profissional. Participam também de atividades vários alunos dos Programas de Pós-Graduação *strictu sensu* da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

O hospital possui laboratório de microbiologia próprio e Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) constituída nos termos da Lei 9.431 de 1997 e Portaria do Ministério da Saúde 2.616 de 1998. A partir de 2010 essa comissão mudou seu nome para Comissão de Controle de Infecção Relacionada à Assistência em Saúde (CCIRAS). A CCIRAS realiza diversas atividades de vigilância, monitorização e aplicação de precauções de isolamento para patógenos multidroga-resistentes de relevância na etiologia de IH/IRAS no hospital.

O período do estudo abrangeu os anos de 2005 a 2010.

2. Delineamento do estudo.

O estudo teve delineamento ecológico e foi realizado em duas etapas. Na primeira, que pode ser caracterizada como “ecológica”^{85,86} propriamente dita, somente os dados de incidência de bacteremias por patógenos específicos agregada por mês foi analisada. Nas diversas análises, as variáveis independentes (quando analisadas) foram os dados meteorológicos (portanto, eminentemente ecológicos) e os desfechos, incidências agregadas

Na segunda etapa, foram analisados individualmente os casos de bacteremia. Nela, os fatores climáticos dos sete dias que precederam a coleta da hemocultura foram correlacionados aos agentes identificados. Embora tendo algumas características similares aos estudos de caso-controle⁸⁷ (onde casos eram bacteremias por certo patógeno ou grupo, e controles os quadros causados pelos demais agentes), esse estudo somente abordou como fatores de risco os dados meteorológicos.

A **Figura 3** apresenta um diagrama mostrando a síntese das duas fases (ou estudos).

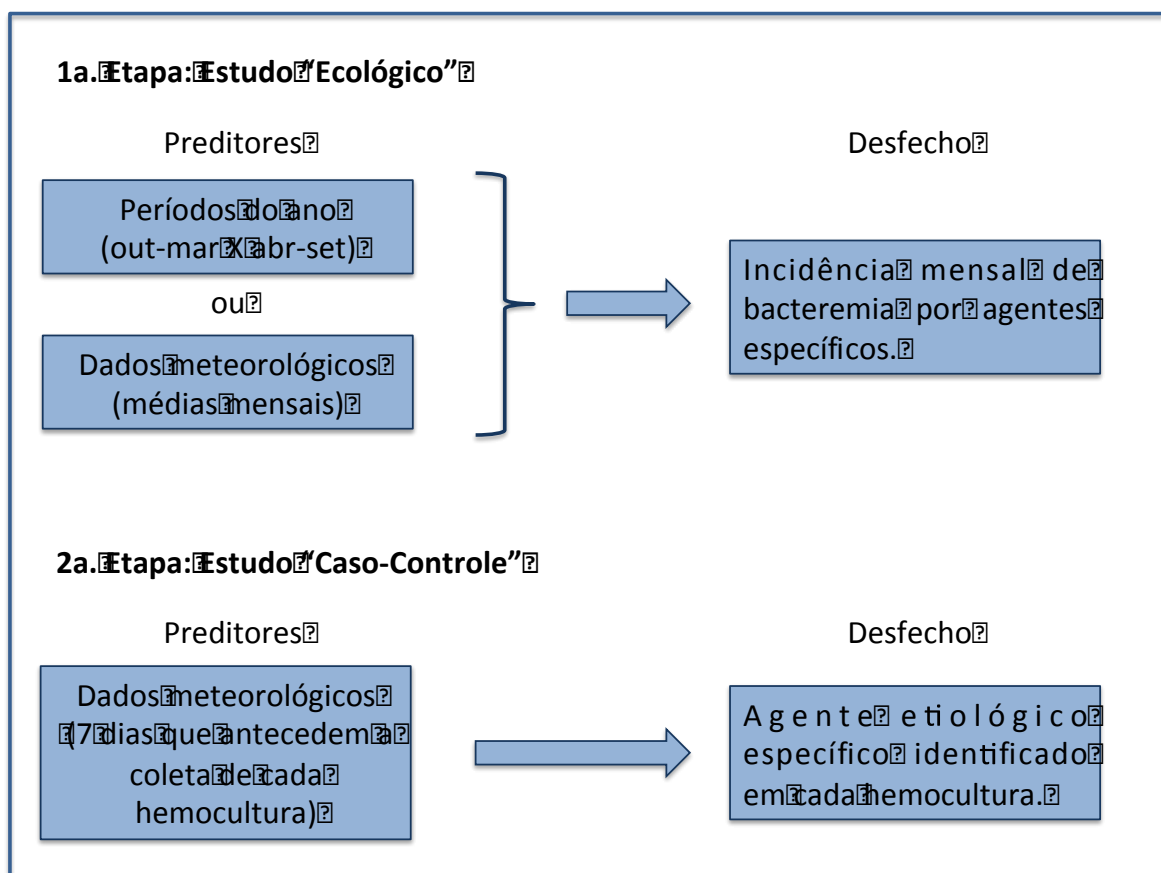


Figura 3. Diagrama mostrando síntese do delineamento das duas fases da pesquisa.

3. Definições importantes.

Em concordância com recente documento da SHEA (*Society for Healthcare Epidemiology of America*), definimos como “bacteremia nosocomial” a positividade em hemocultura após o terceiro dia de internação (“*three-midnight rule*”, ou “regra das três meias-noites”).⁸⁸ Para agentes típicos de infecção da corrente sanguínea (ex.: *S. aureus*, *Enterococcus* spp, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp) foram

consideradas as hemoculturas positivas, mesmo quando únicas. Para estafilococos coagulase-negativa só foi levada em consideração a positividade em duas amostras de hemocultura, conforme critérios definidores de infecção da corrente sanguínea do NHSN (*National Healthcare Safety Network*) dos Estados Unidos.⁸⁹

Em coerência com nossos objetivos e o título do estudo, nossa análise se restringiu às hemoculturas positivas para bactérias, não englobando os fungos. Os agentes e grupos de interesse foram: Gram-positivos totais, *S.aureus*, estafilococos coagulase-negativa, *Enterococcus* spp, Gram-negativos totais, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella* spp e *Enterobacter* spp. Espécies de *Pantoea* spp foram agregadas junto a *Enterobacter*.

4. Construção do banco de dados.

Dados de resultados de hemoculturas foram obtidos junto ao laboratório de microbiologia do HCFMB para o período de janeiro de 2005 a dezembro de 2010. Para construção do banco de dados de resultados microbiológicos foram realizados os seguintes procedimentos:

- *Eliminação de duplicidades*, arbitrariamente definidas como novas hemoculturas do mesmo paciente positivas para o mesmo agente dentro do intervalo de 30 dias. Culturas obtidas após esse intervalo

foram arbitrariamente consideradas “nova infecção”, sendo incluídas no estudo.

- *Eliminação dos isolados possivelmente comunitários*, realizada a partir de consulta ao banco informatizado de movimentação hospitalar. As datas de coleta de culturas foram cotejadas com as datas de internação. Todos os resultados obtidos até o terceiro dia de internação foram eliminados.

Obteve-se então um banco depurado e composto somente de bacteremias “nosocomiais”, conforme critério proposto pela SHEA.⁸⁸

A etapa seguinte envolveu o cálculo de incidência mensal. Para tanto, foi obtido junto ao serviço de contas médicas as taxas mensais de ocupação hospitalar (em pacientes-dia). Essas taxas constituíram o denominador para o cálculo da “densidade de incidência”. O numerador foi obtido pela totalização mensal das bacteremias nosocomiais pelos agentes de interesse. Todas as taxas de “densidade de incidência” foram então expressas em bacteremias por 10.000 pacientes-dia.

5. Dados meteorológicos.

Os dados meteorológicos foram obtidos na estação meteorológica da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, através da colaboração do Dr. Antônio Ribeiro da Cunha, co-pesquisador do projeto. Basicamente, foram utilizados dados de temperatura

e umidade. Foram analisados valores médios mensais (primeira fase do estudo, “ecológica”) ou diários (segunda fase do estudo, “caso-controle”).

6. Primeira fase – “Estudo Ecológico”

6.1. Incidência em períodos quentes/úmidos “versus” frios/secos.

Foram obtidos dados agregados de incidência para os grupos e agentes de interesse para meses quentes/úmidos (outubro a março) e frios/secos (abril a setembro). A definição dos períodos levou em conta dados históricos de temperatura, umidade e pluviosidade agregada. Para determinar essas diferenças, foram aplicados testes de comparação de médias (T de Student) e medianas (U de Mann-Whitney). Também foi realizada preliminarmente análise de correlação entre os dados mensais de temperatura, umidade e precipitação pluvial.

