



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

MÔNICA DA SILVEIRA

**FATORES DE RISCO, CLONALIDADE, SAZONALIDADE E
PROGNÓSTICO DE COLONIZAÇÃO E/OU INFECÇÃO POR
Acinetobacter baumannii EM HOSPITAIS PÚBLICOS NA
CIDADE DE BAURU/SP.**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Doenças Tropicais

Orientador: Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu

2018

Mônica da Silveira

**FATORES DE RISCO, CLONALIDADE, SAZONALIDADE
E PROGNÓSTICO DE COLONIZAÇÃO E/OU INFECÇÃO
POR *Acinetobacter baumannii* EM HOSPITAIS
PÚBLICOS NA CIDADE DE BAURU/SP.**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Doenças Tropicais

Orientador: Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silveira, Mônica da.

Fatores de risco, clonalidade, sazonalidade e prognóstico de colonização e/ou infecção por *Acinetobacter baumannii* em hospitais públicos na cidade de Bauru/SP. / Mônica da Silveira. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza
Capes: 40101096

1. *Acinetobacter baumannii*. 2. Estações do ano. 3. Resistência microbiana a medicamentos. 4. Epidemiologia molecular. 5. Prognóstico.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*; epidemiologia molecular; prognóstico; resistência a antimicrobianos; sazonalidade.

Epigrafe

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

Dedicatória

A toda minha família, alicerce da minha vida, em especial ao meu pai José (in memoriam) que mesmo longe, sei que está muito perto, eternamente ao meu lado acompanhando todos os momentos da minha vida. Sempre foi e será a minha maior admiração na qual tenho um imenso orgulho em dizer que é meu Pai e, absolutamente todas as conquistas sempre serão em seu nome.

À minha mãe Gilza por todo amor, carinho, dedicação e tamanha doação em prol da nossa família sem medir consequências.

Ao meu filho amado João Victor, que é a razão de tudo, e pela compreensão nos momentos em que não estivemos juntos em função dos estudos e trabalho. Te amo meu pequeno grande homem e será sempre o meu maior orgulho.

Minha irmã querida Fabiana, penso que seja o momento para agradecer por tudo o que faz por mim e por existir na minha vida. Sou sua admiradora sem que você soubesse.

Ao meu cunhado Adriano pelo carinho e apoio à nossa família.

Para minha sobrinha e afilhada Maria Júlia na qual durante os momentos de angústia e tristeza, o seu sorriso sempre me tranquilizava.

Amo vocês!

Agradecimientos

Primeiramente a Deus e a minha Padroeira Nossa Senhora Aparecida por me apresentar caminhos nos momentos mais difíceis colocando pessoas na qual, com certeza fizeram, fazem e farão a diferença em todos os dias da minha história.

De maneira especial agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Carlos onde sempre serei grata em se fazer presente na minha vida, através de sua valiosa orientação e paciência que sempre recebi. Tenho muito orgulho e, é uma honra em ser sua orientada, tanto pela capacidade em ensinar que é inquestionável ao ser humano apaixonado pela arte em curar vidas. Só tenho a agradecer por tudo e desculpas por minhas inúmeras falhas.

A Fapesp por ter dado a oportunidade e todo o suporte necessário para o desenvolvimento do meu trabalho, em especial a Dra. Deborah, Rosilene e Daniela do Núcleo de Ensino e Pesquisa assim como ao Alexandre, Adriano, Marcus Vinicius, Leandro, Guilherme, Patrícia, e Priscila da equipe de Informática, Fabiana do LAC e Flávia do SAME.

Agradeço pela imensa colaboração ao Lucas Porangaba na qual através de um estágio, hoje o considero um verdadeiro amigo assim como a sua família (Penha e Paloma) na qual tenho um carinho enorme, onde mesmo nas tristezas e decepções, vocês sempre estiveram presentes de maneira pura e amiga. Jamais esquecerei!

Ao querido Dr. Carlos Henrique por ter contribuído com este trabalho passando um pouco do seu vasto conhecimento, além disso, obrigada pela amizade, carinho e inúmeras risadas. Tenho muito orgulho em ter te conhecido e feito parte da minha história num momento tão importante para mim.

Agradeço a Dra. Zildene e Jaqueline assim como a equipe do IPMET por toda a ajuda, na qual sempre estiveram prontos a atender da maneira mais delicada e profissional.

A Dra. Ida do Instituto Lauro de Souza Lima no congelamento e estocagem das amostras e pela prontidão em ajudar sem medir esforços. Gratidão eterna!

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia do IBB, Camila Sena, Danilo, Thaís e Nathália o meu muito obrigado pelo carinho e por todas as risadas que não foram poucas, assim como nos momentos de dúvidas onde estiveram sempre presentes; assim como Adrielle, Tatiane e Mariana do Laboratório de Doenças Tropicais onde guardarei sempre no meu coração e torcendo por suas conquistas também.

A Bruna da Pós-Graduação por além de ser uma excelente profissional, vejo hoje como uma amiga, onde até no desespero, sempre tinha uma palavra e um sorriso que pudesse me despertar alguma pontinha de esperança. É um prazer ter te conhecido.

A todos da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, Dr. Taylor, Emilene, Juliana, Libele e Aline, pessoas queridas na qual se tornaram importante para mim, em especial a Dra. Valéria e ao Dr. Edson por tamanho profissionalismo e por possuírem o dom de cuidar das pessoas através do enorme conhecimento na arte da Infectologia e ao Dr. Lucas pelas várias dúvidas sanadas.

A todos do Laboratório de Análises Clínicas do HEB pelo carinho e a Equipe da Microbiologia por todos os momentos tristes e felizes que passamos juntos, pelo enorme profissionalismo, amor à bacteriologia e respeito ao paciente, assim como as inúmeras pessoas especiais em que tive a honra de conhecer através deste Hospital.

Aos docentes da Faculdade de Medicina de Botucatu e Departamento de Doenças Tropicais, agradeço pela confiança, carinho e por receber através de vocês um pouquinho do enorme conhecimento que possuem em especial a Dra. Lenice, Dr. Paulo Câmara e Dra. Maria de Lourdes.

A minha amiga e sócia Adriana Feltrin pelos momentos felizes e tristes onde fizeram parte do meu crescimento, mostrando que nossa amizade pode trilhar por diversas etapas e sempre estaremos juntas.

Ao meu amigo amado Dr. Sebastião que apareceu de uma maneira tão inesperada e simples, porém se tornou alguém tão importante na minha vida, na qual até mesmo nos momentos tristes, eu nunca precisei falar nada, onde de qual parte do país em que estivesse me ligava preocupado para saber como eu estava. Isso nunca terá preço. Você é um ser iluminado.

Ao meu Santuário Nossa Senhora Aparecida/Bauru por ser a fortaleza na minha vida, ao Pe. Gilberto, Pe. Michel e aos amigos da Pastoral da Catequese que mesmo diante das atribulações do dia a dia, a compreensão e a amizade sempre foi presente.

Graças a Deus existem pessoas que confiam mais em mim do que eu mesma, e seria injusto colocar o nome de todos, mas em especial Adriana Sierra, Rosane Barbosa, Lorine, Ione, Mirtes e Tháise. Embora possa não parecer, mas uma simples palavra de vocês fez muita diferença momentos de desânimo, discussões, perdas, vitórias e inúmeras risadas...

Esses 6 anos entre o Mestrado e o Doutorado fez com que eu pudesse conhecer pessoas onde jamais poderia imaginar que viesse a conhecer onde sempre possuí infinita admiração entre eles o meu orientador Dr. Carlos Magno, Dr. Pignatari, Dra. Ana Gales, Dra. Flávia Rossi e Dr. Laurent Poirel... Vocês são fontes inspiradoras para qualquer ser humano apaixonado pela arte da Microbiologia e Infectologia.

E que venham outras lutas felizes...

Gratidão eterna!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	16
RESUMO.....	18
PALAVRAS-CHAVE.....	19
ABSTRACT.....	20
KEY-WORDS.....	21
INTRODUÇÃO GERAL.....	23
O <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i>	23
COMPLEXO A. <i>CALCOACETICUS-BAUMANNII</i> EM IRAS: RELEVÂNCIA E EPIDEMIOLOGIA.....	27
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....	34
OBJETIVOS.....	48
OBJETIVOS GERAIS.....	48
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
CAPÍTULO 1: Sazonalidade e determinação meteorológica na incidência de Complexo <i>Acinetobacter baumannii</i> nosocomial em hospital terciário no município de Bauru-SP.....	51
INTRODUÇÃO: Clima, estações do ano, meteorologia e <i>A. baumannii</i>	51
METODOLOGIA.....	55
Delineamento do Estudo.....	55
Local e Período do Estudo.....	55
Critérios de inclusão e exclusão.....	56
Procedimentos microbiológicos.....	57
Análises estatísticas.....	58
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO 1.....	65
CAPÍTULO 2: Fatores de risco e caracterização molecular de isolados bacterêmicos de <i>Acinetobacter baumannii</i> resistente aos carbapenêmicos.....	68
INTRODUÇÃO.....	68
METODOLOGIA.....	72
Delineamento, local e período do estudo.....	72
Procedimentos operacionais.....	72
Análise estatística.....	73
Epidemiologia molecular.....	73
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
Fatores de risco.....	78
Caracterização molecular dos isolados.....	80
REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO 2.....	82

CAPÍTULO 3: Prognóstico de pacientes com infecção da corrente sanguínea por <i>Acinetobacter baumannii</i> resistente aos carbapenêmicos.	90
INTRODUÇÃO.....	90
METODOLOGIA.....	92
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO 3.....	101
CONCLUSÃO.....	108
APÊNDICE.....	111

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CRAB – *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos
(Carbapenem-resistant *A. baumannii*)

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CRE – Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (*Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*)

CVC – Cateter venoso central

ESBL – β -lactamase de Espectro Ampliado (*Extended-spectrum beta-lactamases*)

HEB – Hospital Estadual Bauru

HEMA – Hospital Estadual Manoel de Abreu

HBB – Hospital de Base de Bauru

IC – Intervalo de Confiança

IPMET – Instituto de Pesquisas Meteorológicas

IRAS – Infecção relacionada à assistência em saúde

LACENS – Laboratórios Centrais de Saúde Pública

MDRO – Microrganismos multidroga-resistentes

MLST – *Multilocus Sequence Typing*

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (*Methicillin-resistant S. aureus*).

OMS – Organização Mundial de Saúde

OR – Odds ratio

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PFGE – Pulsed Field Gel Electrophoresis

RAM – Resistência a Antimicrobiana

RT – Razão de Taxas

SVD – Sonda vesical de demora

VM – Ventilação mecânica

UTI – Unidade de terapia intensiva

RESUMO

Estima-se que no Brasil ocorram centenas de milhares de Infecções Relacionadas à Assistência (IRAS) à Saúde todos os anos, e uma proporção significativa desses quadros é causada por *Acinetobacter baumannii*. Essa bactéria, hiperendêmica em hospitais brasileiros, é geralmente resistente a múltiplas drogas, restando um escasso arsenal terapêutico. Para além dos fatores de risco tradicionais (comorbidades, exposição ao ambiente hospitalar, procedimentos invasivos, uso de antimicrobianos), estudos recentes demonstraram sazonalidade e associação de sua incidência com altas temperaturas ambientais. No entanto, as razões para esses achados permanecem obscuras. Nós conduzimos estudos em três hospitais públicos conveniados do município de Bauru-SP, com o objetivo de colaborar para a compreensão da epidemiologia do *A. baumannii*, com ênfase nos isolados resistentes a carbapenêmicos (*Carbapenem-resistant A. baumannii*, CRAB). O **primeiro** deles, com delineamento ecológico, analisou o comportamento de taxas mensais de incidência de *A. baumannii* como um todo e em subgrupos (enfermarias versus Unidades de Terapia Intensiva [UTI], amostras clínicas totais versus hemoculturas) no período de 2006 a 2017. Estudamos o impacto de temperatura, umidade e pluviosidade sobre essa incidência. Como resultados, identificamos que temperaturas médias mensais acima do percentil 75 (24,7°C) estavam associadas a maior incidência de *A. baumannii* como um todo e de CRAB. Curiosamente, esses achados foram

mais consistentes nas UTI e para isolados de hemoculturas. No **segundo estudo**, tipo “**caso-controle**” analisamos a clonalidade e fatores de risco para infecções da corrente sanguínea causadas por CRAB (CRAB-*Bloodstream infections*, CRAB-BSI). Foram estudados 38 pacientes com CRAB-BSI e 76 controles. Fatores de risco significantes ($p < 0,05$) em análise multivariada para aquisição de CRAB-BSI foram a inserção de cateter venoso central e o uso de cefepima ou meropenem. Na genotipagem por *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), identificamos 12 perfis, sendo que 7 deles agrupavam mais de um isolado. Além disso, identificamos a presença de genes codificadores das enzimas OXA-23 e OXA-51, associadas à resistência aos carbapenêmicos. O **terceiro estudo** comparou os mesmos 38 casos de CRAB e 76 controles, em delineamento tipo “**coorte pareada**”, para o desfecho “óbito durante a internação”. Como esperado, os casos foram significativamente associados a maior risco de óbito em modelos de análise de sobrevivência. Além disso, quando estudados somente os casos, o uso de Aminoglicosídeos e Polimixina após o diagnóstico se associou a melhor prognóstico. Concluimos que o *A. baumannii* é um agente potencialmente letal, que se transmite no interior de hospitais e entre diferentes serviços, com incidência aumentada em períodos quentes.

PALAVRAS-CHAVE

Acinetobacter baumannii, resistência a antimicrobianos, epidemiologia molecular, prognóstico, sazonalidade

ABSTRACT

It is estimated that in Brazil hundreds of thousands of Healthcare Associated Infections (HCAI) occur every year, and a significant proportion of these are caused by *Acinetobacter baumannii*. This bacterium, hyperendemic in Brazilian hospitals, is generally resistant to multiple drugs, leaving behind a scarce therapeutic arsenal. In addition to the traditional risk factors (comorbidities, exposure to the hospital environment, invasive procedures, antimicrobial use), recent studies have demonstrated seasonality and association of *A. baumannii* incidence with high environmental temperatures. However, the reasons underlying these findings remain obscure. We conducted studies in three public hospitals in the city of Bauru-SP, Brazil, in order to contribute to understanding the epidemiology of *A. baumannii*, with emphasis on carbapenem resistant isolates (CRAB). The first one, with ecological design, analyzed the behavior of monthly rates of incidence of overall *A. baumannii* and several subgroups (non-critical wards vs. Intensive Care Units (ICU), overall clinical samples vs. blood cultures) from 2006 to 2017. We studied the impact of temperature, humidity and rainfall on this incidence. As a result, we identified that average monthly temperatures above the 75th percentile (24.7°C) were associated with a higher incidence of overall *A. baumannii* and CRAB. Interestingly, these findings were more consistent in ICUs and for isolates of blood cultures. In the second study (case-control), we analyzed the clonality and risk factors for CRAB bloodstream

infections (CRAB-BSI). We studied 38 patients with CRAB-BSI and 76 controls. Significant risk factors ($p < 0.05$) in multivariable analysis for CRAB-BSI acquisition were central venous catheter insertion and use of cefepime or meropenem. In the Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) genotyping, we identified 12 patterns, 7 of which grouped more than one isolate. In addition, we identified the presence of genes encoding the enzymes OXA-23 and OXA-51, associated with resistance to carbapenems. The third study compared the same 38 cases of CRAB and 76 controls, in a "matched cohort" design, for the outcome "in-hospital death". As expected, the cases were significantly associated with a higher risk of death in survival analysis models. In addition, when only cases were studied, the use of Aminoglycosides and Polimyxins after diagnosis was associated with a better prognosis. We conclude that *A. baumannii* is a potentially lethal agent, which is transmitted within hospitals and between different services, with an increased incidence during warm periods.

KEY-WORDS

Acinetobacter baumannii, antimicrobial resistance, molecular epidemiology, outcome, seasonality.

Introdução geral

INTRODUÇÃO GERAL

O *ACINETOBACTER BAUMANNII*

O gênero *Acinetobacter* engloba bacilos gram-negativos, estritamente aeróbios, ubíquos, não fermentadores de glicose, com motilidade negativa supostamente devido à presença de fímbrias, cocobacilares, catalase positiva, oxidase negativa¹ e que apresentam colônias mucóides quando as células são encapsuladas. A maioria das cepas cresce entre 20 e 37°C com ótima temperatura de 33 a 35°C. São mais frequentemente saprófitas, ocorrendo naturalmente no solo, água, esgoto e alimentos como vegetais crus, assim como na pele e no trato respiratório humano.²

A identificação das várias espécies do gênero *Acinetobacter* é complexa, diante da proximidade de suas características. A distinção entre as espécies é realizada através de métodos de sensibilidade aos antibiótico-padrão, fenotipagem e biotipagem, técnicas cuja complexidade as torna impraticável por rotina nos laboratórios de microbiologia clínica³, sendo sua aplicação restrita a laboratório de referência.

O *Acinetobacter* tem sofrido modificações taxonômicas significativas nos últimos trinta anos. Ele foi descrito em 1911 pelo microbiologista holandês Martinus Beijerinck, que o isolou após o enriquecimento do solo com um meio

contendo acetato de cálcio, tendo então recebido o nome de *Micrococcus calcoaceticus*.⁴

Nas décadas seguintes, foram descritos organismos semelhantes e atribuídos a pelo menos 15 gêneros e espécies diferentes, incluindo *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes*, *Haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Moraxella lwoffivar*, *Achromobacter anitratus*, entre outros.⁴

Atualmente o gênero *Acinetobacter*⁵ possui 54 espécies, que são:

- *Acinetobacter albensis*⁶,
- *Acinetobacter apis*⁷,
- *Acinetobacter baumannii*⁸,
- *Acinetobacter baylyi*⁹,
- *Acinetobacter beijerinckii*¹⁰,
- *Acinetobacter bereziniae*¹¹,
- *Acinetobacter bohemicus*¹²,
- *Acinetobacter boissieri*¹³,
- *Acinetobacter bouvetii*¹⁴,
- *Acinetobacter brisouii*¹⁵,
- *Acinetobacter calcoaceticus*⁸,
- *Acinetobacter celticus*¹⁶,
- *Acinetobacter courvalinii*¹⁷,
- *Acinetobacter dispersus*¹⁷,

- *Acinetobacter dijkshoorniae*¹⁸,
- *Acinetobacter equi*¹⁹,
- *Acinetobacter gandensis*²⁰,
- *Acinetobacter gernerii*¹⁴,
- *Acinetobacter grimontii*²¹,
- *Acinetobacter guangdongensis*²²,
- *Acinetobacter guillouiae*¹¹,
- *Acinetobacter gyllenbergii*¹⁰,
- *Acinetobacter haemolyticus*⁸,
- *Acinetobacter harbinensis*²³,
- *Acinetobacter indicus*²⁴,
- *Acinetobacter johnsonii*⁸,
- *Acinetobacter junii*²⁵,
- *Acinetobacter kookii*²⁶,
- *Acinetobacter lactucae*²⁷,
- *Acinetobacter larvae*²⁸,
- *Acinetobacter lwoffii*²⁹,
- *Acinetobacter modestus*¹⁷,
- *Acinetobacter nectaris*³⁰,
- *Acinetobacter nosocomialis*³¹,
- *Acinetobacter pakistanensis*³²,
- *Acinetobacter parvus*³³,
- *Acinetobacter pittii*³¹,

- *Acinetobacter populi* ³⁴,
- *Acinetobacter pragensis* ³⁵,
- *Acinetobacter proteolyticus* ¹⁷,
- *Acinetobacter puyangensis* ³⁶,
- *Acinetobacter qingfengensis* ³⁷,
- *Acinetobacter radioresistens* ³⁸,
- *Acinetobacter rudis* ³⁹,
- *Acinetobacter schindleri* ⁴⁰,
- *Acinetobacter seifertii* ⁴¹,
- *Acinetobacter soli* ⁴²,
- *Acinetobacter tandoii* ⁴³,
- *Acinetobacter tjernbergiae* ⁴³,
- *Acinetobacter towneri* ⁴³,
- *Acinetobacter ursingii* ⁴⁰,
- *Acinetobacter variabilis* ⁴⁴,
- *Acinetobacter venetianus* ⁴⁵ e
- *Acinetobacter vivianii* ⁴⁶.

A. calcoaceticus, *A. baumannii*, *A. pittii* e *A. nosocomialis* possuem características fenotípicas extremamente semelhantes. Diante da necessidade de facilitar a identificação desses microrganismos, evitando identificação errônea, a partir 1991 foi proposto um único grupo pertencente ao gênero *Acinetobacter*, tendo se cunhado o termo “Complexo A.

calcoeticus-baumannii". Desde então, estas espécies têm sido referenciadas por inúmeros estudos epidemiológicos e laboratórios de rotina em todo o mundo.⁴⁷

COMPLEXO *A. CALCOETICUS-BAUMANNII* EM IRAS: RELEVÂNCIA E EPIDEMIOLOGIA

A. baumannii é a espécie que possui maior importância e impacto na clínica^{48,49}, sendo foco de atenção da comunidade médica e científica.⁵⁰ Essa bactéria tem sido isolada a partir de espécimes associadas a vários tipos de infecções,^{48,49} tais como:

- Bacteremias / Sepses⁵¹;
- Pneumonias⁵²;
- Infecções de Pele⁵³;
- Infecções do trato urinário⁵⁴ ;
- Endocardites⁵⁵;
- Meningites⁵⁶.

Considerado anteriormente como um microrganismo oportunista de baixa patogenicidade e pouca relevância clínica, nas últimas duas décadas, o *A. baumannii* foi reconhecido como patógeno emergente, associado à crescente incidência de infecções graves e difícil tratamento, principalmente nos pacientes com maior vulnerabilidade.⁵⁷

Numerosos surtos de infecção relacionada à assistência em saúde (IRAS) têm sido descritos nas Américas, Europa, Ásia e África, sendo muitos deles relacionados a fatores de risco como o uso de antimicrobianos, período de permanência na instituição, uso de ventilação mecânica e a gravidade da doença de base.⁵⁸

A transmissão do patógeno se dá através do contato direto ou indireto, amplamente facilitado num ambiente hospitalar.^{59,60} É válido ressaltar que, quanto maior a gravidade da doença, maior então, o número de contatos na prestação de cuidados⁶¹, resultando em que os microrganismos presentes na pele do doente ou nas superfícies inanimadas sejam transferidos durante a prestação de cuidados para as mãos dos profissionais, podendo aí sobreviver durante minutos. Caso o profissional de saúde não execute a higienização das mãos de maneira adequada, estas permanecem contaminadas funcionando como vetores de transmissão.^{4,61}

A fonte do microrganismo pode ser endógena (trato gastrointestinal do hospedeiro)⁵⁸ ou ambiental (equipamentos de respiração, umidificadores, colchões, travesseiros, ventiladores, lavatórios, macas, mesas de cabeceira, cortinas e pias) tendo em vista que os equipamentos hospitalares podem servir como reservatório secundário.⁶² O *A. baumannii* tem grande capacidade de sobrevivência no ambiente inanimado dos hospitais, sendo estes considerados fonte de disseminação. Recomendam-se, portanto, entre as medidas para o controle, o rigor na descontaminação de superfícies e equipamentos.⁶³

Como fatores de risco para infecção por *A. baumannii* podemos citar a exposição prévia a antibióticos, procedimentos invasivos como cirurgias, nutrição enteral, cateter venoso central, equipamento de monitoramento de pressão cerebral, traqueostomia, transfusão sanguínea, trauma com fraturas que necessitem de fixadores (internos ou externos), cateter urinário, drenagem abdominal e torácica, cuidados com feridas, broncoaspiração em grande quantidade e ventilação mecânica.⁶⁴

Embora seja responsável por surtos, a maioria dos episódios de Infecção Relacionada à assistência à Saúde (IRAS) causadas por *A. baumannii* é de natureza endêmica. Há ainda relatos de que predominam amostras correspondentes à colonização sobre aquelas de isolados clínicos. Quanto às infecções, as taxas de mortalidade global hospitalar variem de 30% a 75%. Em estudos que buscam eliminar outros fatores (como a gravidade intrínseca da doença de base), a mortalidade atribuída ao microrganismo varia entre 7,8% a 23%. Nesse âmbito, observações contraditórias apontam que o debate do impacto clínico ainda não foi resolvido.^{65,66}

Até o início da década de 70, as IRAS por *A. baumannii* eram tratadas com sucesso com uso da gentamicina, minociclina, ácido nalidíxico, ampicilina, ou carbenicilina, independente se em monoterapia ou associação de drogas. Entretanto, taxas de resistência em elevação começaram a ser divulgadas entre 1971 e 1974. Desde 1975, surtos sucessivos têm demonstrado o aumento da resistência em isolados clínicos. A maioria

dos antimicrobianos utilizados naquele período incluía aminopenicilinas, cefalosporinas de pequeno e amplo espectro, cefamicinas, aminoglicosídeos, cloranfenicol e tetraciclina. Atualmente, a maioria dos isolados tornou-se resistente a todas essas classes, inclusive aos carbapenêmicos, que por muito tempo foram considerados tratamentos “de última linha”.^{67,68}

A utilização de antibioticoterapia de amplo espectro nas Unidades de terapia intensiva (UTIs) expõe o paciente a uma pressão seletiva antimicrobiana que induz o aparecimento de resistência aumentando assim, a suscetibilidade à infecção por microrganismos multidroga-resistentes (MDRO), entre eles o *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos (CRAB, Carbapenem-resistant *A. baumannii*).^{67,68,69}

É difícil avaliar a verdadeira frequência das IRAS causadas por CRAB, tendo em vista que o seu isolamento em amostras biológicas pode refletir apenas colonização e não infecção.⁶⁴ Por essa razão, em diversos estudos epidemiológicos a dúvida sobre real presença de quadro infeccioso se soma a fatores de confusão, prejudicando inferências causais.^{65,66}

Recentemente, uma nova característica epidemiológica de *A. baumannii* foi identificada: o comportamento sazonal. Alguns autores relataram elevação da incidência de infecções por esses agentes durante os meses no verão.^{70,71} Em artigo publicado pelo grupo de pesquisa de nosso departamento demonstrou-se sazonalidade de bacteremias por *A.*

baumannii e associação entre incidência mensal e temperatura.⁷² Esse estudo, foi o primeiro realizado no Brasil, e nele foram analisadas bacteremias em perspectiva hospitalar global, ou seja, englobando todas as unidades de internação.

Estudos epidemiológicos sobre *A. baumannii* (em particular, isolados multirresistentes) são úteis para o direcionamento de medidas de controle.⁷³ Isolados multirresistentes de *A. baumannii* são relatados de forma crescente durante a última década, provavelmente como consequência ao uso de antimicrobianos nos países ocidentais. É válido ressaltar a consideração da resistência aos carbapenems por si só, suficiente para definir um isolado de *A. baumannii* como altamente resistente.^{74,75} Estes representam uma ameaça para a saúde pública, agravada pela falta de opções terapêuticas, já mencionada anteriormente.⁵⁰ É digno de nota que, há alguns anos, esse agente era uma causa comum de infecção somente em alguns países, em sua maioria de clima tropical. No entanto, na última década tornou-se um grande problema a nível mundial.⁷⁶

No Brasil, dados do Sistema de Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACENS) apontam para o importante crescimento da resistência a diversas classes de antimicrobianos, inclusive aos carbapenems (**Figura 1**).

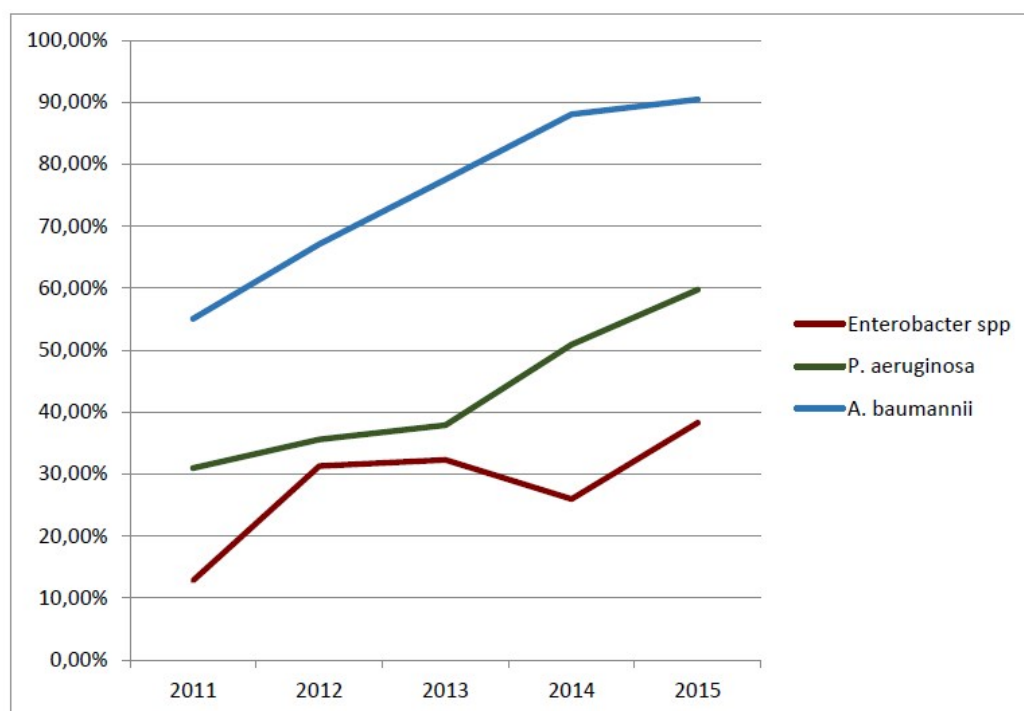


Figura 1. Evolução da resistência a carbapenems em bacilos Gram-negativos de hospitais brasileiros. (Fonte: LACENs).

Estudos têm demonstrado que infecções por *A. baumannii* são importante causa de mortalidade, especialmente quando resistentes aos carbapenêmicos.^{77,78}

A aquisição desse agente tem sido associada a procedimentos invasivos, à “pressão de colonização” (magnitude da exposição a pessoas que carregam o patógeno) e ao uso de antimicrobianos.^{79,80,81} Como mencionamos acima, os efeitos da meteorologia, clima e estação do ano vêm se somar a essa plethora de fatores de risco, trazendo novas perspectivas epidemiológicas para prevenção e controle de IRAS causadas por *A. baumannii*.

Os três estudos apresentados a seguir tiveram como objetivo principal o aprofundamento da análise do comportamento do *A. baumannii* (e CRAB em especial) em hospitais públicos brasileiros.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. Clin Infect Dis. 2006; 42:692-9
2. Juni E. *Acinetobacter*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. 1-26; 2015
3. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. Curr Opin Infect Dis. 2005; 18: 306-13.
4. Coelho MJANV. *Acinetobacter baumannii* uma realidade hospitalar. Coimbra. Tese-Universidade de Coimbra; 2012.
5. Brisou J, Prévot AR: Études de systématique bactérienne. X. Révision des espèces réunies dans le genre *Achromobacter*. Annales de l'Institut Pasteur (Paris), 1954; 86: 722-8.
6. Krizova L, Maixnerova M, Sedo O, Nemec A. *Acinetobacter albensissp.* nov., isolated from natural soil and water ecosystems. Int J Syst Evol Microbiol 2015; 65: 3905-3912.
7. Kim PS, Shin NR. Kim JY, Yun JH, Hyun DW, Bae JW. *Acinetobacter apis* sp. nov., isolated from the intestinal tract of a honey bee, *Apis mellifera*. J Microbiol., 2014; 52: 639-45.
8. Bouvet PJM, Grimont PAD. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov.,

- and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. Int J Syst Bacteriol 1986; 36: 228-40.
9. Carr EL, Kämpfer P, Patel BKC, Gürtler V, Seviour RJ: Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53: 953-963.
 10. Nemec A, Musílek M, Maixnerová M, De Baere T, Van Der Reijden TJK, Vaneechoutte M, Dijkshoorn I: *Acinetobacter beijerinckii* sp. nov. and *Acinetobacter gyllenbergii* sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans. Int J Syst Evol Microbiol 2009; 59: 118-24.
 11. Nemec A, Musílek M, Sedo O, De Baere T, Maixnerová M, Van Der Reijden TJK, Zdráhal Z, Vaneechoutte M, Dijkshoorn I: *Acinetobacter bereziniae* sp. nov. and *Acinetobacter guillouiae* sp. nov., to accommodate *Acinetobacter* genomic species 10 and 11, respectively. Int J Syst Evol Microbiol 2010; 60: 896-903.
 12. Krizova I, Maixnerova M, Sedo O, Nemec A. *Acinetobacter bohemicus* sp. nov. widespread in natural soil and water ecosystems in the Czech Republic. Syst Appl Microbiol, 2014; 37: 467-73.
 13. Álvarez-pérez S, Lievens B, Jacquemyn H, Herrera CM. *Acinetobacter nectaris* sp. nov. and *Acinetobacter boissieri* sp. nov., isolated from floral nectar of wild Mediterranean insect-pollinated plants. Int J Syst Evol Microbiol 2013; 63:1532-9.
 14. Carr EL, Kämpfer P, Patel BKC, Gürtler V, Seviour RJ: Seven novel species

- of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53: 953-63.
15. Anandham R, Weon HY, Kim SJ, Kim YS, Kim BY, Kwon SW. *Acinetobacter brisouii* sp. nov., isolated from a wetland in Korea. J Microbiol 2010; 48: 36-9.
16. Radolfova-krizova I., Maixnerova M, Nemec A. *Acinetobacter celticus* sp. nov., a psychrotolerant species widespread in natural soil and water ecosystems. Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66: 5392-98.
17. Nemec A, Radolfova-krizova I, Maixnerova M, Vrestiakova E, Jezek P, Sedo O. Taxonomy of haemolytic and/or proteolytic strains of the genus *Acinetobacter* with the proposal of *Acinetobacter courvalinii* sp. nov. (genomic species 14 sensu Bouvet & Jeanjean), *Acinetobacter dispersus* sp. nov. (genomic species 17), *Acinetobacter modestus* sp. nov., *Acinetobacter proteolyticus* sp. nov. and *Acinetobacter vivianii* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66: 1673-85.
18. Cosgaya C, Mari-Almirall M, Van Assche A, Fernandez-Orth D, Mosqueda N, Telli M, Huys G, Higgins PG, Seifert H, Lievens B, Roca I, Vila J. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66: 4105-4111.
19. Poppel MT., Skiebe E., Laue M., Bergmann H., Ebersberger I, Garn T, Fruth A, Baumgardt S, Busse H-J, Wilharm G. *Acinetobacter equi* sp.

- nov., isolated from horse faeces. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016; 66: 881-888.
20. Smet A, Cools P, Krizova I, Maixnerova M, Sedo O, Haesebrouck F, Kempf M, Nemec A, Vaneechoutte M. *Acinetobacter gandensis* sp. nov. isolated from horse and cattle. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64: 4007-15.
21. Vaneechoutte M, De Baere T, Nemec A, Musílek M, Van Der Reijden TJK, Dijkshoorn I. Reclassification of *Acinetobacter grimontii* Carr et al. 2003 as a later synonym of *Acinetobacter junii* Bouvet and Grimont 1986. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 937-40.
22. Feng G-D, Yang S-Z, Wang Y-H, Deng M-R, Zhu H-H. *Acinetobacter guangdongensis* sp. nov., isolated from abandoned lead-zinc ore. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64: 3417-21.
23. Li W, Zhang D, Huang X, Gin W. *Acinetobacter harbinensis* sp. nov., isolated from river water. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64: 1507-13.
24. Malhotra J, Anand S, Jindal S, Rajagopal R, Lal R. *Acinetobacter indicus* sp. nov., isolated from a hexachlorocyclohexane dump site. *Int J Syst Evol Microbiol* 2012; 62: 2883-90.
25. Vaneechoutte M, De Baere T, Nemec A, Musílek M, Van Der Reijden TJK, Dijkshoorn I. Reclassification of *Acinetobacter grimontii* Carr et al. 2003 as a later synonym of *Acinetobacter junii* Bouvet and Grimont 1986. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 937-40.
26. Choi JY, Ko G, Jheong W, Huys G, Seifert H, Dijkshoorn I, Ko K-S.