As incidências foram comparadas através do *mid-p exact test* no programa estatístico *online* OpenEpi (©Emory University, Atlanta, GA, USA). Os resultados foram expostos em Razão de Taxas (RR, *Rate Ratio*), e intervalo de confiança (IC) 95%.

6.2. Correlação entre fatores climáticos e incidência para meses específicos.

Dada a variação de temperatura observada para mesmos períodos de anos diferentes, realizamos também testes para correlacionar os dados climáticos (temperatura e umidade médias mensais) à incidência mensal de bacteremias pelos patógenos de interesse. A análise foi realizada em modelos de Regressão de Poisson uni e multivariados⁹⁰ (incluindo os dois parâmetros) no *software* Statistica 10.0 (© Statsoft, Tulsa, OK, USA).

6.3. Análise de séries temporais para avaliação de sazonalidade.

Foram construídos modelos estocásticos com base nas densidades de incidência mensais das bacteremias. Modelos foram obtidos por ajustes de curva (curve fitting), modelagem ARIMA ou Auto-Regressiva (Box-Jenkins) e intervenção e técnicas de análise dinâmica de regressão.⁹¹ Análises foram realizadas no software STATISTICA 10.0 (© Statsoft, Tulsa, OK, USA). Testes para identificação de periodicidade/sazonalidade foram conduzidos, sempre que necessário com filtragem de “ruídos” (dados aberrantes) e supressão de tendências.

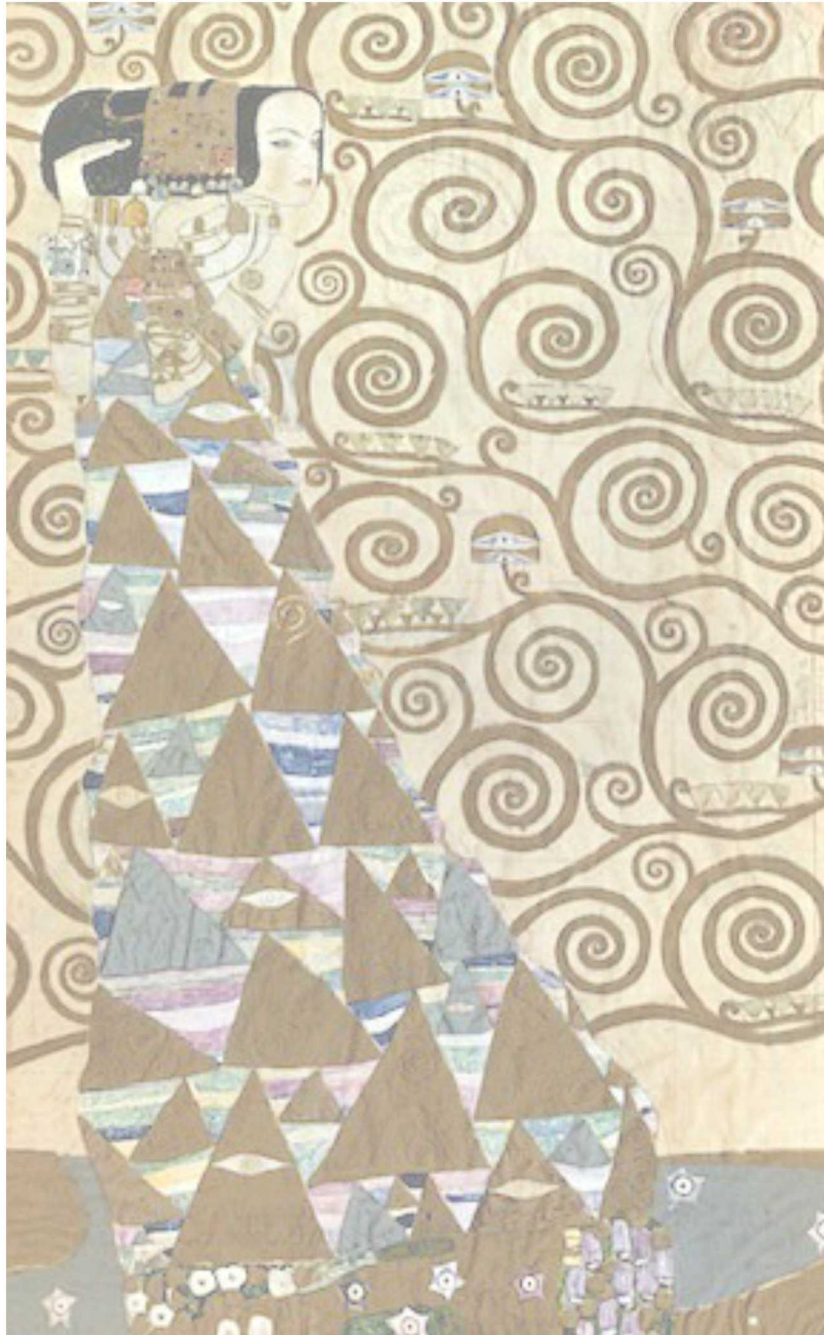
7. Segunda fase – “Caso-Controle”

O universo de estudo da segunda fase foram as hemoculturas positivas. A questão de pesquisa era se os dados meteorológicos dos sete dias que precederam a coleta influenciavam no resultado (aumentando a tendência de isolamento de agentes ou grupos específicos). Para essa análise, construiu-se banco de dados em que os dados de cada resultado eram relacionados aos dados climáticos (temperatura e umidade médias) dos sete dias anteriores à coleta.

As análises foram feitas para:

- Entre todas as culturas: Gram-negativos X Gram-positivos.
- Entre os Gram-negativos: Não fermentadores (*A. baumannii* ou *P. aeruginosa*) X demais Gram-negativos e *Enterobacter spp* X Demais Gram-negativos.

Foram então construídos modelos multivariados de Regressão Logística⁹², incluindo os dados de temperatura e umidade. Dado o fato de que as UTIs do hospital são climatizadas, acrescentamos esse dado (paciente em UTI) como variável de ajuste dos modelos. As análises foram realizadas no *software* SPSS 19.0 (© IBM, Armonk, NY, USA).



Expectation, Gustav Klimt, 1905

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Primeira fase: “Estudo ecológico”

Foram identificados 3.009 resultados de hemoculturas positivas no período. Ao todo, 2.270 haviam sido colhidas após o terceiro dia de internação. Eliminadas as duplicidades e os resultados positivos para fungos e Bacilos Gram-positivos, obtivemos banco de dado de 1.447 bacteremias, que representou a base do estudo.

O banco de dados trabalhado era composto por 1.447 casos individuais de bacteremias.

1.1. Incidências de microrganismos em períodos “quente/úmido” versus “frio/seco”.

O período definido como “quente/úmido” compreendeu os meses de outubro a março. Já o período de comparação (“frio/seco”) incluiu os meses entre abril e setembro. Uma análise de temperatura, umidade e pluviosidade para os períodos é mostrada na **Tabela 1**. Realizando análise de correlação, percebemos concordância entre as variáveis:

- Temperatura e Umidade ($r=0,33$, $p=0,004$).
- Temperatura e Pluviosidade ($r=0,48$, $p<0,001$).
- Umidade e Pluviosidade ($r=0,57$, $p<0,001$).

Tabela 1. Comparação de parâmetros climáticos (temperatura e umidade médias e pluviosidade agregada) para os meses definidos no estudo como “quentes/úmidos” (outubro-março) e “frios/secos” (abril-setembro).

	Temperatura (°C)	Umidade (%)	Pluviosidade (mm)
Q/U: Outubro-Março			
Mediana	22,7	73,69	150,8
Variação	19,4-24,8	57,4-88,2	49,0-482,4
F/S: Abril-Setembro			
Mediana	19,0	67,51	50,2
Variação	15,9-23,1	40,3-82,1	0,0-172,6
p (Mann-Whitney)	<0,001	<0,001	<0,001

Obs.: Q/U, quente/úmido; F/S, frio/seco; DP, desvio padrão

Dados de densidade de incidência foram comparados para os dois períodos. Os resultados são mostrados na **Tabela 2** e na **Figura 4**.

Tabela 2. Densidade de incidência agregada de bacteremias (por 10.000 pacientes-dia) por microrganismos específicos em períodos “quentes-úmidos” versus “frios-secos”.