- Acinetobacter kookii* sp. nov., isolated from soil. Int J Syst Evol Microbiol 2013; 63: 4402-6.
27. Rooney AP, Dunlap CA, Flor-Weiler IB. *Acinetobacter lactucae* sp. nov., isolated from iceberg lettuce (Asteraceae: *Lactuca sativa*). Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66: 3566-72.
28. Liu S, Wang Y, Ruan Z, Ma K, Wu B, Xu Y, Wang J, You Y, He M, Hu G. *Acinetobacter larvae* sp. nov., isolated from the larval gut of *Omphisa fuscidentalis*. Int J Syst Evol Microbiol, 2017; 67: 806-11.
29. Mittal S, Sharma M, Yadav A, Bala K, Chaudhary U. *Acinetobacter lwoffii* an emerging pathogen in neonatal ICU. Infect Disord Drug Targets. 2015; 15 3:184-8.
30. Álvarez-Pérez S, Lievens B, Jacquemyn H, Herrera CM. *Acinetobacter nectaris* sp. nov. and *Acinetobacter boissieri* sp. nov., isolated from floral nectar of wild Mediterranean insect-pollinated plants. Int J Syst Evol Microbiol., 2013; 63: 1532-9.
31. Nemec A, Krizova I, Maixnerova M, Van Der Reijden TJK, Deschaght P, Passet V, Vaneechoutte M, Brisse S and Dijkshoorn I. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). Res Microbiol, 2011; 162: 393-404.
32. Abbas S, Ahmed I, Kudo T, Lida T, Ali GM, Fujiwara T, Ohkuma M. Heavy

- metal-tolerant and psychrotolerant bacterium *Acinetobacter pakistanensis* sp. nov. isolated from a textile dyeing wastewater treatment pond. Pak J Agric Sci 2014; 51: 593-606.
33. Nemec A, Dijkshoorn I, Cleenwerck I, De Baere T, Janssens D, Van Der Reijden TJK, Ježek P, Vaneechoutte M: *Acinetobacter parvus* sp. nov., a small-colony-forming species isolated from human clinical specimens. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53: 1563-7.
34. Li Y, Chang J, Guo IM, Wang HM., Xie SJ, Piao CG, He W. Description of *Acinetobacter populi* sp. nov. isolated from symptomatic bark of *Populus &mult; euramericana* canker. Int J Syst Evol Microbiol 2015; 65: 4461-4468.
35. Radolfova-Krizova I, Maixnerova M, Nemec A. *Acinetobacter pragensis* sp. nov., found in soil and water ecosystems. Int J Syst Evol Microbiol, 2016; 66: 3897-3903.
36. Li Y, Piao C-G, Ma Y-C, He W, Wang H-M, Chang J-P, Guo L-M, Wang X-Z., Xie S-J, Guo M-W. *Acinetobacter puyangensis* sp. nov., isolated from the healthy and diseased part of *Populus × euramericana* canker bark. Int J Syst Evol Microbiol 2013; 63: 2963-2969.
37. Li Y, He W, Wang T, Piao C-G, Guo I-M., Chang J-P, Guo M-W, Xie S-J. *Acinetobacter qingfengensis* sp. nov., isolated from canker bark of *Populus × euramericana*. Int J Syst Evol Microbiol 2014; 64: 1043-50.
38. Nishimura Y, Ino T, Iizuka H. *Acinetobacter radioresistens* sp. nov. isolated from cotton and soil. Int. J. Syst. Bacteriol., 1988; 38: 209-211.

39. Vaz-Moreira I, Novo A, Hantsis-Zacharov E, Lopes AR, Gomila M, Nunes OC, Manaia CM, Halpern M. *Acinetobacter rudis* sp. nov., isolated from raw milk and raw wastewater. *Int J Syst Evol Microbiol* 2011; 61: 2837-43.
40. Nemec A, De Baere T, Tjernberg I, Vaneechoutte M, Van Der Reijden TJK, Dijkshoorn I. *Acinetobacter ursingii* sp. nov. and *Acinetobacter schindleri* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int . Syst. Evol Microbiol* 2001;51: 1891-1899.
41. Nemec A, Krizova I, Maixnerova M, Sedo O, Brisse S, Higgins, PG. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 2015; 65 : 934-942
42. Kim D, Baik KS, Kim MS, Park SC, Kim SS, Rhee MS, Kwak YS, Seong CN. *Acinetobacter soli* sp. nov., isolated from forest soil. *J. Microbiol.*, 2008;46: 396-401.
43. Carr EL, Kämpfer P, Patel BKC, Gürtler V, Seviour RJ: Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003;53: 953-963.
44. Krizova I, McGinnis J, Maixnerova M, Nemec M, Poirel I, Mingle I, Sedo O, Wolfgang W, Nemec A. *Acinetobacter variabilis* sp. nov. (formerly DNA group 15 *sensu* Tjernberg & Ursing), isolated from humans and animals. *Int J Syst. Evol Microbiol.*, 2015; 65: 857-863
45. Vaneechoutte M, Nemec A, Musílek M, Van Der Reijden TJK, Van Den Barselaar M, Tjernberg I, Calame W, Fani R, De Baere T, Dijkshoorn I.

- Description of *Acinetobacter venetianus* ex Di Cello *et al.* 1997 sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2009; 59: 1376-1381.
46. Nemec A, Radolfova-Krizova I, Maixnerova M, Vrestiakov E, Jezek P, Sedo O. Taxonomy of haemolytic and/or proteolytic strains of the genus *Acinetobacter* with the proposal of *Acinetobacter courvalinii* sp. nov. (genomic species 14 *sensu* Bouvet & Jeanjean), *Acinetobacter disperses* sp. nov. (genomic species 17), *Acinetobacter modestus* sp. nov., *Acinetobacter proteolyticus* sp. nov. and *Acinetobacter vivianii* sp. nov. *Int J Syst Evol. Microbiol.*, 2016; 66: 1673-85.
47. Park YK, Jung SI, Park KH, Kim DH, Choi JY, Kim SH, Ko KS. Changes in antimicrobial susceptibility and major clones of *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex isolates from a single hospital in Korea over 7 years. *Journal of Medical Microbiology*. 2012; 61: 71-79.
48. Burkart K, Khan MM, Schneider A, Breitner S, Langner M, Krämer A, Endlicher W. The effects of season and meteorology on human mortality in tropical climates: a systematic review. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2014; 10(7):393-401.
49. Hippocrattes. Aphorisms, III, 19 (transl. Francis Adams). The Internet Classic Archives [cited 2017 Nov 20]. Available from: <http://classics.mit.edu/Hippocrates/airwatpl.mb.txt>.
50. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. 2012; 3:243-50.

51. Ballouz T, Aridi J, Afif C, et al. Risk Factors, Clinical Presentation, and Outcome of *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:156.
52. Małgorzata K, Marta W, Agnieszka G, Zdzisław W, Wiesław D. Incidence, Microbiological Profile and Risk Factors of Healthcare-Associated Infections in Intensive Care Units: A 10 Year Observation in a Provincial Hospital in Southern Poland. *Int J Environ Res Public Health* 2018;15: 112.
53. Lee C-M, Lai C-C, Chiang H-T, Lu M-C, Wang L-F, Tsai T-L, Kang M-Y, Jan Y-N, Lo YT, Ko W-C, Tseng S-H, Hsueh P-R. Presence of multidrug-resistant organisms in the residents and environments of long-term care facilities in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2017; 50: 133-144.
54. Karlowsky JA, Hoban DJ, Hackel MA, Lob SH, Sahm DF. Resistance among Gram-negative ESKAPE pathogens isolated from hospitalized patients with intra-abdominal and urinary tract infections in Latin American countries: Smart 2013–2015. *Braz J Infect Dis.* 2017; 21:343-8.
55. Tempesta M, Campanella A, Maviglia S. *Acinetobacter baumannii* and cardiac impairment. Increasingly important nosocomial pathogen. *Int J of Cardiol* 2015; 197:164-5
56. Wisplinghoff H, Seifert H. Epidemiology and clinical features of *Acinetobacter baumannii* infections in humans. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2014 Nov-Dec;127:447-57.
57. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:868-73.

58. Otter JA, Yezli S, French GL. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011; 32:687-99.
59. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21:538-82.
60. Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect.* 2009; 73:355-63.
61. Mattner F, Bange FC, Meyer E, Seifert H, Wichelhaus TA, Chaberny IF. Preventing the spread of multidrug-resistant gram-negative pathogens: recommendations of an expert panel of the German Society for Hygiene and Microbiology. *Dtsch Arztebl Int.* 2012; 109:39-45.
62. Denton M, Wilcox MH, Parnell P, Green D, Keer V, Hawkey PM, Evans I, Murphy P. Role of environmental cleaning in controlling an outbreak of *Acinetobacter baumannii* on a neurosurgical intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2004; 5(2):106-10.
63. Villegas M, Hartstein A. *Acinetobacter* Outbreaks, 1977–2000; *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 244: 284-295.
64. Moultrie D, Hawker J, Cole S. Factors associated with multidrug-resistant *Acinetobacter* transmission: an integrative review of the literature. *Aorn J.* 2011; 94:27-36.
65. Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care.* 2006;

- 10:R48.
66. Shorr AF. Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 2009; 37:1463-9.
 67. Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9:148-65.
 68. Smolyakov R, Borer A, Riesenberk K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, Rimar D, Almog Y, Gilad J. Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. *J Hosp Infect*. 2003; 54:32-8.
 69. 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.
 70. Perencevich EN, McGregor JC, Shardell M, Furuno JP, Harris AD, Morris JG Jr, Fisman DN, Johnson JA. Summer Peaks in the Incidences of Gram-Negative Bacterial Infection Among Hospitalized Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29:1124-31.
 71. McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: 1987-1996. Nosocomial Infections Surveillance System. *Clin Infect Dis*. 1999; 29:1133-7.

72. Fortaleza CM, Caldeira SM, Moreira RG, Akazawa RT, Corrente JE, de Souza LR, da Cunha AR. Tropical healthcare epidemiology: weather determinants of the etiology of bloodstream infections in a Brazilian hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014; 35:85-8.
73. Cavalcante RD, Canet P, Fortaleza CM. Risk factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: An appraisal of the effect of colonization pressure. *Scand J Infect Dis*. 2014; 46:1-6.
74. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and Epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 826–836.
75. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46:1254–63.
76. 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.
77. Ballouz T, Aridi J, Afif C, Irani J, Lakis C, Nasreddine R, Azar E. Risk Factors, Clinical Presentation, and Outcome of *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017; 7:156.
78. Blanco N, Harris AD, Rock C, Johnson JK, Pineles L, Bonomo RA, Srinivasan A, Pettigrew MM, Thom KA; CDC Epicenters Program. Risk factors and outcomes associated with multidrug-resistant

- Acinetobacter baumannii* upon ICU admission. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 62: e01631-17.
- 79.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.
- 80.Cavalcante R de S, Canet P, Fortaleza CM. Risk factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: An appraisal of the effect of colonization pressure. *Scand J Infect Dis*. 2014; 46:593-8.
- 81.Li YJ, Pan CZ, Fang CQ, Zhao ZX, Chen HL, Guo PH, Zhao ZW. Pneumonia caused by extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii* among hospitalized patients: genetic relationships, risk factors and mortality. *BMC Infect Dis*. 2017; 17:371.
- 82.Richet H. Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18:934-40.

Objetivos

OBJETIVOS

OBJETIVOS GERAIS

- Estudar a sazonalidade e determinação meteorológica na incidência de *Acinetobacter baumannii* nosocomial em hospital terciário localizado no município de Bauru-SP.
- Caracterizar fatores de risco, epidemiologia molecular e prognóstico de pacientes com infecção da corrente sanguínea por *A. baumannii* resistente a carbapenêmicos (CRAB) em três hospitais públicos conveniados no mesmo município.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar em modelos de séries temporais, a ocorrência de sazonalidade e determinação meteorológica na incidência de *A. baumannii* (total ou resistente a imipenem) isolado em culturas clínicas e hemoculturas.
- Analisar a variação dos fenômenos descritos acima entre unidades não-climatizadas (enfermarias) e climatizadas (Unidades de terapia intensiva) do hospital incluso no estudo.

- Identificar associação entre comorbidades, dispositivos invasivos, procedimentos, uso de antimicrobianos e a aquisição de infecção da corrente sanguínea por CRAB.
- Caracterizar linhagens de CRAB e identificar sua disseminação intra e inter-hospitalar.
- Avaliar o impacto de infecção da corrente sanguínea por CRAB sobre mortalidade de pacientes, e outros fatores associados ao prognóstico em pacientes acometidos por esse agente.

Capítulo 1

CAPÍTULO 1: SAZONALIDADE E DETERMINAÇÃO METEOROLÓGICA NA INCIDÊNCIA DE COMPLEXO *ACINETOBACTER BAUMANNII* NOSOCOMIAL EM HOSPITAL TERCIÁRIO NO MUNICÍPIO DE BAURU-SP

INTRODUÇÃO: CLIMA, ESTAÇÕES DO ANO, METEOROLOGIA E *A. BAUMANNII*

Tempo e o clima são conceitos utilizados em meteorologia para se entender o comportamento da atmosfera, em diferentes intervalos de tempo. O tempo pode ser definido como a somatória de ação das diversas variáveis atmosféricas (como exemplo: chuva, sol e vento) num limitado curto período de tempo. Já o clima de uma referida região é o comportamento médio da atmosfera, em um longo período de tempo (por exemplo: meses e anos).¹

As alterações climáticas, definidas por variações significativas de climas regionais ou globais durante longos períodos, incluem grandes mudanças na temperatura média, umidade, pressão atmosférica, precipitação, padrões de vento e salinidade da água, assim como a diminuição nas geleiras polares.¹

Mudanças climáticas recentes têm ameaçado a vida no planeta, entre outros aspectos pela redução da disponibilidade de água potável. Embora as condições médias climáticas tenham sido relativamente estáveis por milênios, nos últimos 50 anos ocorreu uma aceleração das mudanças, de

modo que a temperatura média global aumentou 0,7°C, sendo esperado novo aumento entre 1,8 e 4,0°C até ao ano de 2100.¹

A principal causa do aquecimento contínuo da Terra são as crescentes emissões para a atmosfera de dióxido de carbono (CO²) e outros gases de efeito estufa resultantes de atividades humanas (principalmente metano e óxido nitroso). Os gases de efeito estufa absorvem uma parte da radiação emitida a partir da Terra, com mais calor na atmosfera, aumentando consequentemente as temperaturas. As mudanças climáticas vão deixar as ondas de calor cada vez mais frequentes agravando os eventos meteorológicos, acarretando um aumento no nível do mar. Desta forma, é cada vez visível que as mudanças climáticas ao longo de períodos de tempo relativamente curtos colocam sérias ameaças ao bem-estar e a saúde humana.²

Os fatores definidores de época como a temperatura, umidade e precipitação são importantes determinantes da sobrevivência dos patógenos. Em muitos casos, as mudanças sazonais na sobrevivência e transmissão de patógenos estão inseparavelmente relacionados a ambos os aspectos biológicos e sociais de nossas vidas.²

As mudanças sazonais, a disponibilidade de água potável, práticas de saneamento e higiene, assim como aglomeração de pessoas afetam diretamente a transmissibilidade de patógenos,^{3,4,5} assim como as tradicionais celebrações e encontros realizados pelas comunidades de acordo com os

diversos calendários nacionais e internacionais. Férias, atividades sociais e viagens são frequentemente associadas com mudanças no consumo de alimentos e preparação, sendo assim associados a mudanças na incidência das doenças.⁴

Como o clima afeta a saúde humana através da criação de condições favoráveis para a proliferação e transmissão de patógenos, o mau tempo pode afetar a intensidade de surtos infecciosos e desastres naturais levando mudanças drásticas na estrutura da população e ecologia no patógeno. Eventos catastróficos como tsunamis, furacões, inundações devastadoras, ondas de calor, deslocamento populacional e danos de infraestrutura podem ter efeitos trágicos sobre a incidência de infecções e seus padrões sazonais.⁴

Em um de seus aforismas, Hipócrates relata que...

"Cada doença ocorre em qualquer época do ano, mas algumas delas ocorrem com mais frequência e são de maior gravidade em determinados momentos." ⁶

Dentre as condições sujeitas a variações sazonais podem ser encontradas além das doenças infecciosas, diversas doenças crônicas. Plausivelmente, as exacerbações em condições crônicas podem ser motivadas por agentes infecciosos ou mudanças ambientais. Entender a

interação de uma infecção e uma doença crônica pode levar a um melhor controle para ambos.⁷

Como podemos inferir do aforisma de Hipócrates, o conhecimento do comportamento sazonal e da determinação meteorológica das doenças permite o direcionamento de ações de prevenção e controle.^{3,4} Por essa razão, a recente constatação da ocorrência de sazonalidade (ou associação com altas temperaturas) na epidemiologia das IRAS abriu uma nova perspectiva de ações de controle da infecção.⁸ É digno de nota que esse comportamento tem sido notado principalmente em bacilos gram-negativos (entre esses, em *A. baumannii*).^{9,10}

No contexto que nos interessa, a análise de sazonalidade e determinação meteorológica tem particular utilidade. Entre as questões em aberto sobre o possível comportamento sazonal de *A. baumannii* estão às seguintes:

- Há sazonalidade (ou determinação meteorológica) diferenciada em unidades climatizadas e não climatizadas?
- Existe associação entre multirresistência e sazonalidade?
- A associação com meteorologia varia conforme o sítio de infecção?

Este estudo busca responder as questões apresentadas acima.

METODOLOGIA

DELINEAMENTO DO ESTUDO

Realizou-se um estudo ecológico, baseado na incidência de *A. baumannii* nosocomial em um hospital de ensino no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2017 no município de Bauru-SP, na qual através do IPMET (Instituto de Pesquisas Meteorológicas) da Unesp de Bauru foi possível obter dados meteorológicos possíveis para demonstração do comportamento sazonal referente ao microrganismo *Acinetobacter baumannii*.

LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Hospital Estadual Bauru (HEB), que possui 335 leitos e é referência para atendimento terciário em uma região de aproximadamente um milhão de habitantes. O hospital possui cinco unidades de terapia intensiva (duas clínico-cirúrgicas, uma cardio-torácica, queimados e pediátrica) e diversas enfermarias. Tem Laboratório de Microbiologia próprio e Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, constituída nos termos da Portaria 2.616 de 1998 do Ministério da Saúde. O período desse estudo foram os anos de 2006 a 2017.

O HEB está localizado na cidade de Bauru, noroeste da capital do estado ($22^{\circ} 18' 54''$ S; $49^{\circ} 03' 39''$ O), e possui 371.690 habitantes (segundo dados do IBGE/2017) distribuídos em uma área aproximada de 673.488 km², distando 326 km da Capital do Estado de São Paulo (**Figura 2**).

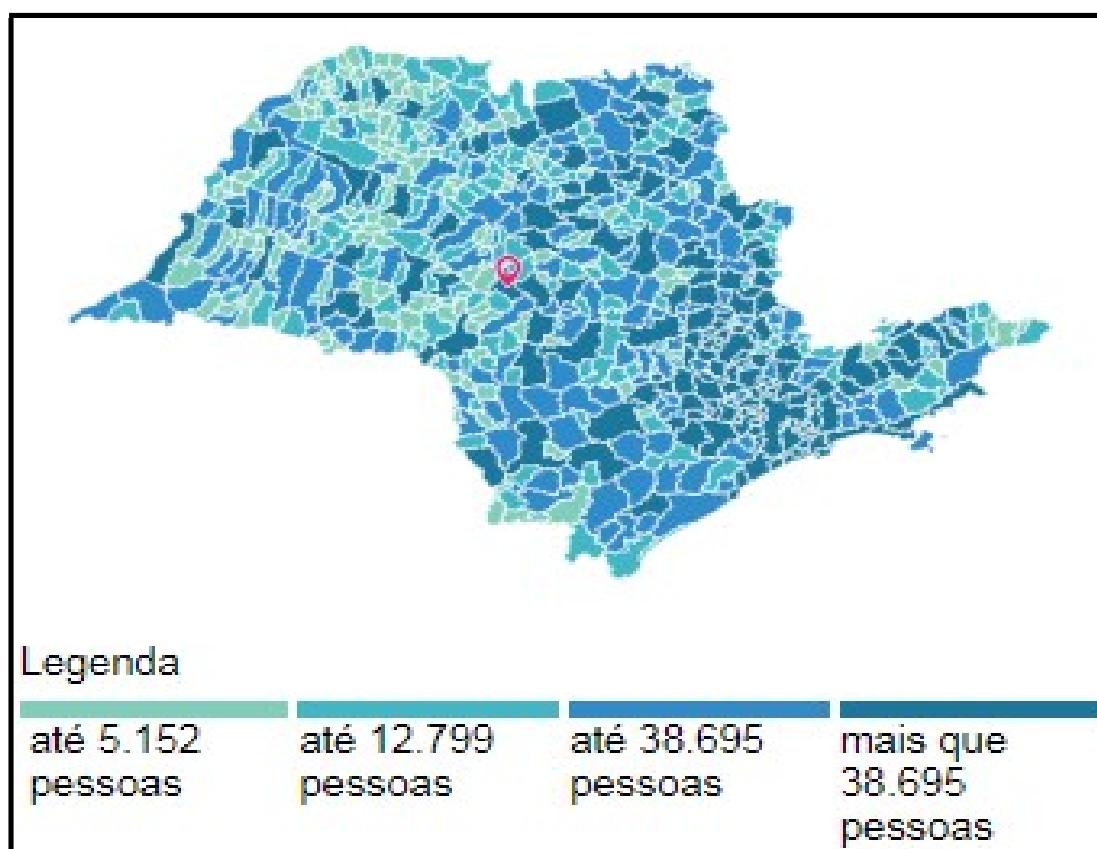


Figura 2. Localização e dados censitários de Bauru-SP.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos no estudo todos os pacientes com idade superior a 18 anos e com culturas positivas para o microrganismo Complexo A. *baumannii* a partir do terceiro dia de internação hospitalar (*three-midnight rule*)¹¹ os quais foram definidos como “associados aos cuidados de saúde” (isto é, agentes presuntivos de IRAS). Foram excluídas duplicidades, ou seja, considerou-se somente a primeira cultura clínica positiva para *A. baumannii*.

As culturas positivas para o patógeno estudado foram identificadas no Laboratório de Microbiologia próprio do HEB e diante dos resultados foram distribuídas nos seguintes grupos: amostras clínicas totais e hemoculturas; isolados totais e resistentes aos carbapenêmicos; isolados de enfermarias e de Unidades de Terapia Intensiva (UTI).

PROCEDIMENTOS MICROBIOLÓGICOS

IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE E TESTES DE SUSCETIBILIDADE

Durante o período de janeiro de 2006 a abril de 2015 os microrganismos que se desenvolveram em meios de cultura específicos ao seu gênero foram submetidas à coloração de Gram, objetivando-se a pureza, aliada a observação de sua morfologia e coloração específica.

Após confirmação dessas características, foram realizadas técnicas manuais para a identificação dos mesmos. Para o *A. baumannii* e demais bacilos gram-negativos não fermentadores de glicose foi utilizado o Kit NF II Probac[®], e a partir de maio de 2015 as amostras foram submetidas ao Vitek[®] 2 Compact – bioMérieux.

Diante da identificação do patógeno, entre o período estudado até abril de 2015 os testes de suscetibilidade foram realizados pela metodologia de Kirby-Bauer (testes de disco difusão) em ágar a partir de discos impregnados conforme critérios recomendados pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) com interpretação dos breakpoints vigentes no ano e, após tal período os testes de sensibilidade foram analisados e liberados através de CIM (concentração inibitória mínima).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A sazonalidade foi analisada em modelos ARIMA (*Autoregressive Integrated Moving Average*) de Box-Jenkins¹² e autocorrelação. Para análise de determinantes meteorológicos, dicotomizamos os dados de temperatura, umidade e pluviosidade no percentil 75. Após esse procedimento foi testado o efeito dos parâmetros em modelos multivariados de Regressão de Poisson.

Todas as análises foram realizadas nos softwares SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, USA) e NCSS 9 (LLC, Kaysville, UT, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de 12 anos abrangido pelo estudo, nós identificamos 1.207 pacientes com IRAS causadas por *A. baumannii*. A incidência global de colonização/infecção foi de 12,99 por 10.000 pacientes-dia (67,12 para UTIs, 5,11 para enfermarias). A taxa global de resistência a imipenem foi 78,9%, e foi maior nas UTIs que em outras unidades (83,6% versus 69,9%; $p < 0,001$).

Em uma primeira etapa do estudo, buscamos identificar sazonalidade (descrita como alteração periódica e anualmente repetida) na incidência de *A. baumannii*. Nos modelos ARIMA de Box-Jenkins, esse padrão não se confirmou. O mesmo pode ser constatado em análises de auto-regressão, mostradas na **Figura 3** para a taxa global de *A. baumannii*. O mesmo resultado foi constatado nas análises de subgrupos (resistentes aos carbapenêmicos, hemoculturas, isolados em UTI).

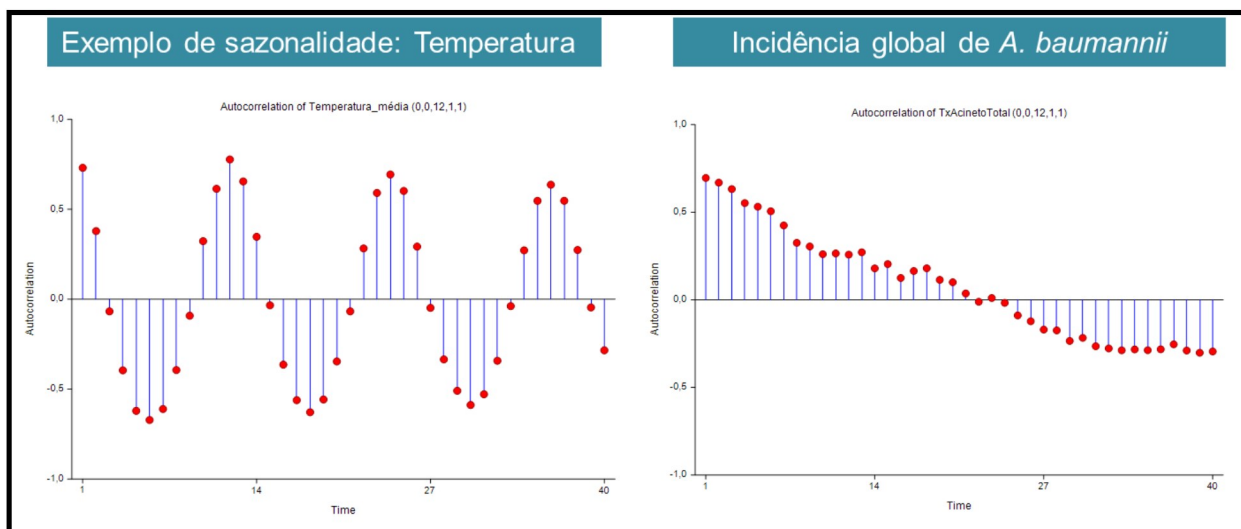


Figura 3. À esquerda, exemplo de autocorrelação de variável com sazonalidade evidente (cada medida é prevista com perfeição por aquela realizada 12 meses antes, ou seja, *lag12*). À direita, o comportamento não sazonal da incidência mensal global de *A. baumannii*.

Por outro lado, quando analisamos a dependência meteorológica, os resultados mostram associação com temperatura extrema (acima de 24,7°C, o percentil 75 dos valores mensais). Como se vê na Tabela 1, as associações foram mais consistentes para infecções da corrente sanguínea (i.e., hemoculturas positivas) e para isolados resistentes a carbapenêmicos (CRAB).

Tabela 1. Modelos multivariados de regressão de Poisson para associação de variáveis meteorológicas com taxas de incidência de *A. baumannii*.

Culturas	Incidência*	RT (IC95%)		
		T75	U75	P75
A. baumannii total				
Culturas clínicas totais	12,99	1,09 (1,02-1,16)	0,97 (0,91-1,05)	0,93 (0,77-1,01)
Culturas clínicas (UTIs)	67,12	1,06 (0,98-1,15)	1,04 (0,95-1,14)	0,95 (0,87-1,04)
Culturas clínicas (Enfermarias)	5,11	1,10 (0,98-1,23)	0,89 (0,78-1,02)	0,96 (0,80-1,04)
Hemoculturas totais	2,43	1,26 (1,09-1,46)	0,89 (0,74-1,06)	0,87 (0,73-1,05)
Hemoculturas (UTIs)	14,05	1,23 (1,04-1,46)	1,03 (0,84-1,26)	0,88 (0,71-1,08)
Hemoculturas (Enfermarias)	0,74	1,27 (0,96-1,69)	0,53 (0,33-0,86)	0,88 (0,61-1,28)
CRAB				
Culturas clínicas totais	10,25	1,18 (1,11-1,27)	1,00 (0,92-1,09)	0,90 (0,82-0,97)
Culturas clínicas (UTIs)	56,13	1,16 (1,06-1,26)	1,08 (0,97-1,18)	0,90 (0,82-1,01)
Culturas clínicas (Enfermarias)	3,57	1,20 (1,06-1,37)	0,90 (0,77-1,05)	0,89 (0,76-1,04)
Hemoculturas totais	1,82	1,38 (1,17-1,62)	0,94 (0,77-1,15)	0,86 (0,70-1,06)
Hemoculturas (UTIs)	11,09	1,34 (1,11-1,60)	1,07 (0,85-1,33)	0,83 (0,65-1,06)
Hemoculturas (Enfermarias)	0,47	1,43 (1,03-2,02)	0,62 (0,37-1,04)	1,01 (0,66-1,55)

Nota. Associações positivas hachuradas em rosa, negativas em azul.

*Por 10.000 pacientes-dia.

CRAB, *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos

* T75: Percentil 75 (Temperatura)

* U75: Percentil 75 (Umidade)

* P75: Percentil 75 (Pluviosidade)

Os estudos que abordam a sazonalidade ou determinação meteorológica na incidência de bacilos gram-negativos têm levantado as seguintes hipóteses para justificar esses fenômenos⁸:

- Aumento da virulência de microrganismos expostos a temperaturas elevadas;
- Influxo de patógenos de reservatórios ambientais do ambiente extra-hospitalar para as unidades de internação;

- Alterações sazonais de dimensionamento e comportamento dos profissionais da saúde.

Entre essas hipóteses, a segunda é digna de atenção. Ela foi defendida por alguns autores. Christie *et al*¹⁰ identificaram coexistência de múltiplos clones nos meses quentes, e concluíram que, uma vez que não havia transmissão de uma linhagem única nesses períodos, sua origem deveria ser extra-hospitalar. Reforçando essa hipótese, Fukuta *et al*¹³ encontraram sazonalidade para *A. baumannii* em geral, mas não para isolados multidroga-resistentes. Esses autores inferiram que, uma vez que os isolados sazonais eram sensíveis a múltiplos antimicrobianos, deveriam ser de origem comunitária e não nosocomial. Por fim, essa teoria ganhou reforço pela constatação de que a sazonalidade ocorria inclusive em ambientes climatizados, nos quais não se espera variação de temperatura interna.

Nossos achados contradizem parcialmente essa teoria. É certo que não identificamos sazonalidade, mas houve uma associação com a temperatura ambiental externa extrema, que foi observada tanto para enfermarias (não climatizadas) como para UTIs (onde existe climatização). Por outro lado, a associação com temperatura foi (ao contrário do que sugeriu Fukuta) mais intensa para isolados imipenem-resistentes (CRAB). Nesse aspecto, nossos achados são semelhantes aos de Eber *et al*¹⁴, que descreveram sazonalidade e associação com temperatura tanto para isolados imipenem-sensíveis com imipenem-resistentes de bacilos Gram-negativos.

Um achado interessante de nosso estudo foi que, para *A. baumannii* em geral, houve maior associação com temperatura nos isolados de hemocultura que naqueles de outras amostras clínicas. Isso é digno de nota, já que hemoculturas positivas têm maior associação com infecções verdadeiras.

Concluindo, é possível identificar uma associação relevante entre incidência de *A. baumannii* e extremos de temperatura em um hospital de região tropical. Essa associação foi observada indistintamente em unidades climatizadas e não climatizadas. Foi também maior para isolados de hemocultura e CRAB. Esses achados, embora não apontem de forma conclusiva para fatores causais, reforçam a importância de intensificar ações de controle em períodos de maior temperatura.

REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO 1

1. Almeida, DHC. Mudanças climáticas – Premissas e situação futura. São Paulo: LCTE, 2007.
2. Impact on human health of climate changes. [Massimo Franchinia](#), [Pier Mannuccio Mannucci](#)b. Eur J Intern Med 2015;26: 1–5.
3. Fisman DN. Seasonality of infectious diseases. Annu Rev Public Health. 2007;28:127-43.
4. Fisman D. Seasonality of viral infections: mechanisms and unknowns. Clin Microbiol Infect. 2012;18:946-54.
5. Burkart K, Khan MM, Schneider A, Breitner S, Langner M, Krämer A, Endlicher W. The effects of season and meteorology on human mortality in tropical climates: a systematic review. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2014 Jul;108(7):393-401.
6. Hippocrattes. Aphorisms, III, 19 (transl. Francis Adams). The Internet Classic Archives [cited 2017 Nov 20]. Available from: <http://classics.mit.edu/Hippocrates/airwatpl.mb.txt>.
7. Naumova EN. Mystery of Seasonality: Getting the Rhythm of Nature. J Public Health Policy. 2006 ; 27: 2–12.
8. Richet H. Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. Clin Microbiol Infect. 2012;18:934-40.
9. Perencevich EN, McGregor JC, Shardell M, Furuno JP, Harris AD, Morris JG Jr, Fisman DN, Johnson JA. Summer Peaks in the Incidences of Gram-

Negative Bacterial Infection Among Hospitalized Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29:1124-31.

10. 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.

11. Cohen AL, Calfee D, Fridkin SK, Huang SS, Jernigan JA, Lautenbach E, Oriola S, Ramsey KM, Salgado CD, Weinstein RA; Society for Healthcare Epidemiology of America and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Recommendations for metrics for multidrug-resistant organisms in healthcare settings: SHEA/HICPAC Position paper . *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29:901-13.

12. Box GE, Jenkins GM, Reinsel CG. Time series analysis: forecasting and control. Hoboken NJ: Wiley, 2015.

13. 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.

14. 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.

Capítulo 2

CAPÍTULO 2: FATORES DE RISCO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS BACTERÊMICOS DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* RESISTENTE AOS CARBAPENÊMICOS.