Grupo ou Espécie	Taxa global*	Q/U*	F/S*	RR (IC95%)	p
GRAM-POSITIVOS	6,72	7,01	6,45	1,09 (0,96-1,30)	0,4
<i>S. aureus</i>	2,79	2,89	2,70	1,07 (0,81-1,41)	0,6
<i>S. coagulase (-)</i>	1,22	1,29	1,16	1,11 (0,73-1,68)	0,6
<i>Enterococcus</i> spp	1,29	1,49	1,11	1,34 (0,89-2,02)	0,2
GRAM-NEGATIVOS	13,67	15,19	12,20	1,24 (1,11-1,41)	<0,001
<i>Acinetobacter</i> spp	2,46	2,89	2,05	1,41 (1,05-1,90)	0,02
<i>P. aeruginosa</i>	1,61	1,80	1,43	1,26 (0,87-1,82)	0,2
<i>Klebsiella</i> spp	2,70	2,89	2,51	1,15 (0,87-1,53)	0,3
<i>Enterobacter</i> spp *	1,79	2,20	1,40	1,57 (1,10-2,23)	0,01
<i>E. coli</i>	1,93	2,03	1,84	1,11 (0,79-2,53)	0,6

Obs.: Categorias significantes assinaladas em vermelho. *Dados de *Pantoea* spp. foram agrupados com *Enterobacter*, gênero no qual as espécies eram anteriormente incluídas. Q/U, período “quente/úmido” (outubro-março); F/S, período “frio/seco” (abril-setembro); RR, *Rate Ratio*(Razão das Taxas), IC95%, intervalo de confiança 95%.

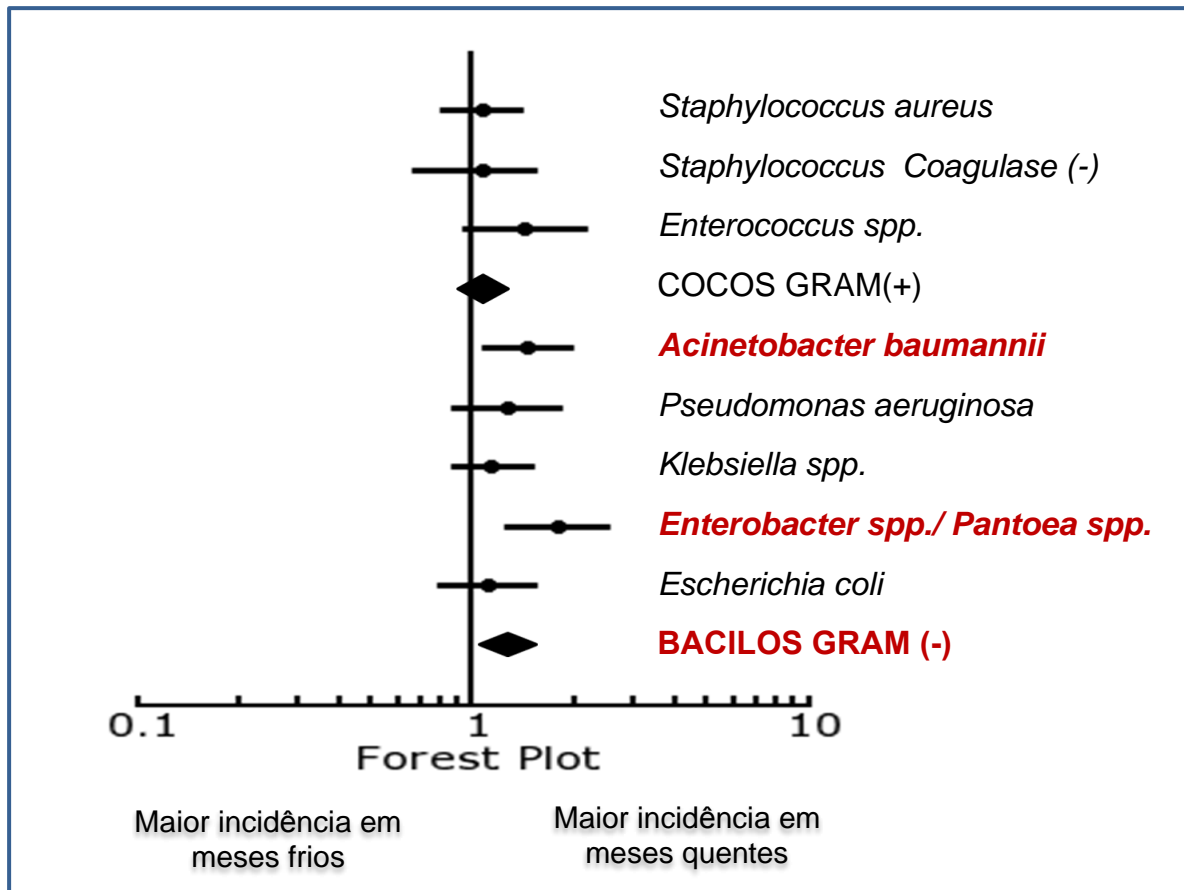


Figura 4. *Forest plot* mostrando comparação (Razão das Taxas) da incidência em meses quentes *versus* frios para os microrganismos mais relevantes.

1.2. Análise de regressão de Poisson para correlação de determinantes climáticos e incidência para meses individuais.

Na análise de regressão, foram identificadas relações entre temperatura média e incidência mensal para Gram-negativos como um todo, *A. baumannii* e *Enterobacter spp* (**Tabela 3**). Uma interessante visão gráfica da comparação temperatura-incidência em modelo linear univariado para bacteremias por Gram-negativos e Gram-positivos pode ser vista na **Figura 5**

Tabela 3. Resultados de regressão de Poisson para correlação entre dados meteorológicos e incidência mensal de bacteremias pelos principais grupos ou microrganismos de interesse.

Microrganismo ou Grupo	Parâmetros meteorológicos	RR (IC95%)	P
GRAM-POSITIVOS	Temperatura*	0,99 (0,95-1,03)	0,63
	Umidade*	1,01 (0,99-1,02)	0,20
<i>S. aureus</i>	Temperatura	0,99 (0,92-1,07)	0,93
	Umidade	0,99 (0,98-1,02)	0,80
ECN	Temperatura	0,95 (0,87-1,06)	0,41
	Umidade	1,02 (0,99-1,04)	0,29
<i>Enterococcus spp</i>	Temperatura	1,012 (0,92-1,12)	0,75
	Umidade	1,01 (0,99-1,04)	0,32
GRAM-NEGATIVOS	Temperatura	1,04 (1,01-1,08)	0,005
	Umidade	1,01 (1,00-1,02)	0,06
<i>A. baumannii</i>	Temperatura	1,13 (1,05-1,22)	0,03
	Umidade	1,00 (0,98-1,02)	0,78
<i>P. aeruginosa</i>	Temperatura	1,03 (0,95-1,14)	0,41
	Umidade	1,01 (0,99-1,03)	0,24
<i>Klebsiella spp</i>	Temperatura	1,01 (0,95-1,08)	0,71
	Umidade	1,01 (0,99-1,03)	0,43
<i>Enterobacter spp</i>	Temperatura	1,10 (1,01-1,19)	0,03
	Umidade	1,00 (0,98-1,02)	0,69
<i>E. coli</i>	Temperatura	1,04 (0,96-1,12)	0,35
	Umidade	1,00 (0,98-1,02)	0,99

Obs.: Valores significantes foram destacados em vermelho. Temperaturas em graus Celsius, Umidade Relativa do ar em unidade percentual.

*Para Temperatura e Umidade, foram utilizados valores médios mensais.

RR, razão de taxas; IC95%, intervalo de confiança 95%.

ECN, estafilococos coagulase-negativa.

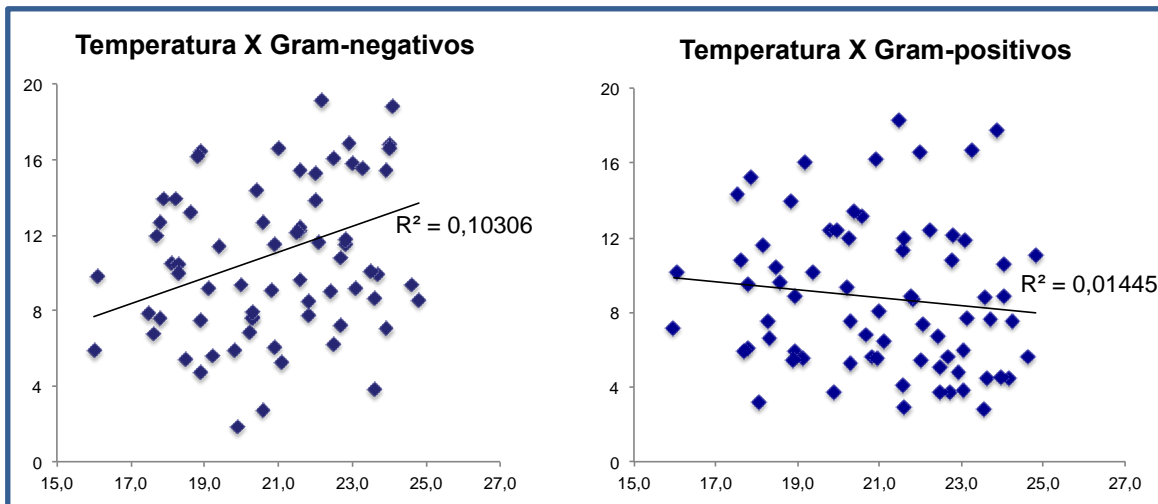


Figura 5. Gráfico de dispersão mostrando correlação linear univariada entre temperatura média (em graus Celsius) e incidência mensal (por 10,000 pacientes-dia) de bacteremias por Gram-negativos (significante) e Gram-positivos (não significante). R^2 , coeficiente de regressão.

1.3. Análise de séries temporais.

Modelos estocásticos foram ajustados para os dados de incidência de bacteremias pelos patógenos de interesse ao longo do tempo. Entre os Gram-positivos, foi identificada sazonalidade somente para estafilococos coagulase-negativa. Quanto aos Gram-negativos, estes apresentaram sazonalidade para o grupo e para *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter* spp (**Tabela 4**).

Tabela 4. Modelos estocásticos para avaliação de sazonalidade dos principais agentes de bacteremias nosocomiais.

Microrganismo ou Grupo	Modelo	Sazonalidade
GRAM-POSITIVOS	AR (1)	Não
<i>S. aureus</i>	AR (1)	Não
S. coagulase-negativa	AR (1)	Sim (12 meses)
<i>Enterococcus spp</i>	AR(1)	Não
GRAM-NEGATIVOS	AR(1)	Sim (12 meses)
A. baumannii	ARIMA (1,0,1)	Sim (12 meses)
<i>P. aeruginosa</i>	AR(1)	Não
<i>Klebsiella spp</i>	AR(1)	Não
Enterobacter spp	AR(1)	Sim (12 meses)
<i>E coli</i>	AR(1)	Não

ARIMA, *Arithmectic Moving Average* (média móvel aritmética); AR, modelo autorregressivo.

A **Figura 6** mostra a variação temporal na incidência mensal de bacteremias por Gram-negativos e Gram-positivos. Os gráficos de incidência ao longo do tempo para os microrganismos para os quais foi identificada sazonalidade são mostrados na **Figura 7**.

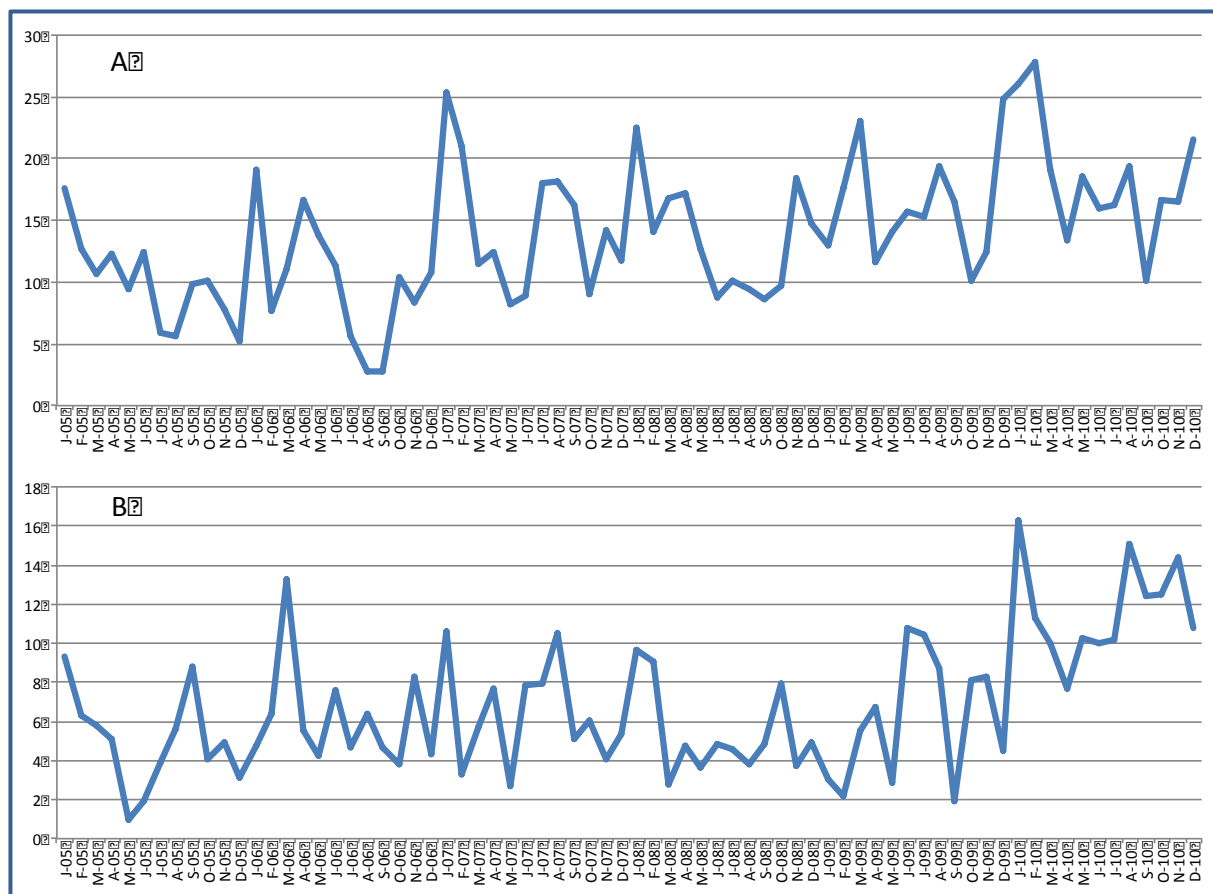


Figura 6. Incidência de bacteremias por Gram-negativos (A) e Gram-positivos (B) ao longo do período do estudo. Detectou-se sazonalidade em modelos estocásticos somente para os Gram-negativos.