INTRODUÇÃO

O crescente impacto da resistência antimicrobiana é uma preocupação global. Brasil e países da América Latina, em geral, têm níveis mais altos de resistência bacteriana entre a maioria de seus principais agentes patogênicos, em comparação com a Europa e os Estados Unidos, particularmente entre bacilos Gram-negativos e Enterobactérias ESBL.¹

Há evidências de que o consumo total de antimicrobianos é um fator crítico na seleção para resistência. Paradoxalmente, a subutilização através de dosagem inadequada, má adesão e qualidade inferior dos antimicrobianos podem desempenhar um papel tão importante quanto o excesso de seu uso gerando resistência.^{2,3}

Os isolados de *Acinetobacter baumannii* apresentam capacidade de adquirir novos mecanismos de resistência e uma crescente resistência a múltiplos medicamentos, que está se tornando uma realidade assustadora em muitos hospitais em todo o mundo.³

Grande parte dos isolados de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos no Brasil carregam a β -lactamase OXA-23. Surtos desses agentes têm sido observados desde 1983.¹

A ameaça à saúde pública devido ao crescimento da resistência antimicrobiana (RAM) é impulsionada tanto pelo uso adequado como inadequado de medicamentos anti-infecciosos utilizados na saúde humana e animal bem como na produção de alimentos e, ainda, com medidas inapropriadas para controlar a disseminação de infecções.²

Reconhecendo esta crise de saúde pública, vários países, agências internacionais e outras organizações em todo o mundo tomaram medidas para combatê-la através de estratégias aplicadas nos setores relevantes. Várias resoluções da Assembleia Mundial da Saúde têm alertado para ações específicas relacionadas com a RAM e a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou sua estratégia global para conter a RAM em 2001 e, no Dia Mundial da Saúde de 2011, convidou os países a aderirem a um pacote de políticas de seis pontos: (1) compromisso com um plano nacional orçamentário abrangente que seja responsável e envolva a sociedade civil, (2) reforço da vigilância e capacidade laboratorial, (3) garantia de acesso ininterrupto a medicamentos essenciais de qualidade garantida, (4) regulamentação e promoção do uso racional de medicamentos na pecuária e garantia de os cuidados adequados ao paciente, (5) aprimoramento da prevenção e do controle de infecções e (6) promoção de inovação, pesquisa e desenvolvimento de novas ferramentas.³

A resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* é principalmente mediada pela produção de enzimas beta-lactamases do tipo oxacilinasas³, entre as quais se destacam as pertencentes aos grupos OXA-51-like, OXA-23-

like, OXA-24/40-like, OXA-58-like e OXA-143-like.^{4,5} Genes do grupo blaOXA-51-like são considerados intrínsecos ao genoma da espécie *A. baumannii*⁶, a despeito de descrições pontuais da detecção deste determinante em outras espécies de *Acinetobacter*, como *A. nosocomialis* e *A. genomic species* "Close to 13TU"^{7,8}, de ocorrência plasmidial. A detecção dos genes blaOXA-51-like pode, então, ser utilizada como marcador da espécie *A. baumannii*. Em relação à epidemiologia das demais enzimas, as mais disseminadas mundialmente são aquelas pertencentes aos grupos OXA-23-like e OXA-24/40-like^{4,5,9,10}. No Brasil, particularmente, enzimas do tipo OXA-143-like devem ser lembradas por terem prevalência consistente, ainda que em menores proporções^{11,12,13}

Para fins de caracterização molecular (genotipagem), diferentes metodologias podem ser empregadas. Atualmente, a técnica de eletroforese em campo pulsado (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*, PFGE) é considerada uma das mais utilizadas e com elevado poder discriminatório, por exibir o perfil de restrição de todo o genoma bacteriano.¹⁴ O PFGE tem como limitação a dificuldade da comparação interlaboratorial para estudos de dimensões globais. Neste sentido, torna-se bastante útil a utilização da metodologia de *multilocus sequence typing* (MLST), que, por meio do sequenciamento de genes constitutivos e conservados, permite obter dados de filogenia bacteriana e comparar resultados por meio de bancos de dados mundiais disponibilizados online, como os do Instituto Pasteur ou da Universidade de Oxford.^{15,16} Por se tratar de uma metodologia relativamente

trabalhosa e dispendiosa, alternativas surgiram ao MLST, como é caso da técnica de tipagem por três-loci, inicialmente desenvolvida por Turton e colaboradores¹⁷ e recentemente adaptada para a epidemiologia brasileira¹⁸, Por meio de reações de PCR que não exigem o sequenciamento posterior, é inferir a classificação das cepas em determinados Complexos Clonais.

Em um artigo clássico, Foxman & Riley¹⁹ insistem que no termo “epidemiologia molecular” importa tanto o aspecto “molecular” (a aplicação de técnicas laboratoriais) quanto a “epidemiologia” (o estudo da distribuição desigual dos processos de saúde e seus determinantes). Assim, mais que a técnica molecular utilizada, importa sua aplicação para elucidar a epidemiologia de um microrganismo. Esse foi o objetivo do nosso estudo: abordar a epidemiologia molecular de bacteremias por *A. baumannii* em um complexo de hospitais do interior do Estado de São Paulo.

METODOLOGIA

DELINEAMENTO, LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

Foi conduzido estudo caso-controle para identificação de fatores de risco para aquisição de bacteremias nosocomiais por *A. baumannii* resistente ao imipenem nos seguintes hospitais: Hospital Estadual Bauru (335 leitos), Hospital Estadual Manoel de Abreu (57 leitos) e Hospital de Base de Bauru (168 leitos). O período de coleta foi de 2013 a 2016. A definição de "bacteremia nosocomial" baseou-se, como descrito anteriormente, no isolamento em hemoculturas coletadas após o terceiro dia de internação.

PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS

Casos foram identificados no laboratório de microbiologia. **Para cada caso foram utilizados dois controles, identificados aleatoriamente na mesma unidade de internação.**

Dados foram obtidos em prontuários e arquivos laboratoriais. Foram coletados dados demográficos e comorbidades, incluindo o Índice de Charlson.²⁰ Os demais dados foram coletados para o "tempo sob risco" (definido como período entre internação e coleta da cultura, para os casos, e entre internação e alta, para os controles). Esses incluíram: procedimentos, dispositivos invasivos e uso de antimicrobianos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Dados foram analisados no *software* SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, USA). Na etapa univariada, foram aplicados os testes do Chi-quadrado, Exato de Fisher e U de Mann-Whitney, quando apropriados. Para análise multivariada foram utilizados modelos de Regressão Logística. A seleção de variáveis foi realizada da seguinte forma: em primeiro lugar, foram forçadas no modelo variáveis de gravidade ("Índice de Charlson")²⁰ e tempo de exposição ("tempo sob risco"). A seguir, cada variável foi entrada em estratégia de avanços (*stepwise forward*). Resumidamente, foram selecionados em um primeiro modelo as variáveis com $p < 0,05$. Outras variáveis foram entradas uma a uma. O critério de inclusão no modelo final foi a alteração de mais de 10% no *Odds Ratio* das variáveis significantes.

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

Os isolados foram caracterizados molecularmente por *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE). Os procedimentos para essa caracterização foram:

- ✓ **Extração do DNA bacteriano:** o material genético bacteriano foi extraído empregando-se o método da lise térmica seguida de choque térmico. Após, o DNA foi armazenado a -20°C.

- ✓ **Deteção dos genes blaOXA:** os genes das principais oxacilinas (OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58, OXA-143-like) foram pesquisados por meio de uma reação de PCR multiplex ^{20,21}. As reações foram realizadas em reação multiplexada em volume final de 20µL, contendo 200nM (5pmol/20µL) de cada primer, 1,5U de Taq DNA Polimerase em tampão contendo 1,5mM de MgCl₂, e 200µM de cada dNTP.

- ✓ **Determinação do padrão eletroforético por PFGE:** para determinação da diversidade genética entre os isolados, a técnica de Pulsed field gel electrophoresis foi empregada, conforme protocolo padronizado por Seifert e colaboradores.²² Inicialmente, preparou-se uma suspensão bacteriana (de crescimento recente) ajustada a aproximadamente 10⁹ células/mL em Tampão de Suspensão Celular (100mM Tris, 100mM EDTA, pH 8,0); a seguir, alíquota de 200µL desta suspensão foi transferida para microtubo de centrífuga de 1,5mL e incubada a 55°C por 10 minutos. Acrescentou-se a este tubo 10µL de proteinase K (solução 20 mg/ml) e 200µL de agarose específica para preparo de plugues para PFGE, fundida e estabilizada, à concentração de 1% em tampão TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8,0). A suspensão de células em

agarose foi distribuída nos moldes para plugues, deixados à temperatura ambiente por 5 minutos e em geladeira por mais 5 minutos para completa solidificação. A seguir, os plugues foram transferidos para tubos contendo 5mL de tampão de lise celular (50mM Tris, 50mM EDTA [pH 8;0], 1% sarcosine) com 25µL de proteinase K (solução 20mg/mL) e incubados a 55°C por 2 horas sob agitação constante (150 a 200rpm). Após a lise, o tampão foi removido e os plugues lavados quatro vezes, por 15 minutos cada lavagem (2 vezes com água ultrapura destilada e 2 vezes com tampão TE), sob incubação de 55°C e agitação constante. A seguir, os plugues foram cortados, com largura aproximada de 2mm, e submetidos à digestão com 30U da enzima Apal (Promega), de acordo com o tempo de incubação e temperatura recomendados pelo fabricante. Os plugues com DNA digerido foram então aplicados em um gel de agarose específica para PFGE à concentração de 1%, em TBE 0,5X (40mM Tris-HCl, pH 8,3; 45mM ácido bórico e 1mM EDTA). A eletroforese foi efetuada no equipamento CHEF-III (BIORAD), com tampão TBE 0,5X, e temperatura ajustada a 14°C. O tempo de eletroforese foi de 18h, com pulso inicial de 5s e final de 20s, 6V/cm. A seguir, o gel foi corado com uma solução de brometo de etídio 1µg/mL, por 30 minutos, e descorado em água destilada em 3 lavagens de 15 minutos cada. Imagens dos géis foram capturadas sob iluminação ultravioleta em transiluminador, onde a análise dos padrões de base foi realizada com

o software *BioNumerics* 7.5 (Applied Math, Belgium); análise da relação genética entre os perfis eletroforéticos foi realizada utilizando-se o método UPGMA (unweighted pair group method with mathematical averaging) com o coeficiente de Dice, utilizando-se otimização e tolerância de 1,5%²³; para normalização dos géis, foi utilizada a cepa *Salmonella* Braenderup H9812²⁴ digerida com 30U da enzima XbaI, colocada em pelo menos três linhas de cada gel. Os agrupamentos (clusters) foram definidos à similaridade de Dice acima de 80%, e nomeados com letras maiúsculas (A, B, C, etc.); cada perfil eletroforético foi também nomeado, por meio da letra correspondente ao agrupamento e de um número (A1, A2, B1, B2, etc.).

- ✓ **Tipagem dos clones de *A. baumannii*:** A tipagem por three-loci (3LST) foi realizada conforme protocolo preconizado por Turton e colaboradores.¹⁷ Esta técnica permite elucidação dos principais grupos clonais circulantes por meio do emprego de reações de multiplex-PCR, que utilizam sequências específicas dos genes *ompA* (que codifica a porina da membrana externa A), *csuE* (envolvido na formação de biofilme) e *blaOXA-51-like* (codificador da carbapenemase intrínseca de *A. baumannii*). Esta metodologia emprega duas reações multiplex (Grupo 1 [Clone Internacional 2] e Grupo 2 [Clone Internacional 1]), que foram realizadas em volume final de 25µL, contendo 400nM (10pmol/25µL) de cada primer, 1,5U de Taq

DNA Polimerase em tampão contendo 1,5mM de $MgCl_2$, e 200 μ M de cada dNTP. Devido a resultados discrepantes entre a técnica de 3LST e novos clones²⁵, recentemente a técnica foi adaptada para incluir os principais clones brasileiros circulantes¹⁷, e a mesma foi avaliada nas cepas deste estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

FATORES DE RISCO

Foram selecionados 38 casos e 76 controles para o estudo. A **Tabela 2** mostra os resultados da análise univariada. Percebe-se que houve associação de diversos fatores, entre eles comorbidades, procedimentos e antimicrobianos.

Na análise multivariada (**Tabela 3**), com ajuste para gravidade (Índice de Charlson) e tempo sob risco, os fatores de risco independentes foram inserção de cateter venoso central e uso de cefepima e imipenem.

Tabela 2. Análise univariada de fatores de risco para bacteremias por *A. baumannii* resistente a imipenem.

Fatores de risco	Análise Univariada			
	Casos (38)	Controles (76)	OR (IC95%)	p
<i>Dados demográficos</i>				
Sexo masculino	20 (52,6)	46 (60,5)	0,73 (0,33-1,59)	0,42
Idade, mediana (quartis)	62,5 (47-78)	61 (40-73)	...	0,44
<i>Comorbidades</i>				
Doença cardíaca	11 (28,9)	28 (36,8)	0,70 (0,30-1,62)	0,4
Doença pulmonar	23 (60,5)	18 (23,7)	4,94 (2,14-11,43)	<0,001
Doença renal	12 (31,6)	11 (14,5)	2,73 (1,07-6,95)	0,03
Doença hepática	3 (7,9)	3 (3,9)	2,09 (0,40-10,86)	0,4
Diabetes mellitus	19 (26,3)	14 (18,4)	1,58 (0,63-3,99)	0,33
Doença do Sistema Nervoso Central	9 (23,7)	11 (14,5)	1,83 (0,69-4,90)	0,22
Neoplasia sólida	3 (7,9)	2 (2,6)	3,17 (0,51-19,85)	0,33
Linfoma ou Leucemia	2 (5,3)	0 (0,0)	... (... - ...)	0,11
Aids	0 (0,0)	3 (3,9)	0,00 (... - ...)	0,55
Trauma	2 (5,3)	6 (7,9)	0,65 (0,12-3,38)	0,72
Índice de Charlson, mediana (quartis)	1,5 (1-3)	1 (1-2)	...	0,06
<i>Dados da internação</i>				
Tempo sob risco, mediana (quartis)	10,5 (7-22)	18,5 (11-32)	...	0,02
Internações prévias, mediana (quartis)	1 (0-1)	0 (0-0)	...	<0,001
Cirurgia	15 (39,5)	30 (39,5)	1,00 (0,44-2,23)	1,00
Ventilação mecânica	24 (63,2)	16 (21,1)	6,43 (2,72-15,18)	<0,001
Cateter venoso central	26 (68,4)	20 (26,3)	6,07 (2,58-14,24)	<0,001
Nutrição parenteral	3 (7,9)	4 (5,3)	1,54 (0,33-7,28)	0,68
Sonda Vesical de Demora	23 (60,5)	29 (38,2)	2,49 (1,12-5,52)	0,02
<i>Antimicrobianos</i>				
Amicacina	2 (5,3)	0 (0,0)	... (... - ...)	0,11
Gentamicina	3 (7,9)	0 (0,0)	... (... - ...)	0,04
Oxacilina	4 (10,5)	4 (5,3)	2,12 (0,50-8,18)	0,43
Ampicilina-Sulbactam	5 (13,2)	0 (0,0)	... (... - ...)	0,001
Amoxicilina-Clavulanato	10 (26,3)	10 (13,2)	2,35 (0,88-6,29)	0,08
Piperacilina-Tazobactam	11 (28,9)	11 (14,5)	2,41 (0,93-6,22)	0,07
Cefalotina	2 (5,3)	4 (5,3)	1,00 (0,18-5,78)	1
Cefazolina	2 (5,3)	7 (9,2)	0,55 (0,11-2,77)	0,72
Cefuroxima	0 (0,0)	4 (5,3)	0,0 (... - ...)	0,32
Ceftriaxona	1 (2,6)	2 (2,6)	1,00(0,09-11,39)	1
Cefepima	24 (63,2)	11 (14,5)	10,13 (4,05-25,37)	<0,001
Imipenem	6 (19,8)	1 (1,3)	14,06 (1,63-121,58)	0,005
Meropenem	14 (36,8)	4 (5,3)	10,5 (3,15-34,98)	<0,001

Vancomicina	15 (39,5)	7 (9,2)	6,43 (2,33-17,72)	<0,001
Ciprofloxacino	7 (18,4)	15 (19,7)	0,92 (0,34-2,49)	0,87
Levofloxacino	5 (13,2)	2 (2,6)	5,61 (1,03-30,39)	0,04
Claritromicina	4 (10,5)	3 (3,9)	2,86 (0,61-13,51)	0,22
Clinamicina	1 (2,6)	5 (6,6)	0,38 (0,04-3,41)	0,66
Metronidazol	4 (10,5)	3 (3,9)	2,86 (0,61-13,51)	0,22
Polimixina	8 (21,1)	0 (0,0)	... (... - ...)	<0,001

Nota. Dados em número (%) exceto quando especificado. Associações significantes mostradas em negrito. OR, Odds Ratio. IC, Intervalo de Confiança.

Tabela 3. Modelo multivariado (regressão logística) de fatores de risco para bacteremias por *A. baumannii* resistente ao imipenem.

Fatores de risco	OR (IC95%)	p
Cateter venoso central	5,34 (1,58-18,09)	0,007
Cefepima	18,41 (4,73-71-66)	<0,001
Meropenem	18,59 (3,00-115,25)	0,002

Nota. Modelo ajustado para Índice de Charlson e Tempo sob risco.

Os achados do nosso estudo são compatíveis com os de pesquisas previamente publicadas na literatura, do nosso grupo e de outros.^{2,26,27,28}

Nota-se a coexistência de fatores associados a procedimentos/dispositivos invasivos e antimicrobianos. Os achados tornam-se mais interessantes quando complementados pela epidemiologia molecular.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS ISOLADOS

Na análise por PFGE (**Figura 4**) foram obtidos 12 padrões clonais, sendo que 7 deles agregaram mais de um isolado (entre 2 e 7 isolados). Esse perfil caracteriza uma endemicidade policlonal, com coexistência de diversas linhagens do *A. baumannii*. No entanto, demonstra também haver extensa transmissão cruzada desse patógeno.