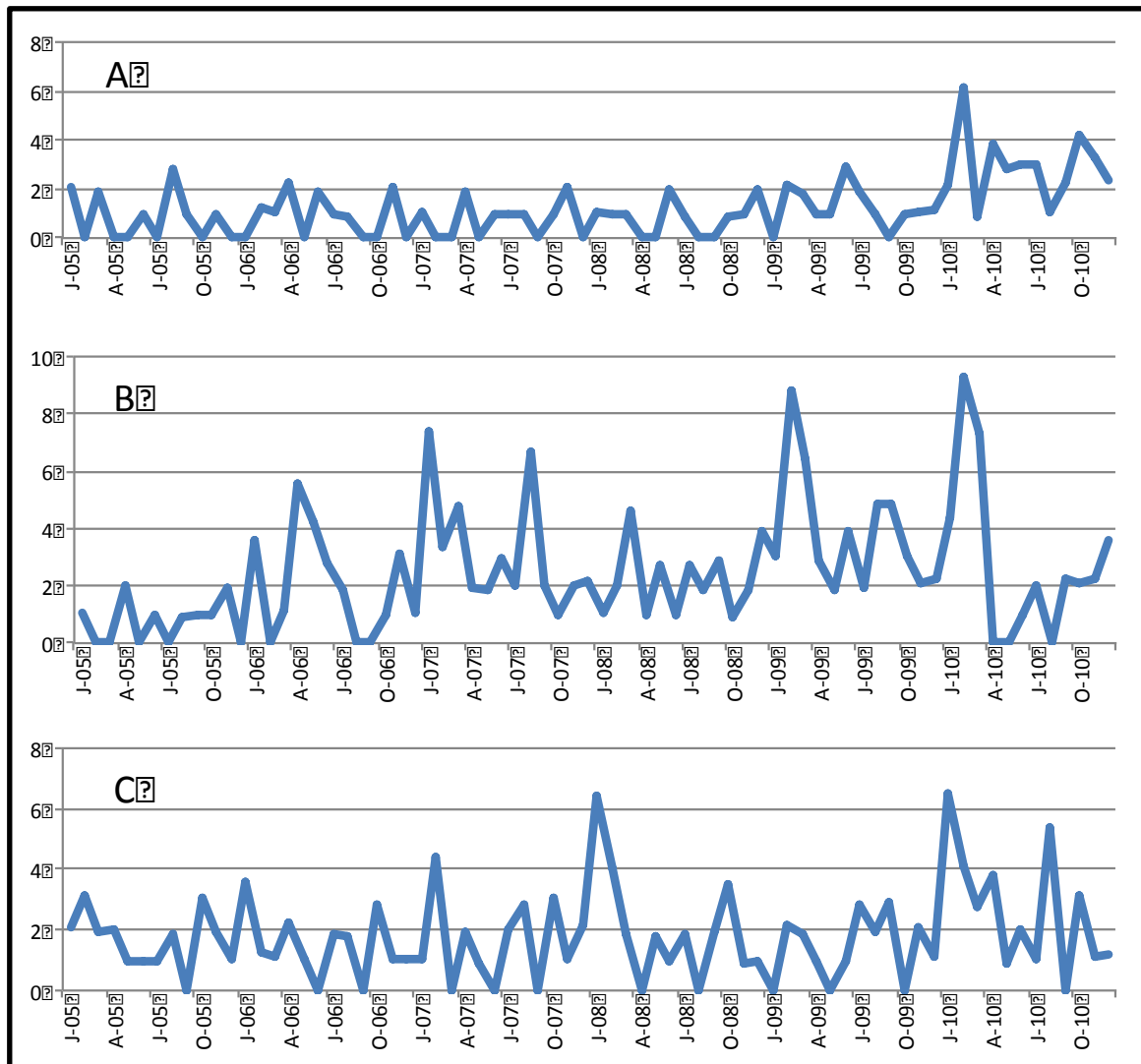


Figura 7. Série temporal de incidência de bacteremia por três agentes que apresentaram sazonalidade em modelos estocásticos: A. *Staphylococcus coagulase-negativa*; B. *Acinetobacter baumannii*; C. *Enterobacter* spp (incluindo *Pantoea* spp).

2. Segunda fase: Estudo “Caso-Controle”.

Nesta fase, construímos modelos de regressão logística para avaliar a influência das condições climáticas nos dias que antecederam a coleta de culturas e os microrganismos isolados. O universo de estudo – conforme explicitado na seção de métodos – foram as hemoculturas positivas. As análises foram feitas para:

Os resultados são mostrados na **Tabela 5**. O isolamento de Gram-negativos foi relacionado a maiores temperaturas e menor umidade nos dias que precederam a coleta. Considerados somente os Gram-negativos, as temperaturas mais elevadas estiveram relacionadas a maior isolamento de *A. baumannii*. Por outro lado, não houve correlação entre os dados meteorológicos e o isolamento de *P. aeruginosa*. Esse isolamento esteve fortemente relacionado à coleta de hemocultura durante internação em UTI.

Tabela 5. Relação entre parâmetros meteorológicos médios dos sete dias que antecederam a coleta de hemocultura e agentes identificados nas bacteremias nosocomiais.

Fator preditor	OR (IC95%)	p
Gram (-) X Gram (+)		
Temperatura média	1,08 (1,04-1,30)	<0,001
Umidade média	0,96 (0,05-0,97)	<0,001
UTI*	0,90 (0,69-1,69)	0,4
A. baumannii X Outros G(-)		
Temperatura média	1,18 (1,10-1,26)	<0,001
Umidade média	1,00 (0,99-1,02)	0,6
UTI*	0,79 (0,52-1,19)	0,3
P. aeruginosa X Outros Gram (-)		
Temperatura média	0,99 (0,92-1,07)	0,9
Umidade média	1,00 (0,98-1,02)	0,7
UTI*	2,04 (1,24-3,05)	0,003
Enterobacterspp X Outros Gram (-)		
Temperatura média	0,95 (0,88-1,02)	0,2
Umidade média	0,98 (0,97-1,002)	0,09
UTI	0,98 (0,57-1,68)	0,9

Obs.: Variáveis significantes estão destacadas em vermelho. OR, Odds Ratio; IC95%, Intervalo de Confiança 95%.

*A internação dos pacientes em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) foi incluída como variável de ajuste nos modelos de regressão logística, devido a sua associação com maior risco de aquisição de IH/IRAS e ao fato de serem as UTIs unidades climatizadas.



Death and Life, Gustav Klimt, 1910

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Os achados do nosso estudo parecem consistentes, por algumas razões. Em primeiro lugar, eles se mantêm ao longo das diferentes análises. Seja na comparação de taxas entre períodos quentes/úmidos e frios/secos, na análise de correlação entre parâmetros meteorológicos e incidência mensal ou nos modelos estocásticos, encontramos três grupos com variação sazonal: os Gram-negativos como um todo, *A. baumannii* e *Enterobacter* spp. Somente nesta última análise aparece um dado algo diferente, que é a sazonalidade dos estafilococos coagulase-negativa.

É preciso interpretarmos os resultados acima. Estes demonstraram que, nos meses quentes/úmidos (outubro a março), em relação aos frios/secos (abril a setembro), observa-se um aumento de 24% na incidência de bacteremias por Bacilos Gram-negativos. Para *A. baumannii*, esse aumento é de 41%, e ele chega a 57% para *Enterobacter* spp. A seguir, o modelo de regressão mostra que, para cada grau Celsius de elevação na temperatura média mensal, temos um acréscimo de aproximadamente 4%, 13% e 10% na incidência de Gram-negativos, *A. baumannii* e *Enterobacter* spp, respectivamente.

Quanto à análise de dados de casos individuais de bacteremia, percebemos que a temperatura elevada e baixa umidade nos dias que precederam a coleta são preditores do isolamento de Gram-negativos. Tomado somente esse grupo os Gram-negativos, a maior temperatura no

período que antecede a coleta está relacionada a maior chance de isolamento de *A. baumannii*, mas não de *Enterobacter*.

Os fenômenos climáticos não têm sido classicamente estudados como fatores de risco para patógenos hospitalares. Em uma revisão sistemática abrangente, Safdar e Maki⁹³ listaram os fatores de risco mais comuns para aquisição de patógenos-problema (em geral multidroga-resistentes): uso de dispositivos invasivos, antimicrobianos de amplo espectro (em geral cefalosporinas), hospitalização prolongada, procedência de casas de repouso e cirurgias abdominais. Nenhum estudo incluído analisou fenômenos climáticos.

Em uma outra revisão sistemática, desta vez voltada aos fatores de risco para aquisição de isolados multidroga-resistentes de *A. baumannii* e *P. aeruginosa*, Falagas & Kopterides⁹⁴ identificam preditores relevantes: dispositivos invasivos e antimicrobianos (cefalosporinas de terceira geração, fluoroquinolonas e carbapenems). Achados semelhantes foram relatados em estudos posteriores, inclusive realizados por nosso grupo de pesquisa.^{95,96} Todos esses estudos tem foco bem definido (fatores de exposição individual) e não abordam o impacto das condições meteorológicas.

A avaliação de relação entre clima e etiologia de IH/IRAS é portanto uma abordagem recente. Nossos achados se inserem nesse contexto. Torna-se então necessário identificar o seu significado. Precisamos compreender os possíveis fatores determinantes da incidência aumentada de alguns bacilos Gram-negativos durante períodos quentes.

Um dos mecanismos postulados é o aumento dos reservatórios ambientais dos Gram-negativos nos meses de verão. De fato, Gram-negativos não fermentadores, como *P. aeruginosa* e *A. baumannii* crescem em ambientes úmidos.⁹⁷ No entanto, essa explicação não é completamente compatível com nossos resultados. Em nosso estudo, observamos elevação de incidência de *A. baumannii* em meses quentes/úmidos, mas o mesmo comportamento não foi observado para *P. aeruginosa*. Achado semelhante (discordância de sazonalidade entre os dois agentes) foi relatado na análise de dados do NNIS para o período de 1987-1996.⁷³ É certo que outros autores encontraram elevação na incidência de *P. aeruginosa* no verão.⁷⁵ Este estudo, porém, foi criticado por incluir culturas de materiais “não nobres” e que possivelmente não refletem infecção.⁹⁸

Outro fator que dificulta o aceite dessa hipótese foi a tendência a relação inversa entre umidade e Gram-negativos, observada tanto na análise ecológica (com um p-valor marginal de 0,06) quanto na de base individual (neste caso, significativa). Sabemos que, embora altas temperaturas e umidade (consequente à pluviosidade) sejam observadas em dados agregados do verão, em escala mais detalhada (ou seja, em análise de valores médios por dia ou mesmo horas) pode haver uma relação inversa. Isso quer dizer que elevações da temperatura podem levar, a curto prazo, a menor umidade, o que é corrigido pela precipitação pluvial. De toda forma, os reservatórios relacionados a umidade não parecem explicar completamente o comportamento sazonal do *A. baumannii* e, menos ainda, para *Enterobacter*, uma bactéria comensal da flora intestinal).

Uma dificuldade final na interpretação relacionada aos reservatórios ambientais diz respeito ao fato de que a sazonalidade de Gram-negativos tem sido observada na Europa e Estados Unidos, onde os hospitais são em geral climatizados.⁹⁸ No entanto, não é possível descartar a hipótese do aumento da carga bacteriana ambiental (e conseqüente pressão ecológica) durante o verão. Isso é especialmente relevante para o hospital do estudo, que possui amplas janelas e intensa ventilação, proveniente de um entorno arborizado e com reservatórios de água. É digno de nota que altas temperaturas têm sido associadas a aumento de contaminação da água e surtos hospitalares de bacilos não fermentadores menos comuns, como *Aeromonas* spp.⁹⁹

Outra explicação possível está no aumento da colonização assintomática e na virulência de microrganismos em períodos de temperatura elevada. Sob esse aspecto, tem sido demonstrada relação entre elevação de temperatura e aumento da virulência de bacilos Gram-negativos.^{100,101} Os achados são de estudos experimentais, e seria interessante saber o quanto a maior produção de fatores de virulência de fato constitui uma vantagem ecológica para os microrganismos na “vida real”.

Há também a possibilidade de que as variações se devam a fatores comportamentais ou organizacionais. Foi sugerido que, nos períodos de verão, o aumento no número de profissionais da saúde em férias determinaria subdimensionamento de pessoal, um fenômeno reconhecidamente associado à maior circulação de patógenos.^{100,102,103}

Também se sugeriu que, no verão, pacientes e profissionais da saúde trazem para o hospital microrganismos adquiridos em reservatórios ambientais.⁷⁷

Outros fatores comportamentais merecem investigação mais detalhada. Será a adesão às medidas de controle de infecção, como higiene das mãos, pior nos períodos quentes? Haverá maior incidência de não-conformidades em precauções de contato, com tendência a não uso de aventais ou de saídas dos pacientes dos seus quartos? Haverá, por fim, maior descuido com a higiene pessoal por parte dos pacientes? Esse é um campo fascinante para pesquisas futuras.

Nossos resultados merecem um olhar mais atento. *A. baumannii* de longe o mais sazonal dos patógenos, conforme resultados de estudos prévios, apresentou relação importante com elevadas temperaturas em todas as análises realizadas. Esse fato talvez explique sua relevância como agente etiológico de IH/IRAS no Brasil.⁸⁴ No HCFMB, ele predomina entre os agentes de pneumonias e ITU, tendo também importante participação nas ICS primárias (dados da Comissão de Controle de Infecção Relacionada à Assistência em Saúde, não publicados). Houve, porém, sazonalidade importante de *Enterobacter*, mas não de *Klebsiella* – contrariando estudo recente.

Não foi demonstrada relação entre fenômenos climáticos e incidência de bacteremias por Gram-positivos. Esse achado, comum em vários estudos^{75,77}, contraria os resultados de um estudo de Mermel et al¹⁰⁵, que

identificou grande efeito sazonal na incidência de MRSA associado à comunidade (*community-associated MRSA*, CA-MRSA) em crianças e adultos. Esse mesmo estudo encontrou sazonalidade para MRSA associado a serviços de saúde (*healthcare-associated MRSA*, HA-MRSA) somente na faixa etária pediátrica. Este e outros estudos⁷⁸ apontam para maior sazonalidade de *S. aureus* na comunidade que nos hospitais.

É digno de nota o achado de sazonalidade (embora não associada a fatores climáticos) para os estafilococos coagulase-negativa. Neste ponto, é importante notar que diversos fatores podem contribuir para sazonalidade, incluindo o ingresso periódico de médicos residentes (e conseqüente falta de experiência em procedimentos, como inserção de CVC) e a variação sazonal nas doenças de base dos pacientes, determinante de sua internação e de sua predisposição à infecção. Embora esses aspectos não tenham sido abordados em nosso estudo, são também um campo aberto para pesquisa. Em recente revisão de sobre sazonalidade de Gram-negativos e de IH/IRAS, Richet¹⁰⁰ chama atenção para o fato de que abordagens simplificadoras (tipo “verão” versus “inverno”) podem mascarar outras formas de sazonalidade. Nosso estudo, ainda que voltado a fatores climáticos, foi desenhado de forma a, através de modelos estocásticos, abordar qualquer forma de variação sazonal.

O encontro de variação sazonal de incidência de IH/IRAS por bacilos Gram-negativos ainda deixa, como apontado por diversos autores, mais perguntas que respostas. Uma delas tem a ver com o fenômeno da resistência. Serão os isolados multidroga-resistentes tão sazonais quanto a

espécie em geral? Essa dúvida foi enfatizada em comunicação recente de Fukuta et al¹⁰⁶, que encontraram sazonalidade para *A. baumannii* em geral, mas não para isolados multidroga-resistentes. No entanto, o estudo multicêntrico de Eber et al⁷⁷ encontrou concordância na sazonalidade entre isolados sensíveis e resistentes de *A. baumannii* e *P. aeruginosa*. Quanto à situação local (Brasil, e o HCFMB em particular), esse é mais um campo para estudos futuros – que, em nosso caso, estão em andamento.

Um aspecto, no entanto, é claro: a variação sazonal de Gram-negativos (e especialmente *A.baumannii*) existe e deve ser levada em conta nas políticas de prevenção da disseminação de microrganismos. Resta saber de que forma isso pode ser operacionalizado.

Em primeiro lugar, o reconhecimento de maior risco para esses agentes em meses quentes pode embasar recomendação mais rigorosa de precauções de isolamento nesses períodos.¹⁰⁷ Isso pode ser realizado tanto através de mudança de recomendações quanto da intensificação de auditorias sobre os itens relevantes para sua correta aplicação: aventais, equipamentos de aferição de sinais vitais, antissépticos.

O mesmo tipo de abordagem pode ser aplicado a outras medidas de prevenção de IH/IRAS, como a higiene das mãos e o manejo de pacientes submetidos a procedimentos ou à inserção de dispositivos invasivos.

O conhecimento da sazonalidade de patógenos também pode embasar a política de uso de antimicrobianos. Primeiro, direcionando a terapia empírica, incluindo antimicrobianos com ação eficaz contra *A. baumannii*

e/ou outros Gram-negativos. Mas também estimulando a política de auditoria/controle de uso de antimicrobianos (*antimicrobial stewardship*).¹⁰⁸

A despeito da controvérsia ainda existente sobre a importância dos reservatórios ambientais, um aumento no rigor da limpeza e desinfecção de superfícies, controle da umidade e da qualidade da água pode também ser realizado nos meses de temperatura mais elevada.

Nosso estudo tem algumas limitações, várias delas inerentes ao caráter retrospectivo e ao uso de variáveis predominantemente ecológicas. Também abrangeu um intervalo relativamente curto de anos, e utilizou dados de um único hospital.

No entanto, a pesquisa também teve, a nosso ver, uma série de características favoráveis. Em primeiro lugar, podemos citar o apuro metodológico. Em consonância com a crítica à abordagem “verão *versus* inverno” através de testes como o Qui-quadrado ou Exato de Fisher, incluímos além dessa análise as técnicas de regressão e a modelagem estocástica.⁹⁸ Também, com o objetivo de reduzir o risco de identificar fatores agregados que não correspondessem ao risco individual (a chamada “falácia ecológica”)¹⁰⁹, incluímos um estudo caso a caso na segunda fase de nossa pesquisa. O resultado foi de impressionante concordância entre todas as abordagens metodológicas aplicadas. Também consideramos uma vantagem a realização do estudo em um hospital não climatizado, literalmente “aberto” para o ambiente circundante, características relativamente comuns em hospitais brasileiros.

Naturalmente, nossos resultados abrem portas e requerem novas pesquisas. Alguns dos alvos de estudos futuros foram apontados nos parágrafos anteriores. Deve-se no entanto reforçar a necessidade de estudos multicêntricos, utilizando por exemplo dados de sistemas governamentais de vigilância de IH/IRAS.¹¹⁰

A sazonalidade de IH/IRAS pode ser uma novidade, mas aponta para um fato que merece atenção. Em uma era de “acreditações” e “qualidade total”, talvez valha a pena recordar o quanto as infecções adquiridas em serviços de saúde têm em comum com doenças infecciosas em geral, como influenza e dengue. E talvez o controle de infecção tenha a aprender com as estratégias aplicadas contra essas doenças.



Hope II, Gustav Klimt, 1907

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

- Observou-se aumento na incidência de bacteremias por bacilos Gram-negativos em geral, e por *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter* spp em particular, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, nos meses mais quentes e úmidos do ano (outubro a março).
- Em modelos multivariados de Regressão de Poisson, determinou-se correlação entre temperatura média e elevação da incidência mensal para os mesmos grupos apontados acima.
- Em análise de séries temporais, as bacteremias por Gram-negativos (como um todo), *A. baumannii* e *Enterobacter* spp apresentaram sazonalidade evidente. Detectou-se também sazonalidade em bacteremias por estafilococos coagulase-negativa, aparentemente não relacionada aos parâmetros meteorológicos estudados.
- Analisando os casos individuais de bacteremia, identificou-se que a positividade de hemoculturas para Gram-negativos (e, dentro destes, *A. baumannii*) estava relacionada a temperaturas mais elevadas na semana que precedeu a coleta.