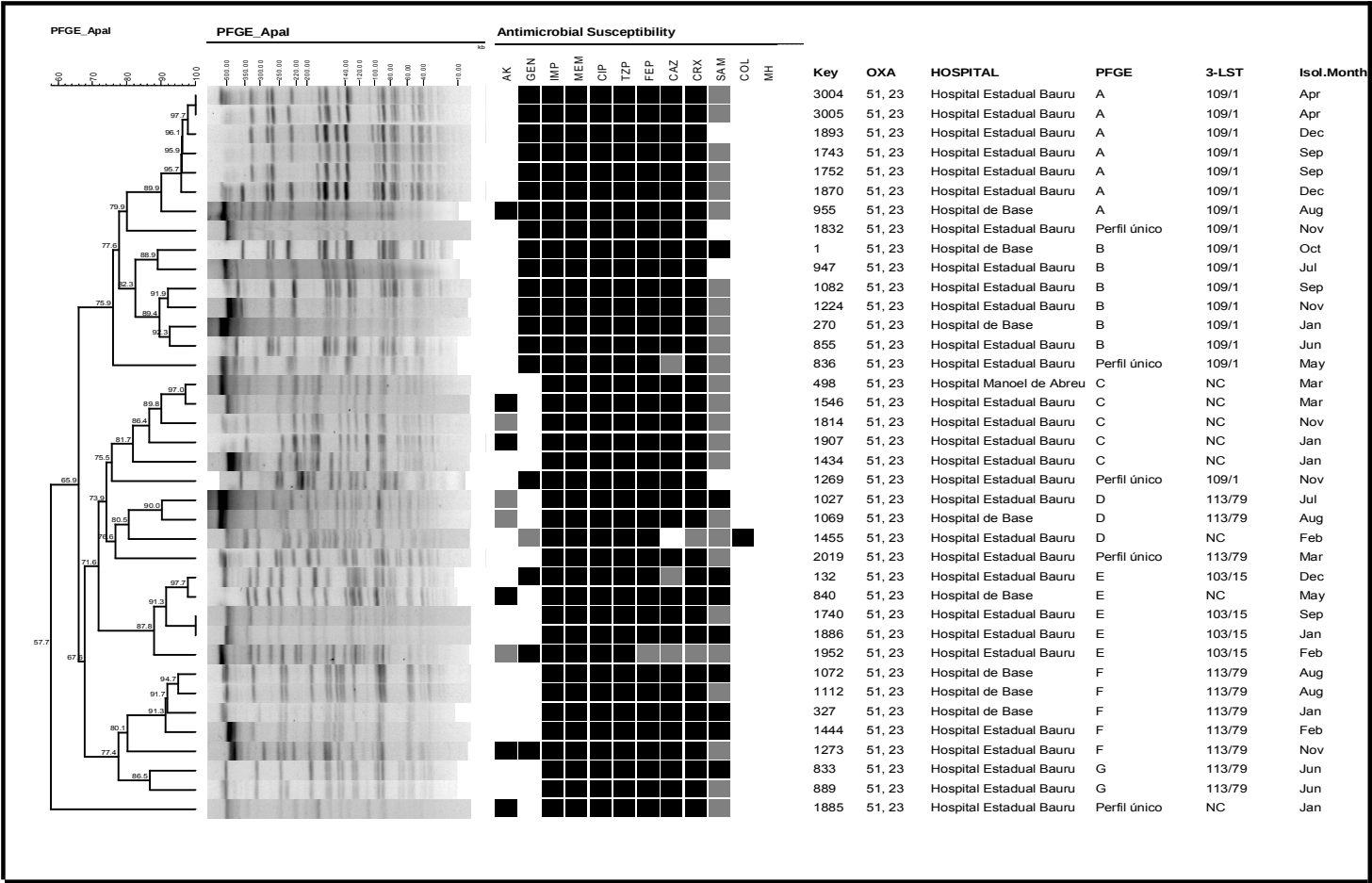


Figura 4. Dendrograma da análise molecular (PFGE) dos isolados do estudo, mostrando agregados clonais (de A a G) e perfis únicos de isolados.

De forma interessante, identificamos a ocorrência de isolados de um mesmo clone em diferentes hospitais. Em parte isso é esperado, pois trata-se de uma rede de hospitais públicos administrados de forma comum e com frequente compartilhamento de pacientes e profissionais da saúde. Mas é também relevante o fato de que, enquanto coexistem diversos clones em um mesmo hospital, alguns deles se disseminam no interior de cada serviço e entre hospitais diferentes.

O achado de endemidade policlonal (já observado em outros estudos²⁹) e associação com admissões em hospitais múltiplos argumenta para a transmissão de organismos multirresistentes através de redes de cuidados de saúde. Isso aponta para a necessidade de implementar medidas de controle de infecção com uma abordagem regional e não única.

É possível analisar a alta resistência antimicrobiana frente ao microrganismo *A. baumannii* na qual através da **Figura 4** destaca-se a cor preta (resistente), cor cinza (intermediário) e a cor branca (sensível) aos antibióticos testados: Amicacina, Gentamicina, Imipenem, Meropenem, Ciprofloxacina, Piperacilina-tazobactam, Cefepime, Ceftazidima, Ceftriaxona, Ampicilina-Sulbactam, Colistina e Minociclina. É válido ressaltar que dentre as amostras as hemoculturas analisadas apenas uma teve resistência a Colistina e a mesma foi confirmada por segunda metodologia (E-test).

REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO 2

1. Rossi F. The Challenges of Antimicrobial Resistance in Brazil. Antimicrobial Resistance. Clin Infect Dis. 2011;52:1138-43.
2. Papadimitriou-Olivgeris M, Fligou F, Spiliopoulou A, Koutsileou K, Kolonitsiou F, Spyropoulou A, Zotou A, Marangos M, Anastassiou ED, Christofidou M, Spiliopoulou I. Risk factors and predictors of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* mortality in critically ill bacteraemic patients over a 6-year period (2010-15): antibiotics do matter. J Med Microbiol. 2017 Jul 31. doi: 10.1099/jmm.0.000538. [Epub ahead of print]
3. Grayson ML, Heymann D, Pittet D. The evolving threat of antimicrobial resistance. World Health Organization. 2012
4. Evans BA, Amyes S G. OXA β -lactamases. Clin Microbiol Rev, 2014; 27, 241-63.
5. Peleg A Y, Seifert H, Paterson, DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev, 2008; 21:538-82.
6. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt T L. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol, 2006; 44; 2974-6.

7. Lee YT, Kuo SC, Chiang MC, Yang SP, Chen CP, Chen TL, Fung CP. Emergence of carbapenem-resistant non-baumannii species of *Acinetobacter* harboring a blaOXA-51-like gene that is intrinsic to *A. baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 1124-7.
8. Lee YT, Turtton JF, Chen TL, Wu RC, Chang WC, Fung CP, Chen CP, Cho WL, Huang LY, Siu LK. First identification of blaOXA-51-like in non-baumannii *Acinetobacter* spp. *J Chemother* 2009; 21: 514-20
9. Medeiros M, Lincopan N. Oxacillinase (OXA)-producing *Acinetobacter baumannii* in Brazil: clinical and environmental impact and therapeutic options. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2014; 49: 391-415.
10. Vasconcelos AT, Barth AL, Zavascki AP, Gales AC, Levin AS, Lucarevski BR, Cabral BG, Brasiliense DM, Rossi F, Furtado GH, Carneiro IC, da Silva JO, Ribeiro J, Lima KV, Correa L, Britto MH, Silva MT, da Conceição ML, Moreira M, Martino MD, de Freitas MR, Oliveira MS, Dalben MF, Guzman RD, Cayô R, Morais R, Santos SA, Martins WM. The changing epidemiology of *Acinetobacter* spp. producing OXA carbapenemases causing bloodstream infections in Brazil: a BrasNet report. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;83:382-5.
11. Camargo CH, Tiba MR, Saes MR, Vasconcellos FM, Santos LF, Romero EC, Garcia Dde O. Population Structure Analysis of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Brazil Reveals

- Predominance of Clonal Complexes 1, 15, and 79. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:2545-7.
12. Mostachio AK, Levin AS, Rizek C, Rossi F, Zerbini J, Costa SF. High prevalence of OXA-143 and alteration of outer membrane proteins in carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. isolates in Brazil. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39:396-401.
13. Werneck JS, Picão RC, Girardello R, Cayô R, Marguti V, Dalla-Costa L, Gales AC, Antonio CS, Neves PR, Medeiros M, Mamizuka EM, Elmor de Araújo MR, Lincopan N. Low prevalence of blaOXA-143 in private hospitals in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:4494-5.
14. Ahmed SS, Alp E. Genotyping methods for monitoring the epidemic evolution of *A. baumannii* strains. *J Infect Dev Ctries* 2015; 9: 347-54.
15. Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodríguez-Valera F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4382-90.
16. Diancourt L, Passet V, Nemec A, Dijkshoorn L, Brisse S. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PLoS One.* 2010;5:e10034.
17. Turton JF, Gabriel SN, Valderrey C, Kaufmann ME, Pitt TL. Use of sequence-based typing and multiplex PCR to identify clonal lineages of outbreak strains of *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:807-15.

18. Martins N, Picão RC, Cerqueira-Alves M, Uehara A, Barbosa LC, Riley LW, Moreira BM. A new trilocus sequence-based multiplex-PCR to detect major *Acinetobacter baumannii* clones. *Infect Genet Evol.* 2016; 42:41-5.
19. Foxman B, Riley L. Molecular epidemiology: focus on infection. *Am J Epidemiol.* 2001;153:1135-41.
20. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40:373-83.
21. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;35:305.
22. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, Amyes SG, Livermore DM. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;27:351-3.
23. Seifert H1, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D, Heersma H, Dijkshoorn L. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated

- fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2005;43:4328-35.
24. Hunter SB, Vauterin P, Lambert-Fair MA, Van Duyne MS, Kubota K, Graves L, Wrigley D, Barrett T, Ribot E. Establishment of a universal size standard strain for use with the PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocols: converting the national databases to the new size standard. J Clin Microbiol. 200;43:1045-50.
25. Post V, Hamidian M, Hall RM. Antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* variants belonging to global clone 1. J Antimicrob Chemother. 2012 Apr;67(4):1039-40.
26. 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. 18.
27. Cavalcante RD, Canet P, Fortaleza CM. Risk factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: An appraisal of the effect of colonization pressure. Scand J Infect Dis. 2014 Jun 11:1-6.
28. Al-Gethamy MM, Faidah HS, Adetunji HA, Haseeb A, Ashgar SS, Mohanned TK, Mohammed AH, Khurram M, Hassali MA. Risk factors associated with multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial infections at a tertiary care hospital in Makkah, Saudi

Arabia - a matched case-control study. J Int Med Res. 2017;45:1181-1189.

29. Medina-Presentado JC, Seija V, Vignoli R, Pontet J, Robino L, Cordeiro NF, Bado I, García-Fulgueiras V, Berro M, Bazet C, Savio E, Rieppi G. Polyclonal endemicity of *Acinetobacter baumannii* in ventilated patients in an intensive care unit in Uruguay. Int J Infect Dis. 2013;17:e422-7

Capítulo 3

CAPÍTULO 3: PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM INFECÇÃO DA CORRENTE SANGUÍNEA POR *ACINETOBACTER BAUMANNII* RESISTENTE AOS CARBAPENÊMICOS.

INTRODUÇÃO

A letalidade de IRAS causadas por *A. baumannii* é relevante.^{1,2} Mortes são um desfecho particularmente frequente de infecção por CRAB. Em uma meta-análise recente, a letalidade global de IRAS por *A. baumannii* foi de 33% (850 mortes em 2546 casos de 16 artigos), e o Risco Relativo foi 2,2 para isolados resistentes a carbapenêmicos.³

No caso de bacteremias por esse agente, e independentemente do sítio primário de infecção (ou se infecção primária da corrente sanguínea), a letalidade “crua” relatada varia de 34% a mais de 65% (**Tabela 4**).⁴⁻²¹ Há certa dificuldade em se identificar a “mortalidade atribuível”, uma vez que pacientes com bacteremias causadas por bacilos Gram-negativos (tais como *A. baumannii*) apresentam em geral comorbidades e uma série de “invasões terapêuticas”.²² Na escassa literatura que avaliou esse parâmetro, a mortalidade atribuível variou de 7,0%⁶ a 49,0%.²⁰

Fatores caracteristicamente associados à mortalidade incluem altos scores de gravidade, como APACHE II¹⁶, SOFA¹³ e Charlson.²³ Por outro lado, a “terapia apropriada” (descrita como início oportuno de antimicrobianos com atividade contra o *A. baumannii*).²⁰

Tabela 4. Relatos publicados de letalidade “crua” de bacteremia por *Acinetobacter baumannii*.

Referência	Ano	Geral	CSAB	CRAB
Cisneros et al. ⁴	1996	34,0%	...	...
Blot et al. ⁵	2003	42,2%	...	...
Chen et al. ⁶	2003	45,3%	...	...
Kuo et al. ⁷	2007	49,0%	...	...
Metan et al. ⁸	2009	63,0%	...	...
Erbay et al. ⁹	2009	54,5%	...	...
Livermore et al. ¹⁰	2010	32,0%	...	...
Routsi et al. ¹¹	2010	...	43,3%	46,9%
Sheng et al. ¹²	2010	...	46,0%	28,3%
Chen et al. ¹³	2011	43,8%	...	...
Deris et al. ¹⁴	2011	...	...	64,3%
Yin et al. ¹⁵	2012	60,9%	...	...
Huang et al. ¹⁶	2012	...	39,3%*	23,5%*
Thatrimontrichai et al. ¹⁷	2013	...	49,2%	13,2%
Lee et al. ¹⁸	2014	33,6%**	...	...
Guo et al. ¹⁹	2016	44,8%**	59,4%**	4,3%**
Liu et al. ²⁰	2016	...	58,2%	...
Ballouz et al. ²¹	2017	65,3%	...	...

Nota. Os artigos reportam “mortalidade hospitalar”, exceto *(mortalidade em 14 dias) ou ** (mortalidade em 30 dias). Todos estudaram população geral do hospital, exceto Thatrimontrichai (pacientes de UTI neonatal).

CRAB, *A. baumannii* resistente a carbapenêmicos.

CSAB, *A. baumannii* suscetível a carbapenêmicos.

Há diversos estudos publicados na literatura comparando estratégias terapêuticas, especialmente “monoterapia” (geralmente com polimixinas) versus “combinações” (com carbapenêmicos, aminoglicosídeos ou outros). Lopez-Cortez et al.²⁴ acompanharam uma coorte multicêntrica e não encontraram diferenças entre esses dois grupos. Por outro lado, uma recentíssima revisão sistemática (janeiro de 2018) encontrou superioridade na associação “colistina + sulbactam” quando comparada à monoterapia com

essa polimixina.²⁵ Quase simultaneamente, uma outra revisão com meta-análise que incluiu *A. baumannii* entre outros bacilos Gram-negativos não observou melhor performance de esquemas combinados.²⁶

Uma vez que os estudos demonstram grande heterogeneidade, e dada a dificuldade em se conduzir ensaios clínicos em pacientes críticos, acreditamos que são necessárias análises de prognóstico em diferentes contextos e países. Esse foi o objetivo do presente estudo.

METODOLOGIA

Foram utilizados os mesmos casos (38) e não-casos (76) descritos no Capítulo 2. Estes foram abordados como “coorte-pareada”²⁷, para análise de prognóstico. Realizamos a análise em duas etapas:

- Na primeira etapa, todos os casos e não casos foram analisados, tendo como desfecho a “mortalidade hospitalar” (mortalidade em qualquer prazo porém durante a presente internação).
- Na segunda, analisamos somente os 38 casos, tendo como desfecho também a mortalidade hospitalar.

Os dados levantados em prontuário incluíram demografia, comorbidades (incluindo índice de Charlson²⁸) e procedimentos. Porém, diferente de nossa abordagem anterior, incluímos também o uso de antimicrobianos e

procedimentos realizados após a identificação do patógeno em cultura (para os casos). Inicialmente realizamos análises descritivas e comparativas com testes usuais (Chi-quadrado, Teste Exato de Fisher).

A seguir aplicamos testes tempo-evento (curvas de sobrevida). Em etapa univariada, utilizamos curvas de Kaplan-Meier com análise por Log-rank ou Breslow. Em situações de ajuste multivariado empregamos modelos de risco proporcional de Cox.²⁹ Sempre que cabível, utilizamos estratégia *stepwise backwards* para seleção de variáveis nos modelos. Porém forçamos o score de Charlson, como indicador de gravidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A “mortalidade hospitalar” na coorte de casos (letalidade) foi de 76,3%, enquanto na coorte de comparação foi de 35,5%. Disso resulta um Risco Relativo (RR) de 2,14 (Intervalo de confiança [IC] 95%, 1,51-3,05; $p < 0,001$) e um Risco Atribuível (RA) de 40,8% (IC95%, 23,5%-58,1%).

A **Figura 5** mostra a curva de Kaplan-Meier para sobrevida de casos e não-casos.

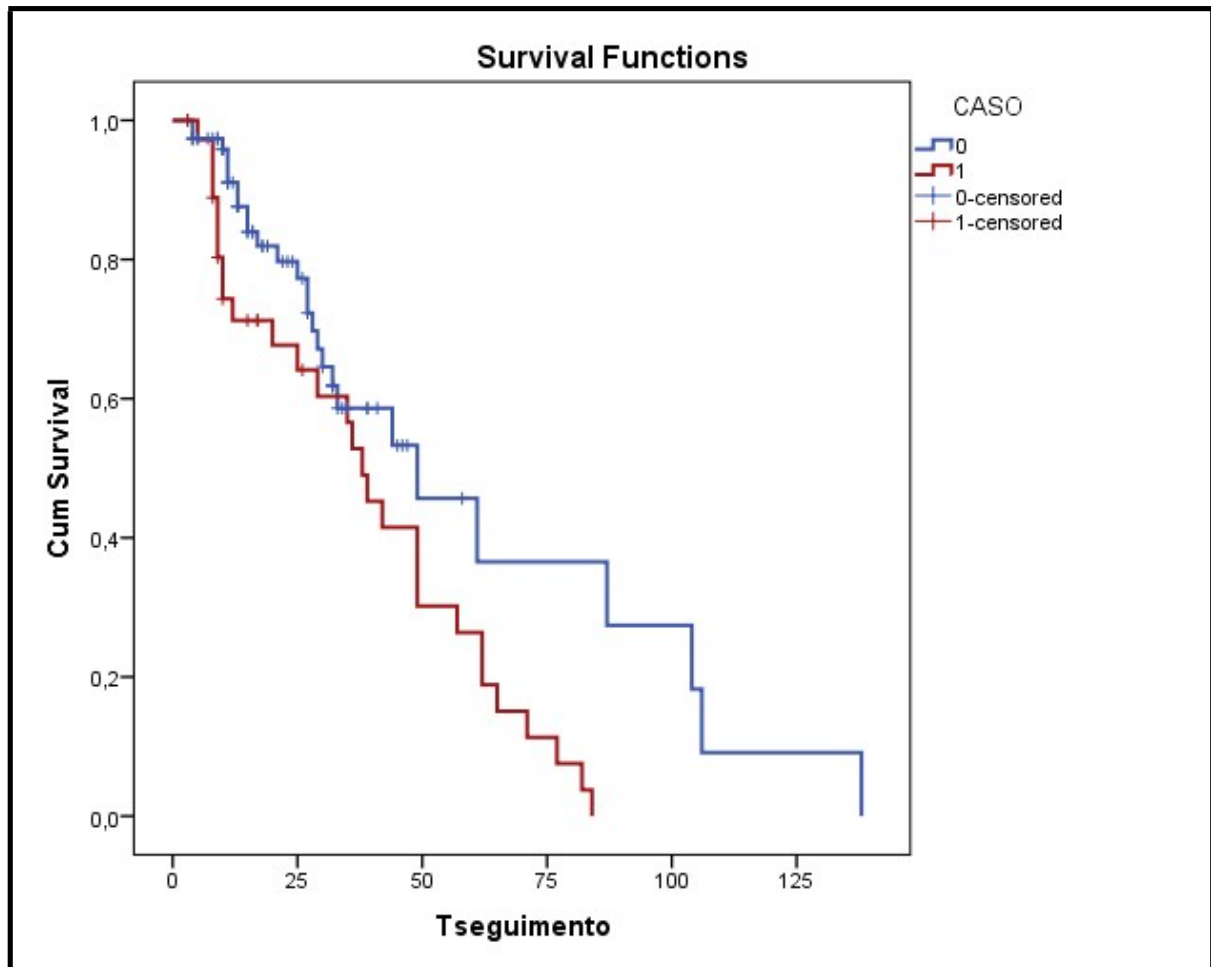


Figura 5. Curva de Kaplan-Meier para sobrevida de casos (1) e não-casos (0). A diferença foi significativa em Log-Rank ($p=0,02$).

A **Tabela 5** mostra o resultado da análise multivariada, sendo forçado o índice de Charlson no modelo para ajuste de gravidade. Nenhuma variável exceto “caso” mostrou-se significativa.

Tabela 5. Modelo final de análise multivariada (*stepwise backwards*) de sobrevida na coorte pareada.

Fator	HR	IC95%	p
Caso	1,82	1,01-3,26	0,04
Charlson	1,06	0,89-1,26	0,51

Nota. O score de Charlson foi forçado no modelo. HR, *Hazzard Ratio*. IC, Intervalo de confiança.

As análises seguintes foram feitas somente para os 38 casos. Neste caso, estávamos especialmente interessados em analisar o efeito da terapia antimicrobiana. As **Figuras 6, 7 e 8** mostram curvas de sobrevida para casos tratados com carbapenêmicos, polimixinas e aminoglicosídeos (isoladamente ou em conjunto).

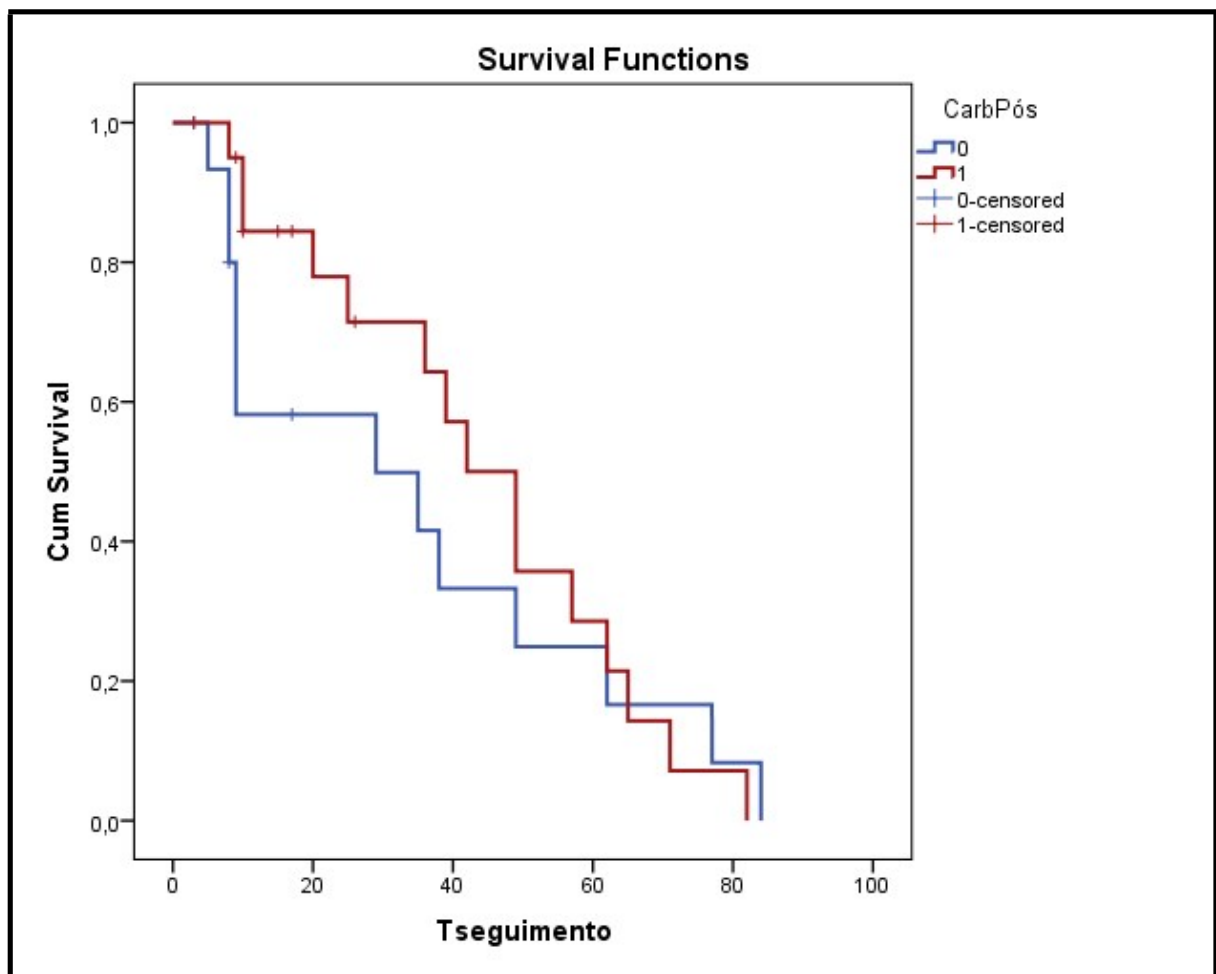


Figura 6. Sobrevida (Kaplan-Meier) de casos de bacteremia por CRAB após terapia incluindo carbapenêmicos.

Nota. Não houve diferença significativa pelo teste do Log-Rank ($p=0,56$) ou Breslow ($p=0,10$).

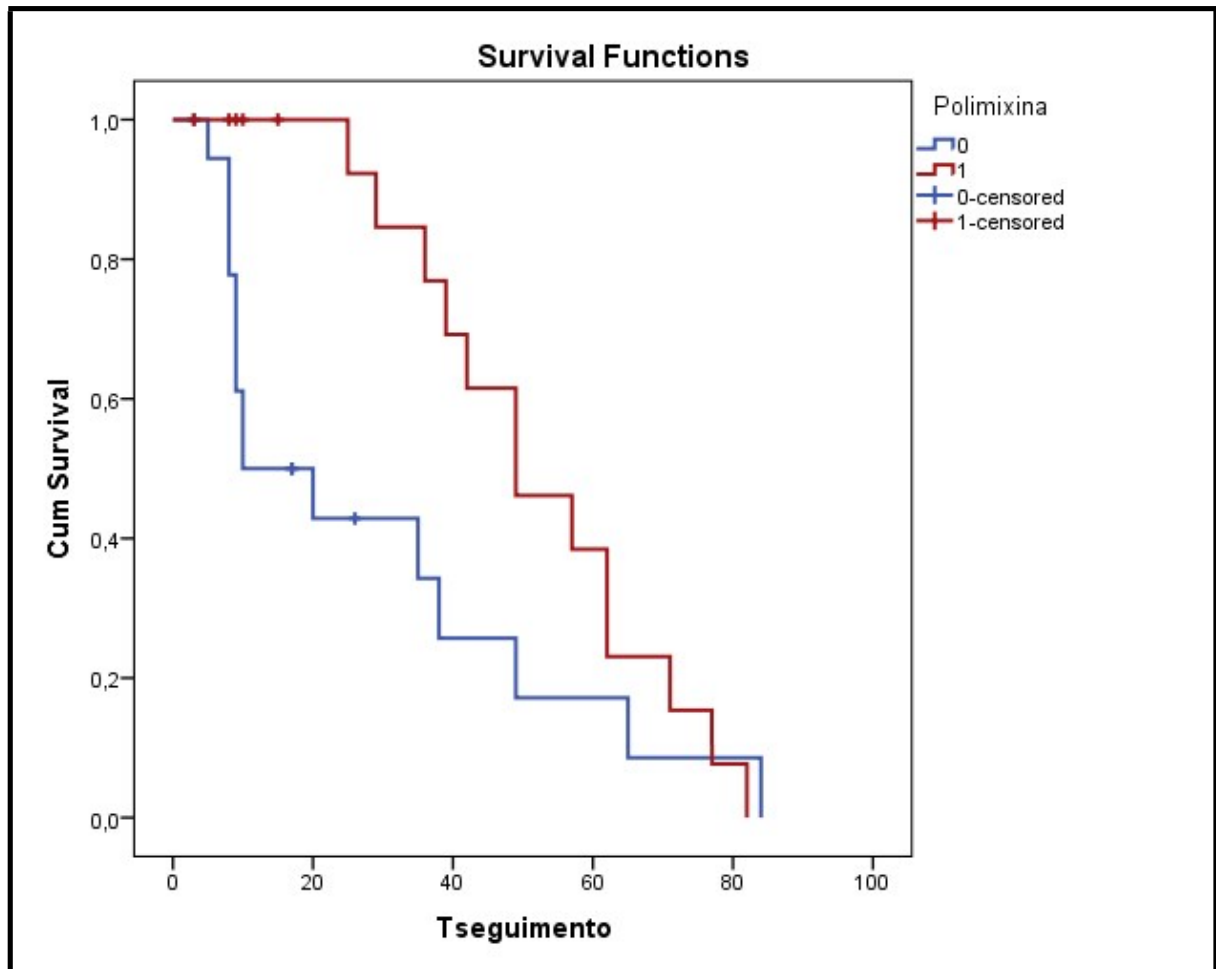


Figura 7. Sobrevida (Kaplan-Meier) de casos de bacteremia por CRAB após terapia incluindo poliximinas (Polimixina B ou Colistina).

Nota. O resultado foi marginalmente significativo pelo teste do Log-Rank ($p=0,05$) e altamente significativo pelo Breslow ($p=0,002$).

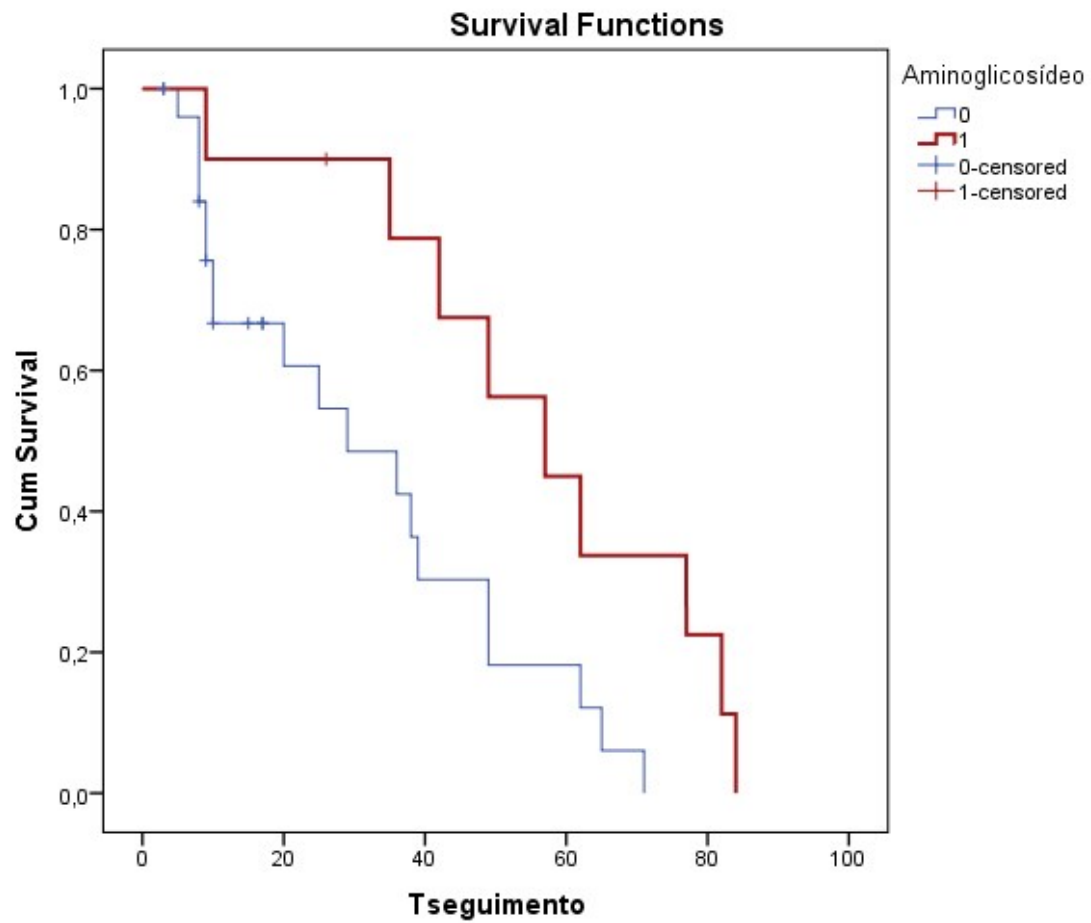


Figura 8. Sobrevida (Kaplan-Meier) de casos de bacteremia por CRAB após terapia incluindo aminoglicosídeos.

Nota. O resultado foi significativo pelos testes do Log-Rank ($p=0,02$) e altamente significativo pelo Breslow ($p=0,04$).

Quanto construímos modelo de Regressão de Cox incluindo o score de Charlson, Polimixinas e Aminoglicosídeos, somente estes últimos demonstraram efeito protetor (**Tabela 6**).

Tabela 6. Modelo de Regressão de Cox para sobrevida de casos de bacteremia por CRAB conforme esquema terapêutico, com ajuste para Score de Charlson.

Fator	HR	IC95%	p
Polimixina	0,54	0,25-1,17	0,13
Aminoglicosídeos	0,35	0,13-0,93	0,04
Charlson	1,06	0,76-1,46	0,74

HR, Hazzard ratio. IC, Intervalo de Confiança.

Vale notar que no modelo de Kaplan-Meier para este último antibiótico, houve grande significância com o teste de Breslow. Esse teste é mais sensível que o Log-Rank para mudanças no início do seguimento.³⁰ Como se pode ver na **Figura 7**, o impacto das polimixinas é maior nos primeiros dias de seguimento (com maior diferença das curvas de pacientes que usaram ou não usaram esse antimicrobiano). Além disso, os aminoglicosídeos só foram utilizados em monoterapia em quatro casos, sendo em geral associados às polimixinas. Por essa razão, reanalizamos a variável "polimixina" com estratificação conforme uso dos aminoglicosídeos.

A **Figura 9** mostra curvas de sobrevida para uso de polimixinas em sujeitos que utilizaram ou não aminoglicosídeos.

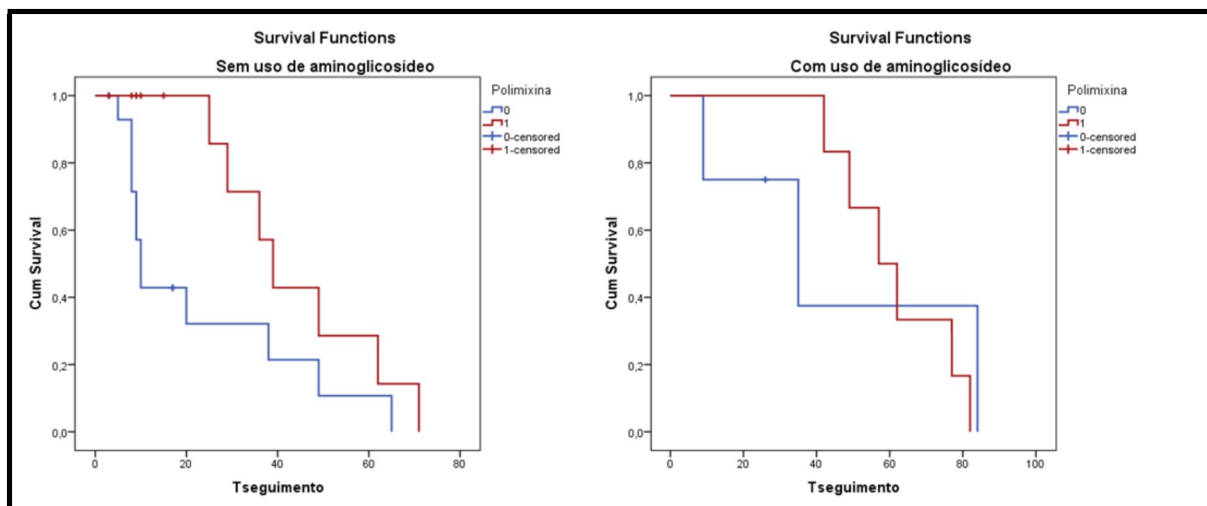


Figura 9. Análise de sobrevida de casos de bacteremia por CRAB, conforme uso de polimixina, estratificado por uso de aminoglicosídeos.

Nota. Nos sujeitos sem uso de aminoglicosídeo, as polimixinas mostraram grande efeito protetor (Log-Rank, $p=0,03$; Breslow, $p=0,007$).

De forma interessante, se repetimos o modelo de Cox utilizando uma variável combinada (uso de polimixina OU aminoglicosídeo), obtemos proteção significativa (HR=0,29; IC95%, 0,13-0,65; $p=0,003$).

Nosso estudo possui uma importante limitação, representada pelo pequeno número de sujeitos. No entanto, foi possível demonstrar o aumento de mortalidade entre casos, bem como a proteção determinada pelo uso de polimixinas ou aminoglicosídeos.