The Park of Schloss Kammer am Attersee, Gustav Klimt, 1910

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Hippocrattes. On airs, waters, places (transl. Francis Adams). The Internet Classic Archives [cited 2013 Jun 02]. Available from: <http://classics.mit.edu/Hippocrates/airwatpl.mb.txt>.
2. Czeresnia D. Do Contágio à Transmissão: ciência e cultura na gênese do conhecimento epidemiológico. 2a. ed. Rio de Janeiro: FiOCruz; 2000.
3. Digoutte JP, Hoosen AA. Infectious diseases in the year of Louis Pasteur. *Mol Med Today*. 1995;1:160-1.
4. Grasso M, Manera M, Chiabai A, Markandya A. The health effects of climate change: a survey of recent quantitative research. *Int J Environ Res Public Health*. 2012;9:1523-47.
5. Massad E, Coutinho FA, Lopez LF, da Silva DR. Modeling the impact of global warming on vector-borne infections. *Phys Life Rev*. 2011; 8:169-99.
6. Barcellos C, Monteiro AMV, Corvalán C, Gurgel HC, Carvalho MS, Artaxo P, et al. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 2009;18: 285-304.
7. Moreno AR. Climate change and human health in Latin America: drivers, effects, and policies. *Reg Environ Change*. 2006;6: 157-164.
8. Porta M. *Dictionary of epidemiology*. Oxford University Press, 2008 .

9. Tamerius J, Nelson MI, Zhou SZ, Viboud C, Miller MA, Alonso WJ. Global influenza seasonality: reconciling patterns across temperate and tropical regions. *Environ Health Perspect.* 2011;119:439-45.
10. Mauskopf J, Klesse M, Lee S, Herrera-Taracena G. The burden of influenza complications in different high-risk groups: a targeted literature review. *J Med Econ.* 2013;16:264-77.
11. Lowen AC, Mubareka S, Steel J, Palese P. Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature. *PLoS Pathog* 2007;3: 1470-6.
12. Victora CG, Vaughan JP, Barros FC. The seasonality of infant deaths due to diarrheal and respiratory diseases in southern Brazil, 1974-1978. *Bull Pan Am Health Organ.* 1985;19:29-39.
13. Melli LC, Waldman EA. Temporal trends and inequality in under-5 mortality from diarrhea. *J Pediatr (Rio J).* 2009;85:21-7.
14. Patel MM, Pitzer VE, Alonso WJ, Vera D, Lopman B, Tate J, et al. Global seasonality of rotavirus disease. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32:e134-47.
15. Barata RB, de Moraes JC. A doença meningocócica em São Paulo, Brasil, no século XX: características epidemiológicas. *Cad Saude Publica.* 2005;21:1458-71.
16. Luz PM, Mendes BV, Codeço CT, Struchiner CJ, Galvani AP. Time series analysis of dengue incidence in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;79:933-9.
17. Fisman DN. Seasonality of infectious diseases. *Annu Rev Public Health.* 2007;28:127-43.

18. Pearson A. Historical and changing epidemiology of healthcare-associated infections. *J Hosp Infect.* 2009;73:296-304.
19. Calfee DP. Crisis in hospital-acquired, healthcare-associated infections. *Annu Rev Med.* 2012;63:359-71.
20. Umscheid CA, Mitchell MD, Doshi JA, Agarwal R, Williams K, Brennan PJ. Estimating the proportion of healthcare-associated infections that are reasonably preventable and the related mortality and costs. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011;32:101-14.
21. Ostrowski B. Epidemiology of healthcare-associated infections. In: Jarvis WR. *Bennet's and Brachman's Hospital Infections*, 5th ed. New York: Lippincott, 2007.p. 3-24.
22. Jarvis WR. Infection control and changing health-care delivery systems. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:170-3.
23. Pittet D, Allegranzi B, Storr J, Bagheri Nejad S, Dziekan G, Leotsakos A, et al. Infection control as a major World Health Organization priority for developing countries. *J Hosp Infect.* 2008; 68: 285-92.
24. Pittet D, Donaldson L. Challenging the world: patient safety and health care-associated infection. *Int J Qual Health Care.* 2006; 18:4-8.
25. Allegranzi B, Bagheri Nejad S, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2011;377:228-41.

-
26. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection, 1999. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control*. 1999;27:97-132.
 27. Junker T, Mujagic E, Hoffmann H, Rosenthal R, Misteli H, Zwahlen M, et al. Prevention and control of surgical site infections: review of the Basel Cohort Study. *Swiss Med Wkly*. 2012;142:w13616.
 28. Anderson DJ, Kaye KS, Classen D, Arias KM, Podgorny K, Burstin H, et al. Strategies to prevent surgical site infections in acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(Suppl 1):S51-61.
 29. Barbier F, Andremont A, Wolff M, Bouadma L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. *Curr Opin Pulm Med*. 2013;19:216-28.
 30. Kollef MH. Ventilator-associated complications, including infection-related complications: the way forward. *Crit Care Clin*. 2013;29:33-50.
 31. Bouadma L, Wolff M, Lucet JC. Ventilator-associated pneumonia and its prevention. *Curr Opin Infect Dis*. 2012;25:395-404.
 32. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT, et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomized prevention studies. *Lancet Infect Dis*. 2013;1-7. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70081-1.

33. Grgurich PE, Hudcova J, Lei Y, Sarwar A, Craven DE. Management and prevention of ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant pathogens. *Expert Rev Respir Med.* 2012;6:533-55.
34. Sopena N, Sabrià M, The Neunos 2000 Study Group. Multicenter study of hospital-acquired pneumonia in non-ICU patients. *Chest* 2005; 127: 213-19.
35. Fortaleza CM, Abati PA, Batista MR, Dias A. Risk factors for hospital-acquired pneumonia in non ventilated adults. *Braz J Infect Dis.* 2009;13:284-8.
36. Ugas MA, Cho H, Trilling GM, Tahir Z, Raja HF, Ramadan S, et al. Central and peripheral venous lines-associated blood stream infections in the critically ill surgical patients. *Ann Surg Innov Res.* 2012 ;6:8.
37. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:501-9.
38. Miller SE, Maragakis LL. Central line-associated bloodstream infection prevention. *Curr Opin Infect Dis.* 2012;25:412-22.
39. Tambyah PA, Oon J. Catheter-associated urinary tract infection. *Curr Opin Infect Dis.* 2012;25:365-70.
40. Monaghan SF, Heffernan DS, Thakkar RK, Reinert SE, Machan JT, Connolly MD, et al. The development of a urinary tract infection is associated with increased mortality in trauma patients. *J Trauma.* 2011;71:1569-74.

41. Chenoweth C, Saint S. Preventing catheter-associated urinary tract infections in the intensive care unit. *Crit Care Clin.* 2013;29:19-32.
42. Raya-Cruz M, Ferullo I, Arrizabalaga-Asenjo M, Nadal-Nadal A, Díaz-Antolín MP, Garau-Colom M, et al. Infecciones de piel y partes blandas en pacientes hospitalizados: factores epidemiológicos, microbiológicos, clínicos y pronósticos. *Enferm Infect Microbiol Clin.* Forthcoming 2013.
43. Cunha BA. Nosocomial diarrhea. *Crit Care Clin.* 1998;14:329-38.
44. Riga M, Danielidis V, Pneumatikos I. Rhinosinusitis in the intensive care unit patients: a review of the possible underlying mechanisms and proposals for the investigation of their potential role in functional treatment interventions. *J Crit Care.* 2010;25:171.e9-14.
45. Maltezou HC. Nosocomial influenza: new concepts and practice. *Curr Opin Infect Dis.* 2008;21:337-43.
46. Weber DJ, Rutala WA, Hamilton H. Prevention and control of varicella-zoster infections in healthcare facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996;17:694-705.
47. Humphreys H. Control and prevention of healthcare-associated tuberculosis: the role of respiratory isolation and personal respiratory protection. *J Hosp Infect.* 2007;66:1-5.
48. Semmelweis I. The etiology, concept and prophylaxis of childbed fever. Madison: The University of Wisconsin Press; 1983.
49. Nightingale F. Notes on nursing and notes on nursing for the labouring classes. New York: Springer; 2010.