REFERÊNCIAS DO CAPÍTULO 3

1. Antunes LC, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog Dis*. 2014;71:292-301.
2. Lahmer T, Messer M, Schnappauf C, Schmidt A, Schmid RM, Huber W. *Acinetobacter baumannii* sepsis is fatal in medical intensive care unit patients: six cases and review of literature. *Anaesth Intensive Care*. 2014;42:666-8.
3. Lemos EV1, de la Hoz FP, Einarson TR, McGhan WF, Quevedo E, Castañeda C, Kawai K. Carbapenem resistance and mortality in patients with *Acinetobacter baumannii* infection: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:416-23.
4. Cisneros JM, Reyes MJ, Pachón J, Becerril B, Caballero FJ, García-Garmendía JL, Ortiz C, Cobacho AR. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis*. 1996;22:1026-32.
5. Blot S, Vandewoude K, Colardyn F. Nosocomial bacteremia involving *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients: a matched cohort study. *Intensive Care Med*. 2003;29:471-5.
6. Chen CH, Lin LC, Chang YJ, Huang CC, Liu CE, Young TG. Analysis of prognostic factors in 95 patients with *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Infection*. 2003;31:331-5.

7. Kuo LC, Lai CC, Liao CH, Hsu CK, Chang YL, Chang CY, Hsueh PR. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteraemia: clinical features, antimicrobial therapy and outcome. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13:196-8.
8. Metan G, Sariguzel F, Sumerkan B. Factors influencing survival in patients with multi-drug-resistant *Acinetobacter* bacteraemia. *Eur J Intern Med.* 2009;20:540-4.
9. Erbay A, Idil A, Gözel MG, Mumcuoğlu I, Balaban N. Impact of early appropriate antimicrobial therapy on survival in *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;34:575-9.
10. Livermore DM, Hill RL, Thomson H, Charlett A, Turton JF, Pike R, Patel BC, Manuel R, Gillespie S, Balakrishnan I, Barrett SP, Cumberland N, Twagira M; C-MRAB Study Group. Antimicrobial treatment and clinical outcome for infections with carbapenem- and multiply-resistant *Acinetobacter baumannii* around London. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;35:19-24.
11. Routsis C, Pratikaki M, Platsouka E, Sotiropoulou C, Nanas S, Markaki V, Vrettou C, Paniara O, Giamarellou H, Roussos C. Carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii* bacteremia in a Greek intensive care unit: risk factors, clinical features and outcomes. *Infection.* 2010;38:173-80.
12. Sheng WH, Liao CH, Lauderdale TL, Ko WC, Chen YS, Liu JW, Lau YJ, Wang LH, Liu KS, Tsai TY, Lin SY, Hsu MS, Hsu LY, Chang SC. A multicenter

- study of risk factors and outcome of hospitalized patients with infections due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Infect Dis*. 2010;14:e764-9.
13. Chen SJ, Chao TF, Chiang MC, Kuo SC, Chen LY, Yin T, Chen TL, Fung CP. Prediction of patient outcome from *Acinetobacter baumannii* bacteremia with Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) and Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II scores. *Intern Med*. 2011;50:871-7.
14. Deris ZZ, Shafei MN, Harun A. Risk factors and outcomes of imipenem-resistant *Acinetobacter* bloodstream infection in North-Eastern Malaysia. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2011;1(4):313-5.
15. Yin T, Chiang MC, Liaw JJ, Kuo SC, Chen TL, Katherine Wang KW. Clinical characteristics of *Acinetobacter baumannii* complex bacteremia in patients receiving total parenteral nutrition. *J Chin Med Assoc*. 2012 Mar;75:102-8.
16. Huang ST, Chiang MC, Kuo SC, Lee YT, Chiang TH, Yang SP, Ti-Yin, Chen TL, Fung CP. Risk factors and clinical outcomes of patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. 2012;45:356-62.
17. Thatrimontrichai A, Apisarnthanarak A, Chanvitan P, Janjindamai W, Dissaneevate S, Maneenil G. Risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in

- neonatal intensive care unit: a case-case-control study. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:140-5.
18. Lee HY, Chen CL, Wu SR, Huang CW, Chiu CH. Risk factors and outcome analysis of *Acinetobacter baumannii* complex bacteremia in critical patients. *Crit Care Med*. 2014;42:1081-8.
 19. Guo N, Xue W, Tang D, Ding J, Zhao B. Risk factors and outcomes of hospitalized patients with blood infections caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* complex in a hospital of Northern China. *Am J Infect Control*. 2016;44:e37-9.
 20. Liu CP, Shih SC, Wang NY, Wu AY, Sun FJ, Chow SF, Chen TL, Yan TR. Risk factors of mortality in patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. 2016;49:934-940.
 21. Ballouz T, Aridi J, Afif C, Irani J, Lakis C, Nasreddine R, Azar E. Risk Factors, Clinical Presentation, and Outcome of *Acinetobacter baumannii* Bacteremia. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:156.
 22. Ergönül Ö, Aydın M, Azap A, Başaran S, Tekin S, Kaya Ş, Gülsün S, Yörük G, Kurşun E, Yeşilkaya A, Şimşek F, Yılmaz E, Bilgin H, Hatipoğlu Ç, Cabadak H, Tezer Y, Togan T, Karaoğlu I, İnan A, Engin A, Alışkan HE, Yavuz SŞ, Erdiñ Ş, Mulazimoglu L, Azap Ö, Can F, Akalın H, Timurkaynak F; Turkish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Healthcare-Related Infections Study Group. Healthcare-associated

- Gram-negative bloodstream infections: antibiotic resistance and predictors of mortality. *J Hosp Infect* 2016; 94:381-385.
23. Batirel A, Balkan I, Karabay O, Agalar C, Akalin S, Alici O, Alp E, Altay FA, Altin N, Arslan F, Aslan T, Bekiroglu N, Cesur S, Celik AD, Dogan M, Durdu B, Duygu F, Engin A, Engin DO, Gonen I, Guclu E, Guven T, Hatipoglu CA, Hosoglu S, Karahocagil MK, Kilic AU, Ormen B, Ozdemir D, Ozer S, Oztoprak N, Sezak N, Turhan V, Turker N, Yilmaz H. Comparison of colistin-carbapenem, colistin-sulbactam, and colistin plus other antibacterial agents for the treatment of extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:1311-22.
24. López-Cortés LE, Cisneros JM, Fernández-Cuenca F, Bou G, Tomás M, Garnacho-Montero J, Pascual A, Martínez-Martínez L, Vila J, Pachón J, Rodríguez Baño J; GEIH/REIPI-Ab2010 Group. Monotherapy versus combination therapy for sepsis due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: analysis of a multicentre prospective cohort. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:3119-26.
25. Kengkla K, Kongpakwattana K, Saokaew S, Apisarnthanarak A, Chaiyakunapruk N. Comparative efficacy and safety of treatment options for MDR and XDR *Acinetobacter baumannii* infections: a systematic review and network meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73:22-32.

- 26.Vardakas KZ, Mavroudis AD, Georgiou M, Falagas ME. Intravenous colistin combination antimicrobial treatment versus monotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2017 Dec 27. pii: S0924-8579(17)30454-5. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.12.020. [Epub ahead of print]
- 27.Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care*. 2006;10:R48.
- 28.Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40:373-83.
29. Katz MH. Multivariable analysis. A practical guide for clinicians. Cambridge, NY: Cambridge University Press, 2006.
- 30.Agarwal GG. Statistics for Surgeons – Understanding Survival Analysis. *Indian J Surg Oncol* 2012;3:208–14.

Conclusão

CONCLUSÃO

- Em uma série temporal de 12 anos, identificamos que temperaturas médias mensais acima do percentil 75 (24,7°C) estavam associadas a maior incidência de *Acinetobacter baumannii* como um todo e de isolados resistentes a carbapenêmicos (CRAB). Curiosamente, esses achados foram mais consistentes nas Unidades de Terapia Intensiva e para isolados de hemoculturas.
- Fatores de risco significantes ($p < 0,05$) em análise multivariada para aquisição de infecção da corrente sanguínea por CRAB foram: inserção de cateter venoso central e o uso de cefepima ou meropenem.
- Na genotipagem por Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) de isolados bacterêmicos de CRAB, identificamos 12 perfis, sendo que 7 deles agrupavam mais de um isolado. Além disso, identificamos a presença de genes codificadores das enzimas OXA-23 e OXA-51, associadas à resistência aos carbapenêmicos.
- Os casos de CRAB foram significativamente associados a maior risco de óbito em modelos de análise de sobrevida, quando comparados a controles internados nas mesmas unidades.
- Quando estudados somente os casos, o uso de Aminoglicosídeos e Polimixina após o diagnóstico de infecção da corrente sanguínea por CRAB se associou a melhor prognóstico.

- O *Acinetobacter baumannii* é um agente potencialmente letal, que se transmite no interior de hospitais e entre diferentes serviços, com incidência aumentada em períodos quentes.

Appendice

APÊNDICE

Artigo enviado para publicação (outros artigos estão em fase de redação)

Article type: commentary

Title: **Weather, climate control and imipenem-resistance in *Acinetobacter baumannii*: an ecological approach.**

Text

The incidence of healthcare-associated infections (HCAIs) caused by Gram-negative bacilli (GNB) increases in summer¹ and has been associated to outside environmental temperature² and proximity of hospitals to the Equator line.³ Evidence has been consistent for temperate⁴ and – to a far lesser extent – tropical climates.⁵ However, both factors underlying this phenomenon and implications for infection control are not clear.

One of the causal hypotheses proposes that environmental reservoirs outside healthcare settings increase in warmer periods, and microorganism are somehow carried into hospitals by patients or healthcare workers.^{4,6} This hypothesis is based on the following findings: (a) seasonality and meteorological dependence occurs even in hospitals with complete climate control in internal areas⁴; (b) in one study, the summer peaks of *Acinetobacter*

baumannii were polyclonal, suggesting different sources rather than increases in cross-transmission within wards⁷; (c) Fukuta et al.⁸ found seasonality for overall but not for multidrug-resistant *A. baumannii*, implying a possible community-associated source for that agent during summer.

We designed an ecological study aimed at testing premises that are central to that hypothesis, i.e., that there are differences in seasonal pattern and influence of weather on the incidence of *A. baumannii* HCAs according to climatization of hospital units or to resistance to imipenem. The study was conducted in “Hospital Estadual Bauru” (Bauru State Hospital, 335 beds), a facility that provides tertiary-level care for an area of approximately one million inhabitants in inner São Paulo State, Brazil. The hospital has six intensive care units (ICUs), amounting 51 beds. Those units have climate control, while all the other hospital wards (medical, surgical and pediatric) are not climatized.

We recorded patients with cultures positive for *A. baumannii* in the period from January 2006 through December 2017. Only clinical cultures collected after the third day of admission were included. This criterion (“three-midnight rule”) is recommended by the Society for Healthcare Epidemiology of America as a proxy of nosocomial origin of microorganisms.⁹ We also included only the first culture positive for *A. baumannii* for each study subject. Finally, those who had only results from surveillance cultures were excluded from the study. Monthly aggregates of incidence were calculated for overall *A. baumannii* and for several sub-groups based on unit of admission (ICUs, non-critical wards), specimen (overall *versus* blood cultures) and resistance to imipenem.

Monthly meteorological parameters (average temperature, average relative humidity and aggregated rainfall) were collected from a nearby meteorological station (Institute of Meteorological Research, State University of São Paulo, City of Bauru, São Paulo State, Brazil).

We tested time series for seasonality using Box-Jenkins models (autoregressive integrated moving average, ARIMA) and autocorrelation plots.¹⁰ The association with weather was tested in multivariable models of Poisson regression. Meteorological parameters were dichotomized, based on the 75th percentile of monthly values (temperature, 24.7°C[76.5°F]; relative humidity, 79.6%; rainfall, 163.6 millimeters). Statistical analyses were performed using NCSS 9 (LLC, Kaysville, UT) and SPSS20 (IBM, Armonk, NY).

In the 12-year period, we identified 1,207 patients with HCAs due to *A. baumannii*. The overall incidence was 12.99 per 10,000 patients-day (67.12 for ICUs, 5.11 for non-critical wards). Overall rate of imipenem resistance was 78.9%, and it was greater in ICUs than in other units (83.6% versus 69.9%; $P<0.001$).

All the time series of incidence rates (either of overall *A. baumannii* or of sub-groups) tested negative for seasonality. Results of association with weather are presented in **Table 1**. Significant positive association with temperature was found for overall *A. baumannii*. Interestingly, the analysis of sub-groups found stronger associations with temperature for ICUs, isolates from blood cultures and those that were imipenem-resistant.

The absence of clear seasonality in Box-Jenkins models may be due to the poorly defined pattern of seasons in the tropical climate. In the area where the study hospital is located, we have a mostly warm and humid period (usually October through March, including summer and spring), with lower temperatures in the rest of the year. However, this pattern is irregular, and there are often brief increases in environmental temperature even during fall and winter.¹¹

A different picture ensues when we consider associations of outside temperature and the incidence of *A. baumannii*. One should notice that this association was stronger in the following conditions: positive blood cultures, ICUs and imipenem-resistant strains. The recovery of *A. baumannii* from blood cultures may be interpreted either as a sign of “true infection” (as opposed to colonization) or as a marker of the invasiveness of strains. Either way, our findings reinforce the impact of temperature on the incidence of HCAs caused by this agent.

While severity of critical patients are obvious risk factors for acquisition of *A. baumannii*, the causes underlying the impact of the outside temperature on its incidence in ICUs are not straightforward. Even less the reason why we found greater association of temperature with imipenem-resistant strains. Of note, this finding is opposite to the picture described by Fukuta et al.⁸ Since infections caused by imipenem-resistant isolates (which are most likely healthcare-associated) increase in warmer months, we cannot infer that reservoirs in the outside environment are implicated in this phenomenon. On the other hand, increases in incidence according outside temperature, even among patients admitted to units with complete climate control, is unlikely to be

due to inanimate reservoirs within those units. Finally, since greater incidence of the pathogen of interest was not associated with any particular month or season, we can rule out the hypothesis that understaffing due to “summer vacations” leads to greater transmission of nosocomial pathogens^{4,6}.

We should approach our findings in terms of “implications for research” and “implications for practice”. In the “implications for research” topic, studies focusing on changes in healthcare work processes (e.g., adherence to hand hygiene, conformities in isolation precautions) in different periods of the year or under different weather conditions should be conducted. Also, research including molecular strain typing could help elucidate if there is increased cross-transmission of *A. baumannii* (as well as other GNB) in periods of higher outside temperature. The obvious implication for practice is the requirement of intensifying infection control measures during warm months. Other recommendations may arise from continuing research.

The phenomenon of seasonality and meteorological determination of HCAs caused by GNB is still puzzling. Still, from our perspective, it should not be regarded as mere curiosity. Instead, its elucidation may provide us with novel opportunities for the prevention and control of life-threatening infections.

References

1. 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;29: 1124–1131.
2. Schwab F, Gastmeier P, Meyer E. The warmer the weather, the more gram-negative bacteria – impact of temperature on clinical isolates in intensive care units. *PLoS One* 2014;9:e91105.
3. Fisman D, Patrozou E, Carmeli Y, Perencevich E, Tuite AR, Mermel LA et al. Geographical variability in the likelihood of bloodstream infections due to gram-negative bacteria: correlation with proximity to the equator and health care expenditure. *PLoS One* 2014;9:e114548.
4. Richet H. Seasonality in gram-negative and healthcare-associated infections. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:934–940.
5. Fortaleza CM, Caldeira SM, Moreira RG, Akazawa RT, Corrente JE, de Souza Ldo R et al. Tropical healthcare epidemiology: weather determinants of the etiology of bloodstream infections in a Brazilian hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2014;35:85-8.
6. 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.

7. 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.
8. 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.
9. 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;29:901–913.
10. Box GE, Jenkins GM, Reinsel CG. Time series analysis: forecasting and control. Hoboken NJ: Wiley, 2015.
11. Trewin B. The climates of the Tropics, and how they are changing. In: State of the tropics: 2014 report. Cairns, Australia: James Cook University, 2014: 39-51.

Table 1. Poisson regression model for impact of monthly meteorological parameters on the incidence of healthcare-associated infections cause by *Acinetobacter baumannii*.

Culture sites / Unit of admission	Incidence*	RR (95%CI)		
		Temperature	Humidity	Rainfall
<i>Overall Acinetobacter baumannii</i>				
Total clinical cultures	12.99	1.09 (1.02-1.16)	0.97 (0.91-1.05)	0.93 (0.77-1.01)
Clinical cultures (ICUs)	67.12	1.06 (0.98-1.15)	1.04 (0.95-1.14)	0.95 (0.87-1.04)
Clinical Cultures (non-critical wards)	5.11	1.10 (0.98-1.23)	0.89 (0.78-1.02)	0.96 (0.80-1.04)
Blood cultures	2.43	1.26 (1.09-1.46)	0.89 (0.74-1.06)	0.87 (0.73-1.05)
Blood cultures (ICUs)	14.05	1.23 (1.04-1.46)	1.03 (0.84-1.26)	0.88 (0.71-1.08)
Blood cultures (non-critical wards)	0.74	1.27 (0.96-1.69)	0.53 (0.33-0.86)	0.88 (0.61-1.28)
<i>Imipenem-resistant A. baumannii</i>				
Total clinical cultures	10.25	1.18 (1.11-1.27)	1.00 (0.92-1.09)	0.90 (0.82-0.97)
Clinical cultures (ICUs)	56.13	1.16 (1.06-1.26)	1.08 (0.97-1.18)	0.90 (0.82-1.01)
Clinical Cultures (non-critical wards)	3.57	1.20 (1.06-1.37)	0.90 (0.77-1.05)	0.89 (0.76-1.04)
Blood cultures	1.82	1.38 (1.17-1.62)	0.94 (0.77-1.15)	0.86 (0.70-1.06)
Blood cultures (ICUs)	11.09	1.34 (1.11-1.60)	1.07 (0.85-1.33)	0.83 (0.65-1.06)
Boold cultures (non-critical wards)	0.47	1.43 (1.03-2.02)	0.62 (0.37-1.04)	1.01 (0.66-1.55)

Note. Meteorological values were dichotomized at the 75th percentile of monthly values (temperature, 24.7°C[76.5°F]; relative humidity, 79.6%; rainfall, 163.6 millimeters). Statistical significant associations ($P<0.05$) are presented in boldface.

*Incidence in cases per 10,000 patients-day.

RR, Rate Ratio; CI, Confidence Interval; ICUs, Intensive Care Units.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.