-
50. Selwyn W. Hospital infection: the first 2500 years. *J Hosp Infect.* 2000;18 Suppl A:5-64.
 51. Maki DG, Alvarado CJ, Hassemer CA, Zilz M A. Relation of the inanimate hospital environment to endemic nosocomial infection. *N Engl J Med.* 1982;307:1562-6.
 52. Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis.* 2004;39:1182-9.
 53. Faires MC, Pearl DL, Ciccotelli WA, Straus K, Zinken G, Berke O, et al. A prospective study to examine the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile* contamination in the general environment of three community hospitals in southern Ontario, Canada. *BMC Infect Dis.* 2012;12:290.
 54. Rice LB. Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31 Suppl1:S7-10.
 55. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1-12.
 56. Calfee DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci, and other Gram-positives in healthcare. *Curr Opin Infect Dis.* 2012;25:385-94.
 57. Witte W. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: what do we need to know? *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15 Suppl 7:17-25.

-
58. Loomba PS, Taneja J, Mishra B. Methicillin and Vancomycin Resistant *S. aureus* in Hospitalized Patients. *J Glob Infect Dis.* 2010;2:275-83.
 59. McCann MT, Gilmore BF, Gorman SP. *Staphylococcus epidermidis* device-related infections: pathogenesis and clinical management. *J Pharm Pharmacol.* 2008;60:1551-71.
 60. Arias CA, Murray BE. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10:266-78.
 61. Palazzo IC, Pitondo-Silva A, Levy CE, da Costa Darini AL. Changes in vancomycin-resistant Enterococcus faecium causing outbreaks in Brazil. *J Hosp Infect.* 2011;79:70-4.
 62. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73:354-60.
 63. Kerr KG, Snelling AM. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *J Hosp Infect.* 2009;73:338-44.
 64. Zilberberg MD, Chen J, Mody SH, Ramsey AM, Shorr AF. Imipenem resistance of *Pseudomonas* in pneumonia: a systematic literature review. *BMC Pulm Med.* 2010;10:45.
 65. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence.* 2012;3:243-50.
 66. Bissett L. ESBL-producing Enterobacteriaceae: controlling the spread of infection. *Br J Nurs.* 2007;16:644-7.

-
67. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:413-31.
 68. Centers for Disease Control and Prevention. Notes from the field: hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing New Delhi metallo-beta-lactamase-Denver, Colorado, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62(6):108.
 69. Smith PW. Seasonal incidence of *Acinetobacter* infection. *J Infect Dis.* 1979;140:275-6.
 70. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41:11-9.
 71. Christie C, Mazon D, Hierholzer W Jr, Patterson JE. Molecular heterogeneity of *Acinetobacter baumannii* isolates during seasonal increase in prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1995;16:590-4.
 72. Siau H, Yuen KY, Wong SS, Ho PL, Luk WK. The epidemiology of *Acinetobacter* infections in Hong Kong. *J Med Microbiol.* 1996;44:340-7.
 73. McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: 1987-1996. *Nosocomial Infections Surveillance System.* *Clin Infect Dis.* 1999 Nov;29:1133-7.

-
74. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Liñares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-1999). *Clin Infect Dis*. 2001;32(Suppl 2):S104-13.
 75. Perencevich EN, McGregor JC, Shardell M, Furuno JP, Harris AD, Morris JG Jr, et al. Summer Peaks in the incidences of Gram-Negative bacterial infection among hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008 Dec;29:1124-31.
 76. Anderson DJ, Richet H, Chen LF, Spelman DW, Hung YJ, Huang AT, et al. Seasonal variation in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection on 4 continents. *J Infect Dis*. 2008 ;197:752-6.
 77. Eber MR, Shardell M, Schweizer ML, Laxminarayan R, Perencevich EN. Seasonal and temperature-associated increases in gram-negative bacterial bloodstream infections among hospitalized patients. *PLoS One*. 2011;6:e25298.
 78. Leekha S, Diekema DJ, Perencevich EN. Seasonality of staphylococcal infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:927-33.
 79. Spackova M, Altmann D, Eckmanns T, Koch J, Krause G. High level of gastrointestinal nosocomial infections in the german surveillance system, 2002-2008. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:1273-8.
 80. Smith TL, Pullen GT, Crouse V, Rosenberg J, Jarvis WR. Bloodstream infections in pediatric oncology outpatients: a new healthcare systems challenge. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2002;23:239-43.

81. Koljonen V, Tukiainen E, Pipping D, Kolho E. 'Dog days' surgical site infections in a Finnish trauma hospital during 2002-2005. *J Hosp Infect.* 2009 Mar;71:290-1.
82. Kim MJ, Song JH, Park YJ, Kim GA, Lee SW. The influence of seasonal factors on the incidence of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis in the temperate zone. *Adv Perit Dial.* 2000;16:243-7.
83. Cho Y, Badve SV, Hawley CM, McDonald SP, Brown FG, Boudville N, Wiggins KJ, Bannister KM, Clayton PA, Johnson DW. Seasonal variation in peritoneal dialysis-associated peritonitis: a multi-centre registry study. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;27:2028-36.
84. Rossi F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. *Clin Infect Dis.* 2011;52:1138-43.
85. Morgenstern H. Ecologic studies in epidemiology: concepts, principles and methods. *Annu Rev Public Health* 1995; 16:61-81.
86. Wakefield J. Ecologic studies revisited. *Annu Rev Public Health* 2008; 29:75-90.
87. Schlessman JJ. *Case-control studies: design, conduct, analysis.* New York: Oxford University Press; 1982.
88. Cohen AL, Calfee D, Fridkin SK, Huang SS, Jernigan JA, Lautenbach E, et al. Recommendations for metrics for multidrug-resistant organisms in healthcare settings: SHEA/HICPAC Position paper. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29:901-13.

-
89. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008; 36:309-32.
 90. Kleinbaum DG, Kupper LL, Nizam A, Muller KE. *Applied Regression Analysis and Other Multivariable Methods*. Belmont: Thomson; 2008.
 91. Fernandez-Perez C, Tejada J, Carrasco M. Multivariate time series analysis in nosocomial infection surveillance: a case study. *Int J Epidemiol* 1998; 27:282-8.
 92. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*, 2nd Ed. Hoboken: John Wiley & Sons; 2000.
 93. Safdar N, Maki DG. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, enterococcus, gram-negative bacilli, *Clostridium difficile*, and *Candida*. *Ann Intern Med*. 2002;136(11):834-44.
 94. Falagas ME, Kopterides P. Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. *J Hosp Infect*. 2006;64:7-15.
 95. Fortaleza CM, Freire MP, Filho Dde C, de Carvalho Ramos M. Risk factors for recovery of imipenem- or ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among patients admitted to a teaching hospital in Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27:901-6.

-
96. Castelo Branco Fortaleza CM, Moreira de Freitas F, da Paz Lauterbach G. Colonization pressure and risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical surgical intensive care unit in Brazil. *Am J Infect Control*. 2013;41:263-5.
 97. BaghalAsghari F, Nikaeen M, Mirhendi H. Rapid monitoring of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: a key priority in prevention of nosocomial infection. *FEMS Microbiol Lett*. 2013;343:77-81.
 98. Freeman J, Anderson D, Sexton DJ. Emerging evidence for seasonality of Gram-negative bacterial infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009; 30:813-4.
 99. Picard B, Goulet P. Seasonal prevalence of nosocomial *Aeromonas hydrophila* infections related to *Aeromonas* in hospital water. *J Hosp Infect*. 1987;10:152-5.
 100. Richet H. Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:934-40.
 101. Trent MS. Biosynthesis, transport, and modification of lipid A. *Biochem Cell Biol*. 2004;82:71-86.
 102. Raetz CR, Reynolds CM, Trent MS, Bishop RE. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem*. 2007;76:295-329.
 103. Paul M. Seasonality in infectious diseases: does it exist for all pathogens? *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:925-6.

-
104. Huggonet S, Villaceves A, Pitted D. Nurse staffing level and nosocomial infections: empirical evaluation of the case-crossover and case-time-control designs. *Am J Epidemiol.* 2007; 165:1321-7.
 105. Mermel LA, Machan JT, Parenteau S. Seasonality of MRSA infections. *PLoS ONE.* 2011;6:e17925.
 106. Fukuta Y, Clarke LG, Shields RK, Wagener MM, Pasculle AW, Doi Y. Lack of seasonality in the occurrence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* complex. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33:1051-2.
 107. Gasink LB, Brennan PJ. Isolation precautions for antibiotic-resistant bacteria in healthcare settings. *Curr Opin Infect Dis.* 2009;339-44.
 108. Cantón R, Bryan J. Global antimicrobial resistance: from surveillance to stewardship. Part 2: stewardship initiatives. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012;10:1375-7.
 109. Szklo M, Nieto J. *Epidemiology: beyond the basics*, 3rd ed. Burlington: Jones & Bartlett; 2012.